



كلية الطب
والصيدلة - مراكش
FACULTÉ DE MÉDECINE
ET DE PHARMACIE - MARRAKECH

Année 2020

Thèse N° 197

**Place de la thérapie par cellules souches
mésenchymateuses dans la pathologie
de l'appareil locomoteur**

THÈSE

PRÉSENTÉE ET SOUTENUE PUBLIQUEMENT LE 04/11/2020

PAR

Mr. Salaheddine BAJJA

Né le 30 Mai 1993 à El Jadida

POUR L'OBTENTION DU DOCTORAT EN MÉDECINE

MOTS-CLÉS

Cellules souches mésenchymateuses – Ostéonécrose – Pseudarthrose –
Arthrose – Appareil locomoteur – Thérapie cellulaire

JURY

M.	H. SAIDI Professeur de Traumatologie–orthopédie	PRESIDENT
M.	M. A. BENHIMA Professeur de Traumatologie–orthopédie	RAPPORTEUR
M.	A. BELBACHIR Professeur d'Anatomopathologie	} JUGES
M.	I. ABKARI Professeur de Traumatologie–orthopédie	

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

وَقُلْ رَبِّ
أَدْخِلْنِيْ مُدْخَلَ صِدْقٍ
وَأَخْرِجْنِيْ مَخْرَجَ صِدْقٍ
وَأَجْعَلْ لِيْ مِنْ لَدُنْكَ سُلْطٰنًا نَّصِيْرًا



Serment d'Hippocrate

Au moment d'être admis à devenir membre de la profession médicale, je m'engage solennellement à consacrer ma vie au service de l'humanité.

Je traiterai mes maîtres avec le respect et la reconnaissance qui leur sont dus.

Je pratiquerai ma profession avec conscience et dignité. La santé de mes malades sera mon premier but.

Je ne trahirai pas les secrets qui me seront confiés.

Je maintiendrai par tous les moyens en mon pouvoir l'honneur et les nobles traditions de la profession médicale.

Les médecins seront mes frères.

Aucune considération de religion, de nationalité, de race, aucune considération politique et sociale, ne s'interposera entre mon devoir et mon patient.

Je maintiendrai strictement le respect de la vie humaine dès sa conception.

Même sous la menace, je n'userai pas mes connaissances médicales d'une façon contraire aux lois de l'humanité.

Je m'y engage librement et sur mon honneur.

Déclaration de Genève, 1948



LISTE DES PROFESSEURS



UNIVERSITE CADI AYYAD
FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE
MARRAKECH

Doyens Honoraires

: Pr. Badie Azzaman MEHADJI
: Pr. Abdelhaq ALAOUI YAZIDI

ADMINISTRATION

Doyen

: Pr. Mohammed BOUSKRAOUI

Vice doyen à la Recherche et la Coopération

: Pr. Mohamed AMINE

Vice doyen aux Affaires Pédagogiques

: Pr. Redouane EL FEZZAZI

Secrétaire Générale

: Mr. Azzeddine EL HOUDAIGUI

Professeurs de l'enseignement supérieur

Nom et Prénom	Spécialité	Nom et Prénom	Spécialité
ABKARI Imad	Traumato- orthopédie	FAKHIR Bouchra	Gynécologie- obstétrique
ABOU EL HASSAN Taoufik	Anesthésie- réanimation	FINECH Benasser	Chirurgie - générale
ABOUCHADI Abdeljalil	Stomatologie et chir maxillo faciale	FOURAJI Karima	Chirurgie pédiatrique
ABOULFALAH Abderrahim	Gynécologie- obstétrique	GHANNANE Houssine	Neurochirurgie
ABOUSSAIR Nisrine	Génétique	GHOUNDALE Omar	Urologie
ADALI Imane	Psychiatrie	HACHIMI Abdelhamid	Réanimation médicale
ADERDOUR Lahcen	Oto- rhino- laryngologie	HAJJI Ibtissam	Ophthalmologie
ADMOU Brahim	Immunologie	HAROU Karam	Gynécologie- obstétrique
AGHOUTANE El Mouhtadi	Chirurgie pédiatrique	HOCAR Ouafa	Dermatologie
AISSAOUI Younes	Anesthésie - réanimation	JALAL Hicham	Radiologie
AIT AMEUR Mustapha	Hématologie Biologique	KAMILI El Ouafi El Aouni	Chirurgie pédiatrique
AIT BENALI Said	Neurochirurgie	KHALLOUKI Mohammed	Anesthésie- réanimation
AIT BENKADDOUR Yassir	Gynécologie- obstétrique	KHATOURI Ali	Cardiologie
AIT-SAB Imane	Pédiatrie	KHOUCHANI Mouna	Radiothérapie
ALAOUI Mustapha	Chirurgie- vasculaire périphérique	KISSANI Najib	Neurologie
AMAL Said	Dermatologie	KOULALI IDRISSEI Khalid	Traumato- orthopédie
AMINE Mohamed	Epidémiologie- clinique	KRATI Khadija	Gastro- entérologie

AMMAR Haddou	Oto-rhino-laryngologie	KRIET Mohamed	Ophtalmologie
AMRO Lamyae	Pneumo- phtisiologie	LAGHMARI Mehdi	Neurochirurgie
ANIBA Khalid	Neurochirurgie	LAKMACHI Mohamed Amine	Urologie
ARSALANE Lamiae	Microbiologie -Virologie	LAOUAD Inass	Néphrologie
ASMOUKI Hamid	Gynécologie- obstétrique	LOUHAB Nisrine	Neurologie
ATMANE El Mehdi	Radiologie	LOUZI Abdelouahed	Chirurgie - générale
BAIZRI Hicham	Endocrinologie et maladies métaboliques	MADHAR Si Mohamed	Traumato- orthopédie
BASRAOUI Dounia	Radiologie	MANOUDI Fatiha	Psychiatrie
BASSIR Ahlam	Gynécologie- obstétrique	MANSOURI Nadia	Stomatologie et chiru maxillo faciale
BELKHOU Ahlam	Rhumatologie	MAOULAININE Fadl mrabih rabou	Pédiatrie (Neonatalogie)
BEN DRISS Laila	Cardiologie	MATRANE Aboubakr	Médecine nucléaire
BENCHAMKHA Yassine	Chirurgie réparatrice et plastique	MOUAFFAK Youssef	Anesthésie - réanimation
BENELKHAÏAT BENOMAR Ridouan	Chirurgie - générale	MOUDOUNI Said Mohammed	Urologie
BENHIMA Mohamed Amine	Traumatologie - orthopédie	MOUFID Kamal	Urologie
BENJILALI Laila	Médecine interne	MOUTAJ Redouane	Parasitologie
BENZAROUËL Dounia	Cardiologie	MOUTAOUAKIL Abdeljalil	Ophtalmologie
BOUCHENTOUF Rachid	Pneumo- phtisiologie	MSOUGGAR Yassine	Chirurgie thoracique
BOUKHANNI Lahcen	Gynécologie- obstétrique	NAJEB Youssef	Traumato- orthopédie
BOUKHIRA Abderrahman	Biochimie - chimie	NARJISS Youssef	Chirurgie générale
BOUMZEBRA Drissi	Chirurgie Cardio- Vasculaire	NEJMI Hicham	Anesthésie- réanimation
BOURRAHOÛAT Aïcha	Pédiatrie	NIAMANE Radouane	Rhumatologie
BOURROUS Monir	Pédiatrie	OUALI IDRISSE Mariem	Radiologie
BOUSKRAOUI Mohammed	Pédiatrie	OULAD SAIAD Mohamed	Chirurgie pédiatrique
CHAFIK Rachid	Traumato- orthopédie	QACIF Hassan	Médecine interne
CHAKOUR Mohamed	Hématologie Biologique	QAMOÛSS Youssef	Anesthésie- réanimation
CHELLAK Saliha	Biochimie- chimie	RABBANI Khalid	Chirurgie générale
CHERIF IDRISSE EL GANOUNI Najat	Radiologie	RADA Noureddine	Pédiatrie
CHOULLI Mohamed Khaled	Neuro pharmacologie	RAIS Hanane	Anatomie pathologique

DAHAMI Zakaria	Urologie	RAJI Abdelaziz	Oto-rhino-laryngologie
DRAISS Ghizlane	Pédiatrie	ROCHDI Youssef	Oto-rhino-laryngologie
EL ADIB Ahmed Rhassane	Anesthésie-réanimation	SAIDI Halim	Traumato-orthopédie
EL ANSARI Nawal	Endocrinologie et maladies métaboliques	SAMKAOUI Mohamed Abdenasser	Anesthésie-réanimation
EL BARNI Rachid	Chirurgie-générale	SAMLANI Zouhour	Gastro-entérologie
EL BOUCHTI Imane	Rhumatologie	SARF Ismail	Urologie
EL BOUIHI Mohamed	Stomatologie et chir maxillo faciale	SORAA Nabila	Microbiologie - Virologie
EL FEZZAZI Redouane	Chirurgie pédiatrique	SOUMMANI Abderraouf	Gynécologie-obstétrique
EL HAOURY Hanane	Traumato-orthopédie	TASSI Noura	Maladies infectieuses
EL HATTAOUI Mustapha	Cardiologie	TAZI Mohamed Illias	Hématologie-clinique
EL HOUDZI Jamila	Pédiatrie	YOUNOUS Said	Anesthésie-réanimation
EL IDRISSE SLITINE Nadia	Pédiatrie	ZAHLANE Kawtar	Microbiologie - virologie
EL KARIMI Saloua	Cardiologie	ZAHLANE Mouna	Médecine interne
EL KHAYARI Mina	Réanimation médicale	ZAOUI Sanaa	Pharmacologie
EL MGHARI TABIB Ghizlane	Endocrinologie et maladies métaboliques	ZIADI Amra	Anesthésie - réanimation
ELFIKRI Abdelghani	Radiologie	ZOUHAIR Said	Microbiologie
ESSAADOUNI Lamiaa	Médecine interne	ZYANI Mohammed	Médecine interne
FADILI Wafaa	Néphrologie		

Professeurs Agrégés

Nom et Prénom	Spécialité	Nom et Prénom	Spécialité
ABIR Badreddine	Stomatologie et Chirurgie maxillo faciale	EL OMRANI Abdelhamid	Radiothérapie
ADARMOUCH Latifa	Médecine Communautaire (médecine préventive, santé publique et hygiène)	FAKHRI Anass	Histologie-embryologie cytogénétique
AIT BATAHAR Salma	Pneumo-phtisiologie	IHBIBANE fatima	Maladies Infectieuses
ALJ Soumaya	Radiologie	KADDOURI Said	Médecine interne

ARABI Hafid	Médecine physique et réadaptation fonctionnelle	LAHKIM Mohammed	Chirurgie générale
ARSALANE Adil	Chirurgie Thoracique	LAKOUICHMI Mohammed	Stomatologie et Chirurgie maxillo faciale
BELBACHIR Anass	Anatomie-pathologique	MARGAD Omar	Traumatologie - orthopédie
BELBARAKA Rhizlane	Oncologie médicale	MLIHA TOUATI Mohammed	Oto-Rhino - Laryngologie
BELHADJ Ayoub	Anesthésie - Réanimation	MOUHSINE Abdelilah	Radiologie
BENALI Abdeslam	Psychiatrie	NADER Youssef	Traumatologie - orthopédie
BENJELLOUN HARZIMI Amine	Pneumo- phtisiologie	OUBAHA Sofia	Physiologie
BOUZERDA Abdelmajid	Cardiologie	RBAIBI Aziz	Cardiologie
BSISS Mohamed Aziz	Biophysique	SAJIAI Hafsa	Pneumo- phtisiologie
CHRAA Mohamed	Physiologie	SALAMA Tarik	Chirurgie pédiatrique
DAROUASSI Youssef	Oto-Rhino - Laryngologie	SEDDIKI Rachid	Anesthésie - Réanimation
EL AMRANI Moulay Driss	Anatomie	SERGHINI Issam	Anesthésie - Réanimation
EL HAOUATI Rachid	Chirurgie Cardio-vasculaire	TOURABI Khalid	Chirurgie réparatrice et plastique
EL KAMOUNI Youssef	Microbiologie Virologie	ZARROUKI Youssef	Anesthésie - Réanimation
EL KHADER Ahmed	Chirurgie générale	ZEMRAOUI Nadir	Néphrologie
EL MEZOUARI El Moustafa	Parasitologie Mycologie		

Professeurs Assistants

Nom et Prénom	Spécialité	Nom et Prénom	Spécialité
ABDELFETTAH Youness	Rééducation et Réhabilitation Fonctionnelle	ELOUARDI Youssef	Anesthésie réanimation
ABDOU Abdessamad	Chiru Cardio vasculaire	EL-QADIRY Raby	Pédiatrie
ABOULMAKARIM Siham	Biochimie	ESSADI Ismail	Oncologie Médicale
ACHKOUN Abdessalam	Anatomie	FDIL Naima	Chimie de Coordination Bio-organique
AIT ERRAMI Adil	Gastro-entérologie	FENNANE Hicham	Chirurgie Thoracique

AKKA Rachid	Gastro - entérologie	HAJHOUI Farouk	Neurochirurgie
ALAOUI Hassan	Anesthésie - Réanimation	HAJJI Fouad	Urologie
AMINE Abdellah	Cardiologie	HAMMI Salah Eddine	Médecine interne
ARROB Adil	Chirurgieréparatrice et plastique	Hammoune Nabil	Radiologie
ASSERRAJI Mohammed	Néphrologie	HAMRI Asma	Chirurgie Générale
AZIZ Zakaria	Stomatologie et chirurgie maxillo faciale	JALLAL Hamid	Cardiologie
BAALLAL Hassan	Neurochirurgie	JANAH Hicham	Pneumo- phtisiologie
BABA Hicham	Chirurgie générale	LAFFINTI Mahmoud Amine	Psychiatrie
BELARBI Marouane	Néphrologie	LAHLIMI Fatima Ezzahra	Hématologie clinique
BELFQUIH Hatim	Neurochirurgie	LAHMINE Widad	Pédiatrie
BELGHMAIDI Sarah	OPhtalmologie	LALYA Issam	Radiothérapie
BELLASRI Salah	Radiologie	LAMRANI HANCH Asmae	Microbiologie- virologie
BENANTAR Lamia	Neurochirurgie	LOQMAN Souad	Microbiologie et toxicologie environnementale
BENNAOUI Fatiha	Pédiatrie	MAOUJOUR Omar	Néphrologie
BENZALIM Meriam	Radiologie	MEFTAH Azzelarab	Endocrinologie et maladies métaboliques
BOUTAKIOUTE Badr	Radiologie	MILOUDI Mohcine	Microbiologie - Virologie
CHAHBI Zakaria	Maladies infectieuses	NASSIH Houda	Pédiatrie
CHETOUI Abdelkhalek	Cardiologie	NASSIM SABAH Taoufik	Chirurgie Réparatrice et Plastique
CHETTATI Mariam	Néphrologie	OUMERZOUK Jawad	Neurologie
DAMI Abdallah	Médecine Légale	RAGGABI Amine	Neurologie
DARFAOUI Mouna	Radiothérapie	RAISSI Abderrahim	Hématologie clinique
DOUIREK Fouzia	Anesthésie- réanimation	REBAHI Houssam	Anesthésie - Réanimation
EL- AKHIRI Mohammed	Oto- rhino- laryngologie	RHARRASSI Isam	Anatomie- pathologique
EL AMIRI My Ahmed	Chimie de Coordination bio-organique	ROUKHSI Redouane	Radiologie
EL FADLI Mohammed	Oncologie médicale	SALLAHI Hicham	Traumatologie- orthopédie
EL FAKIRI Karima	Pédiatrie	SAYAGH Sanae	Hématologie
EL GAMRANI Younes	Gastro-entérologie	SBAAI Mohammed	Parasitologie- mycologie

EL HAKKOUNI Awatif	Parasitologie mycologie	SEBBANI Majda	Médecine Communautaire (médecine préventive, santé publique et hygiène)
EL HAMZAOUI Hamza	Anesthésie réanimation	SIRBOU Rachid	Médecine d'urgence et de catastrophe
EL KHASSOUI Amine	Chirurgie pédiatrique	WARDA Karima	Microbiologie
ELATIQUI Oumkeltoum	Chirurgie réparatrice et plastique	ZBITOU Mohamed Anas	Cardiologie
ELBAZ Meriem	Pédiatrie	ZOUIZRA Zahira	Chirurgie Cardio- vasculaire
ELJAMILI Mohammed	Cardiologie		

LISTE ARRÊTÉE LE 01/10/2020



DÉDICACES



*« La vérité scientifique sera toujours plus belle que les créations
de notre imagination et que les illusions de notre ignorance »*

-Claude Bernard



Je dédie cette thèse à...

À ma mère, Fatima EL Rhaïbi

Ni les mots ni les gestes n'exprimeront la gratitude et l'affection que j'ai pour toi. C'est à toi d'abord que je dédie ce travail. Merci pour ton amour inconditionnel, pour tous tes sacrifices, et ton altruisme. Merci d'avoir toujours été aux petits soins pour moi, de m'avoir accompagné et soutenu et d'avoir toujours cru en moi. A celle qui a fait de moi l'homme que je suis aujourd'hui. Je t'aime maman.

À mon père, Ali Bajja

Merci d'avoir été là pour moi pendant toutes ces années. Tu as su m'inculquer tes valeurs, ta sagesse et ton amour pour la science et le savoir. Merci de ton engagement, de ta confiance et de tes encouragements.

Je te dédie ce modeste travail en espérant faire honneur au grand homme que tu es.

À ma sœur, Leïla Bajja,

Merci de m'avoir tant encouragé, merci de m'avoir éclairé le chemin du savoir, de m'avoir tenu par la main au chemin de l'école, et d'avoir été la grande sœur idéale. Je te suis très reconnaissant.

À mon frère, Mohamed Yazid Bajja,

Je te dédie ce travail, Monsieur l'architecte, car je sais que tu es avide de savoir, avec mes souhaits de succès dans ta vie personnelle et professionnelle.

À mon neveu Adam Chbani,

Merci d'avoir fait le bonheur de la famille avec ton arrivée au monde au moment de la réalisation de ce travail. Voilà donc une dédicace que tu devras rendre à ton oncle Salah.

À la mémoire de mes grands parents

Feu Saleh El Rhaïbi (1989), Feu Mohamed Bajja (2001),

Feu Zahra Atofi (2012), Feu Zinba Ait Haddou (2017).

À l'ensemble de la famille Bajja et de la famille El Rhaïbi.

À Sara,

Merci d'avoir été là pour moi, de m'avoir supporté dans tous mes états. Merci pour tes mots d'encouragements et ta présence à mes côtés. Je te dédie ce travail pour exprimer mon amour et ma reconnaissance.

*À Mon maître, professeur et ami :
Professeur Mohammed Mouhaoui
Professeur d'Anesthésie et Réanimation
au CHU Ibn Rochd de Casablanca*

Je vous remercie du fond du cœur pour votre implication dans l'enseignement médical et la simulation médicale au Maroc. J'ai eu l'honneur et le privilège que vous soyez mon professeur, mentor et ami. Je salue l'humain modeste, philanthrope et altruiste qui est en vous, avant de saluer le médecin et l'enseignant que vous êtes. Veuillez accepter l'expression sincère de ma gratitude et de mon admiration.

*À Mon maître, professeur et ami :
Professeur Ahmed Rhassane El Adib
Professeur d'Anesthésie et Réanimation
au CHU Mohammed VI de Marrakech*

Je tiens à vous remercier pour tous ce que vous faites pour l'amélioration de la qualité de l'enseignement au sein de la FMPM. Vos qualités humaines, scientifiques, pédagogiques m'ont toujours inspiré. Le contact que j'ai eu avec vous au long de mon parcours n'ont fait que renforcer la profonde admiration que j'ai pour votre personne. Veuillez trouver dans ce travail l'expression de ma gratitude.

*To my mentor and friend:
Professor Jeff Wade
Professor of Emergency Medicine at City of Hope hospital*

I am deeply grateful for the great contribution that you have brought into my medical curriculum. I truly appreciate your dedication for helping your fellow humans as well as your qualities as a physician; a professor and a friend. Please accept my gratitude for all the experiences that your company has offered me.

*À Docteur Samira Fazzani,
directrice du centre régional de Transfusion sanguine
de Marrakech*

Je vous remercie pour votre aide, votre encadrement et vos efforts pour l'amélioration de santé de la population.

*Mes sincères remerciements à tous les enseignants de la Faculté de
Médecine et de Pharmacie de Marrakech,*

En particulier

*Au doyen de la faculté, Professeur Mohammed Bouskraoui
à*

*Professeur Mohammed Zyani, Professeur Radouane Niamane, Professeur
Saloua El Karimi, Professeur Zouhour Samlani, Pr Salma Ait Batahar,
Professeur Nisrine Louhab, Professeur Monir Bourouss, Professeur
Hassan Qacif, Professeur Rachid Chafik, Professeur Mohamed Sbihi,
Professeur Nawal El Ansari, Professeur Noureddine RADA, Professeur
Nadia El Idrissi Slitine, Professeur Saïd Younous,
Professeur Houssam Rebahí*

*À mes amis et frères de longue date
qui ont rendu mon parcours plus agréable :*

*Dr Othmane Elmansouri, Dr Faïcal Rzaïzi, Dr Mostafa El Kasseh,
Dr Mohamed Benchouk et Dr Yassine Yahyaoui.*

À mon amie à laquelle je suis très reconnaissant pour son aide précieuse:

Dr Zaynab Zbiri

Aux 'camarades':

*Dr Imad Kensasse, Dr Ayoub Kazza, Dr Walid Chniber
et Dr Ayyoub Moul El Ksour,*

À mes amis et collègues :

*Dr Amira Azzouzi, Dr Hamza Azal, Dr Ilyass Benbenaïssa, Dr Badr
Belayachi, Dr Ali Atlassi, Dr Soufiane Barroug, Dr Anass Baladi, Dr
Ayoub Azarg, Dr Ahmed Baba et Dr Ayméric Sétondji*

À mes amis du lycée:

Ahmed Bouargane, Badr Benkirane et Badr Chraïbi

À mes amis SimCupistes:

*Dr Yassine Kherchettou, Dr Hamza Lag, Dr Houssam Biborchi,
Dr Hassan Aziz, Dr Mouad Gourtî,*

To my dear friends

*Dr Errol Visser, Dr Hassan Baqer, Hussein Baqer, Dr Mark Wagner,
Lani Dela Noche, Monica Galang, Dr Rishona Corson,
Judy Ann Garcia Wong, Dr Vlad Naidzionac, Dr Richard Fergusson,
Matt Ford, Dr Adam Beckett, and the whole GFR team.*

*À tous ceux que je n'ai pas pu citer. Pardonnez-moi pour cette omission
assurément involontaire.*



REMERCIEMENTS



À Notre Maître et Président de thèse :
Professeur Halim Saïdi
Professeur de traumatologie et orthopédie
au CHU Mohamed VI de Marrakech

C'est un honneur inestimable et un réel plaisir que vous me faites en acceptant de faire partie de ce prestigieux jury, malgré vos multiples occupations. J'ai eu l'honneur de transiter par votre service lors de mon stage d'externat en médecine. Ce fut une expérience mémorable où je me suis imprégné aussi bien de votre savoir et de votre savoir faire que de vos qualités humaines d'empathie et de bienveillance pour vos patients.

Vos qualités académiques et professionnelles nous inspirent, votre amabilité, votre modestie et votre ferme volonté de nous transmettre votre immense savoir font de vous un professeur émérite.

Trouvez ici cher maître l'expression de mes profonds remerciements.

*À Mon Maître et Rapporteur de thèse :
Professeur Mohammed Amine Benhima
Professeur de traumatologie et orthopédie
au CHU Mohamed VI de Marrakech*

Par votre rigueur, votre dynamisme et votre passion dans l'exercice de votre métier, vous avez su me communiquer le désir d'offrir le meilleur de moi-même. Vous m'avez fait un grand honneur en acceptant de me confier la responsabilité de ce travail. Je vous en remercie profondément.

Je vous suis très reconnaissant pour tout le temps et les sacrifices que vous avez dû faire aux dépens de votre travail et de vos obligations, pour tous vos efforts incomparables, pour toutes ces longues heures dépensées à m'expliquer, pour toutes ces informations si précieuses, gratuitement livrées, ainsi que pour vos encouragements inlassables, vos conseils judicieux, et vos remarques hors-paires. Vos qualités humaines exemplaires, votre compétence et votre dévouement sont pour moi un exemple à suivre dans l'exercice de la profession médicale.

J'espère avoir été à la hauteur de votre confiance et de vos attentes. Veuillez trouver ici, cher maître, le témoignage de ma vive gratitude, de mes sentiments les plus distingués et de ma plus haute considération

À Notre maître et juge de thèse :

Professeur Anass Belbachir

Professeur d'anatomopathologie au CHU Mohamed VI de Marrakech

*C'est pour moi un très grand honneur que vous acceptiez de siéger parmi
notre honorable jury.*

*Vos compétences scientifiques et vos qualités humaines seront pour moi
un exemple dans l'exercice de la profession. Nous vous remercions pour
vos efforts fournis pour notre encadrement.*

*Qu'il soit permis de présenter à travers ce travail, le témoignage de ma
profonde considération.*

À Notre maître et juge de thèse :

Professeur Imad Abkari

*Professeur de traumatologie et orthopédie au CHU Mohamed VI de
Marrakech*

*Vous m'avez fait l'honneur d'accepter de faire part de cet honorable jury
et je vous remercie de la confiance que vous avez bien voulu m'accorder.*

*J'ai eu la chance de compter parmi vos étudiants et de profiter de
l'étendue de votre savoir.*

*Vos remarquables qualités humaines et professionnelles ont toujours
suscité ma profonde admiration.*

*Je vous prie d'accepter le témoignage de ma reconnaissance et
l'assurance de mes sentiments respectueux.*



ABRÉVIATIONS



Liste des abréviations :

AH	: Acide hyaluronique
ALDH	: Aldehyde déshydrogénase
ARN	: Acide ribonucléique
bFGF	: Basic fibroblast growth factor (facteur basique de croissance des fibroblastes)
BMP	: Bone morphogenetic protein (Protéine morphogénétique de l'os)
CA	: Cartilage articulaire
CD	: Cluster of differentiation (groupement de différenciation)
CMP	: Cellules mésenchymateuses précurseuses immatures
CO	: Cordon ombilical
CS	: Cellules souches
CSA	: Cellules souches dérivées du tissu adipeux (ASC : adipose derived stromal/stem cells)
CSH	: Cellules souches hématopoïétiques.
CSM	: Cellules souches mésenchymateuses (MSCs : mesenchymal stem cells)
DASH	: Disability of the arm shoulder and hand (score d'invalidité du bras épaule et main)
DMED	: Dulbecco's modified eagle's medium (Milieu de Eagle modifié par Dulbecco)
α-MEM	: Minimum Essential Medium Eagle – alpha modification (milieu minimum essentiel de Eagle –modification alpha)
ECR	: Essai clinique randomisé
EGF	: Endothelial Growth Factor
EMA	: European Medicine Agency
EVA	: échelle visuelle analogique
FDC	: Facteur de croissance
FGF	: Fibroblast growth factor (facteur de croissance des fibroblastes)
FRI	: Functional rating index (indice d'évaluation fonctionnelle)
FVS	: Fraction vasculaire stromale
G-CSF	: Granulocyte colony stimulating factor (facteur stimulant des colonies de granulocytes)
HGF	: Hepatocyte growth factor (Facteur de croissance hépatocytaire)
HLA	: Human leucocyte antigen (Antigène leucocytaire humain)
HPL	: Human platelet lysate (lysat de plaquettes humaines)
HuS	: Allogenic Human Serum (Sérum humain allogénique)
IDO	: indoleamine2,3-dioxygenase
IFATS	: International Federation for Adipose Therapeutics and Science
IGF	: Insuline like growth factor (Facteur de croissance insuline-like)
IL	: Interleukine
iPSCs	: Induced pluripotent stem cells (cellules souches pluripotentes induites)

IRM	: Imagerie par résonance magnétique
ISCT	: Société internationale de la thérapie cellulaire (International Society of cellular therapy)
IV	: Intraveineuse
KL	: Kellgren–Lawrence (échelle)
KOOS	: Knee Injury and Osteoarthritis Outcome Score (score du résultat de la blessure du genou et de d'arthrose)
IKDC	: International knee documentation committee (score du comité international de la documentation du genou)
LCA	: Ligament croisé antérieur
LEFS	: Lower extremity fonctionnal scale (échelle de fonctionnalité du membre inférieur)
MEC	: Matrice extracellulaire
MEM	: Modified Eagle Medium (Milieu d'Eagle modifié)
miRNA	: micro Ribonucleic acid (micro acide ribonucléique)
MO	: Moelle osseuse
ON	: Ostéonécrose (ostéonécrose aseptique de la tête fémorale)
PAL	: Phosphatase alcaline
PDGF	: Platelet derived growth factor (facteur de croissance dérivé des plaquettes)
PGE2	: Prostaglandine E2
PRP	: Plasma riche en plaquettes
SDF-1	: Stromal-derived factor 1 (Facteur dérivé du stroma 1)
SF-36	: short Form 36 (questionnaire court 36)
SMAD	: Small worm phenotype et Mothers Against Decapentaplegic (protéine)
TNF	: Tumor necrosis facteur (facteur de nécrose tumoral)
TSG-6	: Tumor necrosis facteur stimulated gene-6 (gène stimulé par le TNF 6)
UFC	: Unité formant des colonies
VE	: Vésicules extracellulaires
VEGF	: Vascular endetholial growth factor (facteur vasculaire de croissance endothéliale)



PLAN



INTRODUCTION	1
GÉNÉRALITÉS ET HISTORIQUE	4
I. Les cellules souches :.....	5
II. Les Cellules souches mésenchymateuses :.....	5
1. Définition :.....	5
2. Principe thérapeutique :.....	7
III. Historique de l'utilisation des cellules souches mésenchymateuses:.....	10
1. Les débuts :.....	10
2. La croissance d'intérêt :.....	11
3. L'historique des CSM dans la régénération des tissus squelettiques :.....	12
IV. Les différentes utilisations des cellules souches en médecine régénérative :.....	13
V. La sécurité d'utilisation des cellules souches mésenchymateuses :.....	15
LES CELLULES SOUCHES MÉSENCHYMATEUSES ET ÉCHAFAUDS	16
I. Les différents types d'échafauds :.....	18
II. Les interactions cellules-échafaud :.....	21
LA RÉPARATION DU TISSU OSSEUX	24
I. La préparation des cellule souches mésenchymateuses :.....	25
1. Techniques d'isolement :.....	25
2. Techniques d'expansion :.....	29
3. Techniques d'administration:.....	30
4. Les échafauds pour la réparation osseuse :.....	33
5. La différenciation des CSM:.....	34
II. L'ostéonécrose aseptique de la tête fémorale:.....	37
1. Rappel :.....	37
2. Les CSM dans l'ostéonécrose :.....	37
3. Perspectives et avenir.....	47
III. La pseudarthrose :.....	52
1. Rappel :.....	52
2. La thérapie par CSM dans la pseudarthrose des os longs :.....	53
IV. La perte de substance osseuse :.....	66
LA RÉPARATION DES TISSUS SQUELETTIQUES NON OSSEUX	73
I. Le cartilage articulaire :.....	74
1. L'arthrose :.....	74
2. L'apport des CSM dans la pathologie arthrosique.....	75
II. Le ménisque :.....	92
1. La pathologie méniscale :.....	92
2. La thérapie par CSM dans la pathologie méniscale:.....	93

III. Le tissu musculaire :	99
1. Les cellules souches du muscle :	99
2. Les CSM dans la réparation des tissus musculaires :	100
IV. Le tendon :	107
1. Les tendinopathies :	107
2. La thérapie par CSM dans les tendinopathies :	108
V. Le ligament squelettique :	118
1. Les blessures ligamentaires :	118
2. Les CSM dans la thérapie des lésions ligamentaires :	119
INTÉRÊT DES CHIRURGIENS ORTHOPÉDISTES EXERÇANT AU MAROC POUR LA THÉRAPIE PAR CSM	122
I. Méthodes :	123
II. Résultats :	123
III. Discussion :	127
IV. Conclusion :	130
AU TOTAL	132
CONCLUSION	136
ANNEXES	138
RÉSUMÉS	143
BIBLIOGRAPHIE	147



INTRODUCTION



Depuis l'aube de la médecine, la repousse d'un membre amputé est un mythe des plus rêvées. Cette repousse quand il s'agit d'un membre entier avec l'ensemble de ses différentes structures et tissus n'est sans doute pas près de se réaliser, mais la régénération des tissus est désormais atteignable à travers de nouvelles voies de recherche que trace la médecine régénérative.

La thérapie cellulaire est une sous branche de la médecine régénérative, axée sur l'utilisation des cellules de l'organisme à des fins thérapeutiques. Une multitude de cellules sont étudiées à cette fin. Les cellules souches sont l'une des cellules qui capturent depuis le début du siècle l'attention de la communauté scientifique et du grand public.

Les cellules souches sont des cellules sans fonction spécifique qui ont la capacité d'auto-renouvellement et qui possèdent le potentiel de se différencier en plusieurs lignées. Ces cellules sont divisées en deux catégories différentes en fonction de leur origine :

- **Les cellules souches embryonnaires**, qui sont isolées à partir d'embryons en phase préimplantatoire, et qui se distinguent par leur stabilité génomique et leur forte pluripotence. Leur utilisation est limitée pour des raisons d'ordre éthique, mais également du fait de la difficulté d'obtention d'ovocytes humains de qualité.
- **Les cellules souches pluripotentes induites** sont des cellules générées à partir de cellules adultes par la surexpression de certains facteurs de transcription. Ces cellules sont presque similaires aux cellules souches embryonnaire au niveau cellulaire, mais leur stabilité génomique reste discutable(1). Leur découverte a été récompensée par le prix Nobel de médecine et physiologie en 2012.
- **Les cellules souches mésenchymateuses (CSM)** constituent depuis quelques années une population cellulaire très en vogue dans les milieux scientifique. Il s'agit de cellules souches pluripotentes, isolées à partir du mésoderme, d'où leur appellation. Historiquement, elles ont été isolées à partir de la moelle osseuse de la souris. Depuis, ils ont été isolés à partir d'une multitude d'autres tissus, principalement le tissu

adipeux et le cordon ombilical(2). La société internationale pour la thérapie cellulaire propose des critères minimaux pour définir ces CSM que l'on détaillera par la suite.

C'est aux cellules souches mésenchymateuses que s'intéresse donc ce travail, et plus particulièrement à leur place et utilisation actuelle dans la pathologie de l'appareil locomoteur. En effet, l'utilisation des CSM en traumatologie orthopédie est relativement récente, et si les études in vitro et sur les modèles animaux datent des années 80, les premiers essais humains datent de la fin des années quatre-vingt-dix et ne prennent de l'ampleur qu'à partir des deux dernières décennies.

Ce travail a donc comme objectif de :

- De résumer les connaissances actuelles et l'état de l'art en matière de l'utilisation des cellules souches mésenchymateuses dans la pathologie de l'appareil locomoteur (définitions, principe thérapeutique, isolement, culture, implantation...)
- D'analyser les données de la littérature pour déterminer l'apport et les limites de la technique.
- D'investiguer l'intérêt et les attentes des chirurgiens orthopédiques marocains et leurs idées concernant la thérapie par CSM, pour une éventuelle collaboration à travers un sondage réalisé lors de la 37^{ème} édition du congrès la Société Marocaine de Chirurgie Orthopédique et Traumatologique « SMACOT » qui s'est tenu entre le 25 et 27 avril 2019 à Marrakech.



**GÉNÉRALITÉS
ET HISTORIQUE**



I. Les cellules souches : Définition et classification

Les cellules souches (CS) sont des cellules sans fonction spécifique qui ont une capacité d'auto-renouvellement et possèdent le potentiel de se différencier en multiples lignées sous des conditions spécifiques. Elles peuvent être classées selon :

– leur origine :

- Les cellules souches embryonnaires,
- Les cellules souches adultes.
- Les cellules prélevées au niveau du sang du cordon ombilical et d'autres tissus placentaires.

– Selon leur pouvoir de différenciation :

- Les cellules souches pluripotentes,
- Les cellules souches multipotentes
- Les cellules souches unipotentes.

– Selon leur type :

- Les cellules souches hématopoïétiques (CSH),
- Les cellules souches pluripotentes induites (dites iPSC).
- **Les cellules souches mésenchymateuses (CSM).**

II. Les Cellules souches mésenchymateuses :

1. Définition :

Les cellules souches mésenchymateuses sont des cellules indifférenciées, qui ont été initialement isolées dans la moelle osseuse de souris, et décrites comme ayant la capacité de se différencier en fibroblastes. Depuis leur découverte, elles ont été isolées et cultivées suivant des techniques de plus en plus différentes les unes des autres. Cette divergence a nécessité une définition se basant sur des critères minimaux dans le but de permettre une caractérisation uniforme des CSM, facilitant ainsi l'échange et la comparaison des résultats entre les équipes de recherche.

Nous adopterons donc la définition de la société internationale de la thérapie cellulaire (ISCT). Cette dernière recommande l'appellation 'cellules souches mésenchymateuses multipotentes' et base sa définition sur 3 critères(3):

- l'adhérence au plastic
- l'expression d'antigènes spécifiques de surface
- le potentiel de différenciation multipotente.

1.1. l'adhérence au plastic :

Les CSM doivent être adhérentes au plastic lorsqu'elles sont maintenues dans des conditions standards de culture dans des fioles de culture tissulaire. Il est possible de maintenir en vie des CSM et de les cultiver aussi sans adhérences, mais ces protocoles nécessitent des conditions très spécifiques de culture. Toutefois, lorsque ces cellules sont cultivées dans des conditions standards, elles doivent présenter des caractéristiques d'adhérence pour être considérées comme CSM(3).

1.2. l'expression des antigènes spécifique à la surface cellulaire :

Celle-ci permet une identification rapide d'une population cellulaire. L'ISCT propose la présence et l'absence de certains antigènes de surface (Tableau I)

Tableau I : Antigènes de surface spécifiques aux CSM

Antigènes présents	Antigènes absents
CD 105	CD 45
CD 73	CD 34
CD 90	CD 14
	CD 11
	CD 79
	CD 19

L'ISCT souligne que les molécules HLA-DR ne sont normalement pas exprimées par les CSM sauf si elles ont été stimulées par une molécule soluble, comme l'interféron γ à titre d'exemple.

1.3. Le potentiel de différenciation cellulaire multipotente :

L'une des propriétés biologiques par lesquelles se distinguent les CSM est leur capacité de différenciation mésenchymateuse en trois lignées. Ainsi toute CSM doit démontrer sa différenciation en ostéoblastes, en adipocytes et en chondroblastes en utilisant des conditions standards de culture et de différenciation in vitro.

Cette différenciation peut être mise en évidence par des kits de coloration. Ces kits sont disponibles dans le commerce et sont similaires pour la plupart des protocoles publiés.

2. Principe thérapeutique :

L'hypothèse qui a longtemps régné stipule que les CSM agissent par la migration vers les tissus lésés, s'y greffent et se différencient en cellules fonctionnelles, induisant ainsi une régénération tissulaire. Toutefois, plusieurs études précliniques et cliniques sont venues changer ce paradigme(4).

Même si les CSM ont prouvé leur efficacité dans une multitude de pathologies, Il est devenu de plus en plus apparent qu'elles ne se greffent pas en nombres significatifs(5) ou pendant des durées suffisantes(6) au niveau dut tissu lésé pour expliquer les résultats observés en matière de remplacement tissulaire.

Une explication partielle à cette contradiction trouve ses origines dans les toutes premières observations faites sur les cellules stromales de la moelle osseuse (baptisées plus tard CSM). Dexter et coll. (7) étaient les premiers à démontrer que les CSM pouvaient maintenir la croissance, la viabilité, et la multipotence des cellules souches hématopoïétiques dans une co-culture de longue durée avec ces dernières sans facteurs de croissance supplémentaires. Ces études initiales ont suggéré que les CSM ont la capacité de maintenir la croissance et la viabilité de certains types de cellules par la sécrétion de « facteurs trophiques » et ont évoqué la notion de régulation de certains aspects du système immunitaire.

Une vision contemporaine concernant le fonctionnement des CSM s'est donc formée, dans le but de concilier entre le taux et le temps de greffe qui sont plutôt modestes, et les effets

thérapeutiques observés. Les nouvelles hypothèses suggèrent que les CSM utilisent des méthodes alternatives de réparation qui augmentent la viabilité et/ou la prolifération cellulaire, réduisent l'apoptose et dans certains cas et modulent les réponses immunitaire (Les CSM possèdent de ce fait un pouvoir immuno-modulateur). Ces méthodes incluent: l'activité paracrine des facteurs de croissance, la sécrétion de cytokines et d'hormones, les interactions intercellulaires par nanotubes, la libération de vésicules extra cellulaires contenant des peptides/protéines réparatrices, des ARN et micro-ARN (voir figure 1).

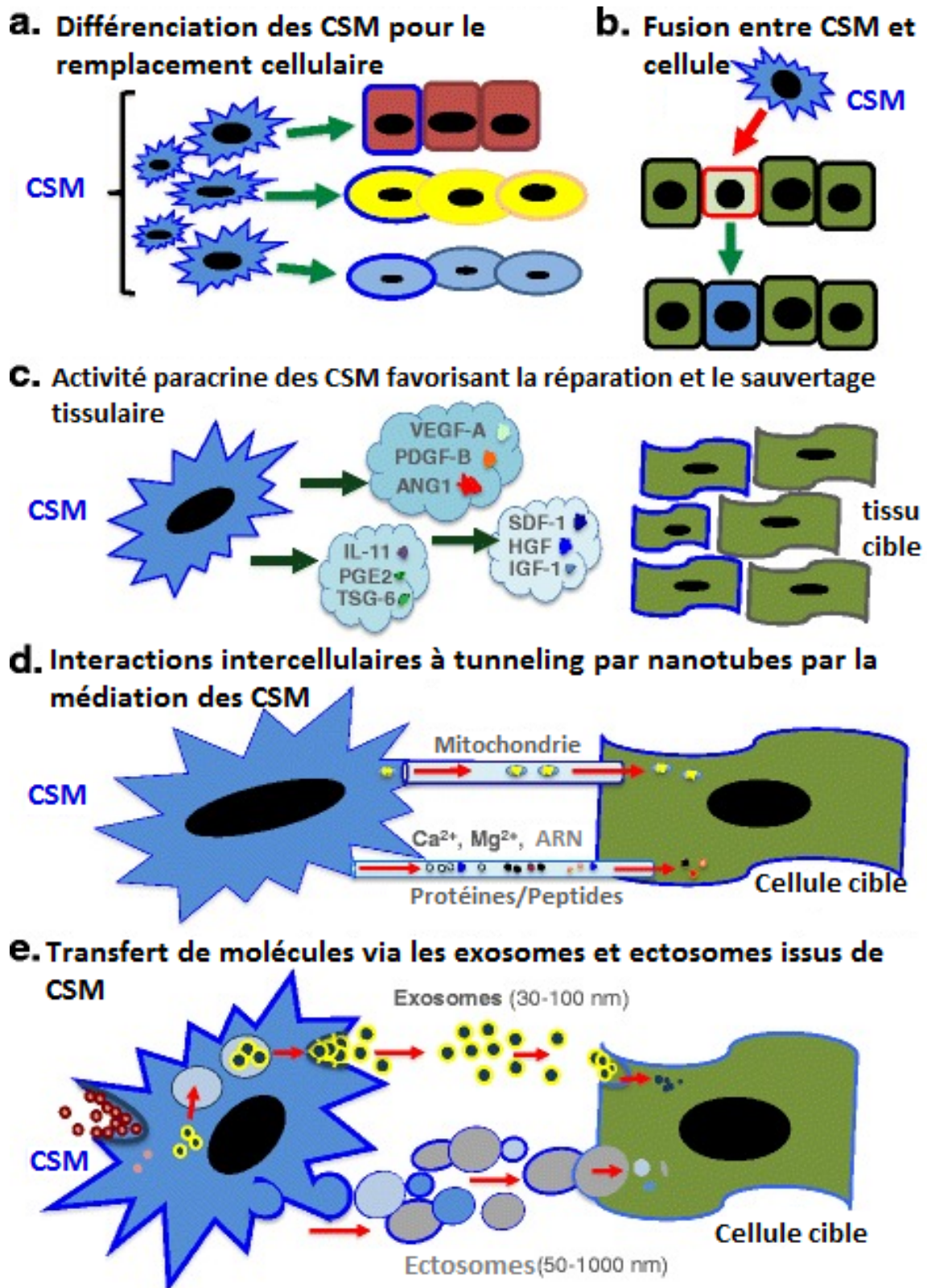


Figure 1 : Mécanismes de réparation des CSM (4)

Les CSM réparent les tissus et les cellules lésés par divers mécanismes :

- a) Différenciation en plusieurs types cellulaires remplaçant ainsi les cellules manquantes
- b) Sauvetage des cellules endommagées ou mourantes par la fusion cellulaire
- c) La sécrétion de molécules paracrines comme les FDC, les cytokines et les hormones (*VEGF*, *PDGF* platelet-derived growth factor, *ANG1* angiopoietin-1, *IL-11* interleukin 11, *PGE2* prostaglandin E2, *TSG-6* TNF-stimulated gene-6, *SDF-1* stromal-derived factor-1, *HGF* hepatocyte growth factor, *IGF-1* insulin-like growth factor)
- d) Le transfert d'organelles (p. ex. les mitochondries) et ou de molécules par l'intermédiaire de tunneling par nanotubes (p. ex calcium et magnésium)
- e) Le transfert par l'intermédiaire des CSM de protéines et peptides, mais également d'ARN, d'hormones et de molécules à travers des vésicules extracellulaires comme les exosomes et les ectosomes. Les exosomes sont générés par voie endocytique et sont libérés par exocytose, à la différence des ectosomes qui sont produits par bourgeonnement de la paroi cellulaire et libérés directement de la membrane cytoplasmique.

Notez que le schéma n'est pas dessiné à l'échelle, et que les mécanismes **a-e** ne sont pas équivalents : par exemple, pour les CSM administrées par voie intraveineuse, le mécanisme **c** est probablement plus fréquent que les mécanismes **a** ou **b**.

Figure 1 : Mécanismes de réparation des CSM (suite) (4)

III. Historique de l'utilisation des cellules souches mésenchymateuses:

Si les CSM ont gagné une certaine notoriété et un intérêt croissant de la communauté scientifique et du public durant les deux dernières décennies, les études et les concepts relatifs à leur utilisation dans la recherche scientifique et dans la pratique cliniques sont plus anciens, remontant à la première moitié du siècle dernier.

Nous passerons en revue dans ce chapitre les étapes clés dans l'historique des CSM, et particulièrement leur utilisation dans la pathologie de l'appareil locomoteur.

1. Les débuts :

L'histoire de la biologie de la CSM doit sa conception et sa naissance à la découverte antérieure de sa voisine au niveau de la moelle osseuse : la cellule souche hématopoïétique, dont l'existence a été proposée par Maximov en 1909(8). En 1960 il y avait déjà un intérêt grandissant pour l'application de connaissances émergentes sur les cellules souches hématopoïétiques dans la transplantation de moelle osseuse. La culture cellulaire in vitro puis les modèles animaux in vivo ont démontré la possibilité de transplanter des cellules souches hématopoïétiques fraîchement isolés chez des receveurs primaires et secondaires.

De nouvelles définitions des cellules souches ont émergé suite à ces essais, le principe fondamental de ces définitions étant la capacité d'une cellule souche à s'auto-renouveler comme l'illustre l'habileté des cellules souches hématopoïétiques à relancer pleinement l'hématopoïèse chez le receveur. Ces nouvelles connaissances ont permis l'adoption à large échelle de la greffe de moelle osseuse dans les maladies lymphoprolifératives, où la radiothérapie et la chimiothérapie dirigées contre la tumeur, suivies d'une transplantation de moelle en provenance d'un sujet sain compatible peuvent sauver la moelle(9).

Des travaux similaires ont été conduits à l'institut Gamaleya de Moscou, où les scientifiques dans le groupe d'Alexander Friedenstein ont étudié les cellules du microenvironnement de la moelle

osseuse et leur résistance à divers régimes d'irradiation, dans le but de faire une ablation de la moelle en préparation à une transplantation. Au cours de leurs investigations, Friedenstein et coll.(10) ont noté que la moelle osseuse ensemencée dans des bouteilles en verre et maintenue dans un milieu de culture rudimentaire produisait une population intrigante de cellules adhérentes non hématopoïétiques qui formaient des colonies transplantables.

Ces colonies pouvaient être transplantées à des receveurs (souris) en gardant leur pouvoir d'auto-renouvellement et formait des tissus matures non hématopoïétiques chez le receveur comme de l'os, du cartilage et des tissus fibreux, indiquant ainsi leur nature de cellules souches.

2. La croissance d'intérêt :

Al. Caplan et Darwin Prockop furent les premiers à reconnaître l'importance des découvertes de Friedenstein dans le monde occidental. Caplan avait proposé un concept de « mésengénèse », similaire au concept d'hématopoïèse dans le domaine des CSH, et fût le premier à utiliser le terme de cellule souche mésenchymateuse(11) (Caplan a revu cette appellation en 2017 préférant le terme Medicinal Signaling Cells ou « cellules de signalisation médicinales » en raison de leur activité paracrine prédominante).

Le premier marqueur clonogénique de cellule souche de la moelle osseuse, nommé Stro-1, a été décrit vers 1991. Paul Bianco et Pamela Robey(12) ont ensuite proposé que les CSM seraient des péricytes ou des cellules réticulaires dans la moelle osseuse.

Caplan et coll. ont attiré l'attention du milieu scientifique et du public sur les CSM à travers un article intitulé « Le potentiel multilinéaire des cellules mésenchymateuses adultes »(13). Ce travail a mis en relation des connaissances provenant de pistes de recherches différentes, comme la différenciation des tissus osseux, cartilagineux et adipeux, pour développer définir des tests biologiques qui constituent toujours la base de la caractérisation des CSM.

Des efforts importants ont été fournis pour étudier les CSM dans différents modèles animaux dans l'espoir de les utiliser dans la thérapie de plusieurs pathologies humaines(13-16)..

3. L'historique des CSM dans la régénération des tissus squelettiques :

L'historique des CSM dans la régénération squelettique commence par les travaux de Caplan. Ceux-ci ont débuté en 1981 en travaillant d'abord sur les bourgeons des membres d'embryons d'oiseaux, d'où il a isolé des cellules dont la culture in vitro permettait la différenciation en tissu osseux, cartilagineux et musculaire (17). Ses investigations ont permis de développer plusieurs principes régissant les avancées actuelles en thérapie cellulaire comme les échafauds, l'induction de la différenciation in vivo via des molécules bioactives, notamment la BMP (18) (Bone Morphogenetic Protein) ainsi que l'utilisation des facteurs mécaniques pour diriger la différenciation vers une lignée spécifique (19).

L'os est particulièrement intéressant dans la dynamique du développement de la thérapie par cellules souches. C'est le premier site d'isolement des CSM et également l'un des premiers tissus vers lesquels les CSM ont été différenciées in vitro, en plus d'être le seul tissu abritant deux populations distinctes de cellules souches destinées à des lignées différentes (hématopoïétiques et mésenchymateuses). L'os est également le seul tissu où la différenciation des CSM en cellules ostéogéniques est le mécanisme de réparation dominant, avec la possibilité que cela soit également valable pour le cartilage et le tendon (20).

Les thérapies par CSM pour les pathologies de l'appareil locomoteur se sont orientées au début des années 2000 vers 3 stratégies, telles que décrites par Caplan (19).:

- La bio-ingénierie qui repose essentiellement sur l'utilisation des échafauds biologiques.
- Le remplacement cellulaire après auto-ou allogreffe
- L'utilisation des CSM comme une pompe à facteurs de croissance et de cytokines pour stimuler des évènements réparateurs ou inhiber des évènements dégénératifs.

IV. Les différentes utilisations des cellules souches en médecine régénérative :

Selon la base de données officielle de l'institut national américain de la santé (NIH), 493 essais cliniques se basant sur les cellules souches ont été rapportés à la date du 15 juin 2015. La plupart visait à évaluer le potentiel biomédical des cellules souches dans le traitement des hémopathies, la maladie du greffon contre l'hôte, le diabète, les maladies inflammatoires, ainsi que les pathologies hépatiques, rénales, pulmonaires, cardiovasculaires, ostéo-articulaires, neurologiques et auto-immunes.

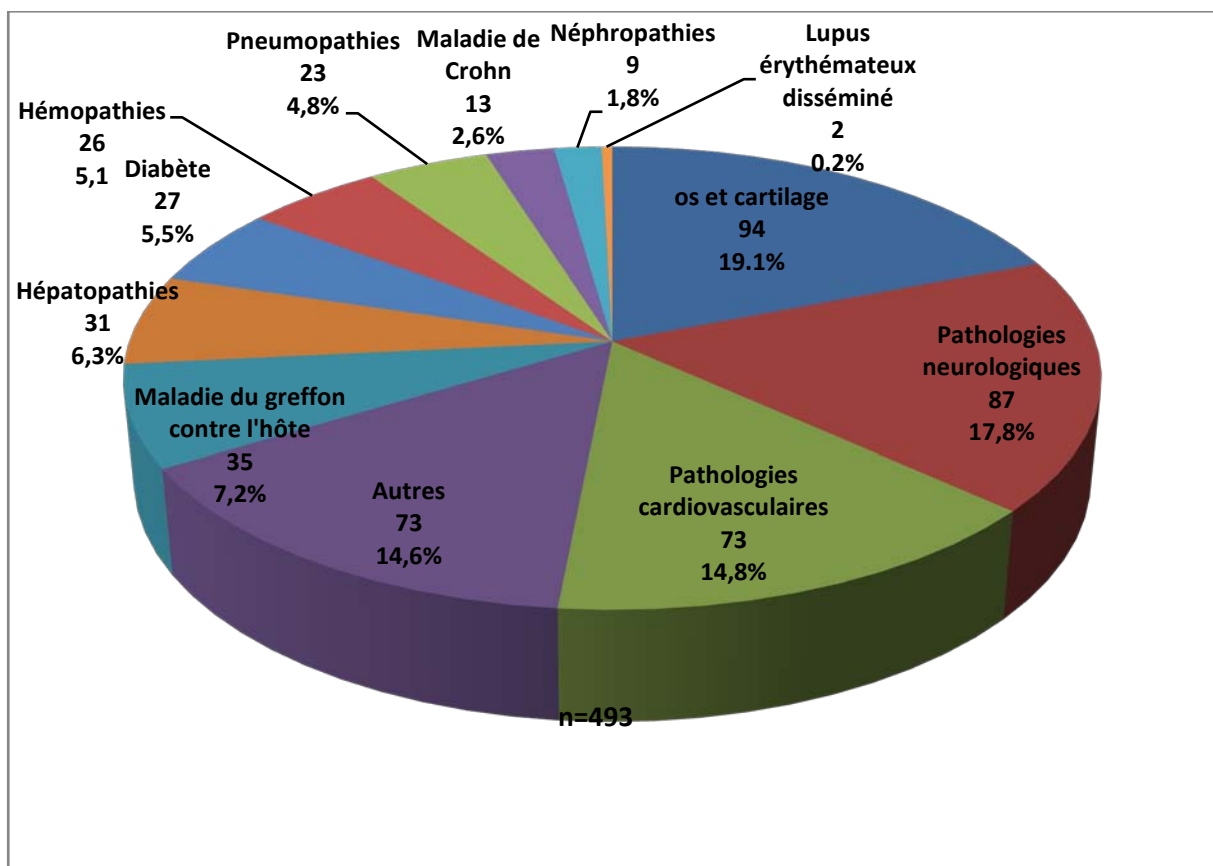


Figure 2 : Le nombre et le pourcentage des essais cliniques se basant sur les CSM par type de pathologie selon le NIH à la date du 21 Juin 2015.

Les CSM sont actuellement étudiées dans le traitement :

- De certaines hémopathies (21) et de la maladie du greffon contre l'hôte (22).
- Des cardiopathie ischémiques(23).
- Des maladies neurologiques dégénératives (24) et des traumatismes médullaires(25).
- De la cirrhose hépatique (26), de la fibrose pulmonaire (27), et des lésions rénales post-opératoires (28).
- De la Covid-19 (29).
- Du lupus érythémateux disséminé (30) et de la maladie de Crohn(31).
- Dans la prévention des rejets d'organes transplantés (32).
- Dans diverse pathologie de l'appareil locomoteur, que nous détaillerons dans les chapitres suivants.

V. La sécurité d'utilisation des cellules souches mésenchymateuses :

La sécurité d'utilisation des CSM est l'une des préoccupations majeures des chercheurs. Les CSM partagent quelques caractéristiques avec les cellules cancéreuses, comme leur longue durée de vie, leur résistance relative à l'apoptose, et la capacité de réplication pour de longues périodes. De plus, les régulateurs de croissance et les mécanismes de contrôle pour le maintien des CSM sont similaires à ceux impliqués dans les cancers. De ce fait, il existe un risque théorique de transformation maligne des CSM(33), ce qui explique la réticence de certaines équipes à l'utilisation de ces cellules. En effet, il a été rapporté que la transplantation des cellules souches embryonnaires augmenterait le risque de formation de tératomes(34). Citons également le risque de contamination des produits cellulaires par des agents infectieux relatif à la mise en culture, ou la transmission d'agents viraux ou de prions via les milieux de culture utilisés. Par ailleurs, l'apparition de tissus ectopiques suite à l'administration des CSM au niveau d'un tissu est redouté du fait du potentiel multilinéaire de ces dernières.

Ceci dit, ces risques sont théoriques ou émanent des résultats d'études in vitro et de modèles animaux notamment murins, les études cliniques rapportent rarement des effets secondaires majeurs relatifs à l'utilisation des CSM(35). Nous détaillerons pour la suite les effets secondaires pour chaque indication, car la sécurité d'utilisation des CSM varie considérablement selon le type de cellules utilisées, les protocoles d'isolement et d'expansion, la méthode et le site d'administration mais également par l'utilisation d'échafauds ou de biomatériaux.



**CELLULES SOUCHES
MÉSENCHYMATEUSES ET ÉCHAFAUDS**



Dans le but d'aboutir à la régénération des tissus, la thérapie cellulaire est souvent associée à l'ingénierie tissulaire. Cette dernière dispose des échafauds (scaffold en anglais) parmi un arsenal de techniques et d'outils étudiés et utilisés.

L'échafaud n'est pas une simple charpente sur laquelle s'accrochent les cellules souches pour se développer dans structure tridimensionnelle, il joue donc non seulement un rôle structural, guidant la réplication cellulaire dans les 3 plans de l'espace, mais également un rôle de microenvironnement, en fournissant diverses substances améliorant la survie, la réplication et la différenciation des CSM(36).

Les échafauds peuvent être en métal, en céramique, en polymères synthétiques ou naturels. Des échafauds composites, comprenant à la fois des polymères et de la céramique ont été développés, particulièrement pour le tissu osseux (37). Ces matériaux composites combinent de façon synergiques des propriétés mécaniques à l'induction de la différenciation des CSM vers une lignée spécifique et à la croissance des cellules en leur sein (ostéo-induction et ostéo-conduction dans le cas des perte de substances osseuse(38).

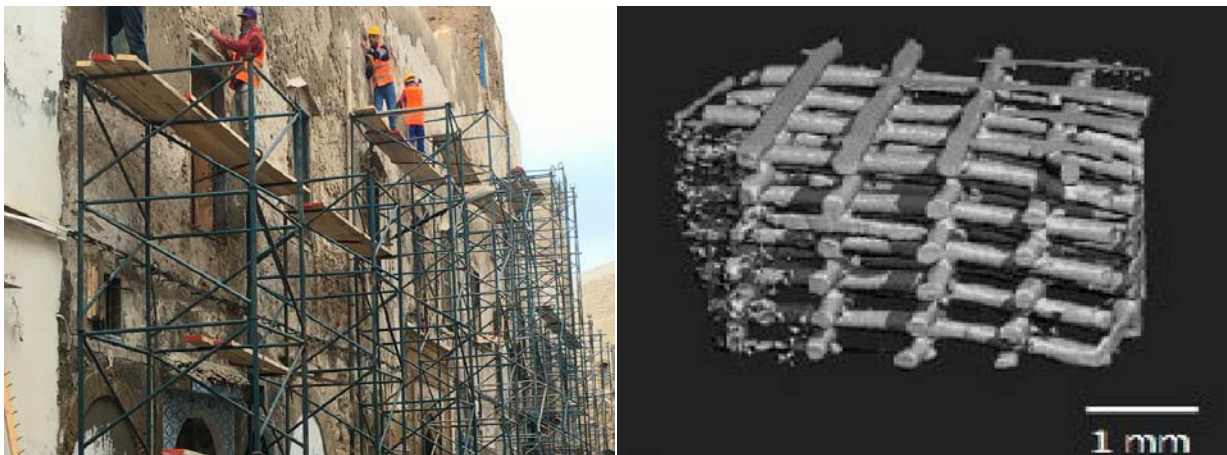


Figure 3 : Echafauds : à droite échafaud tridimensionnel fibreux pour tissu cartilagineux, à gauche échafaud de rénovation d'une façade de la médina d'Essaouira.

I. Les différents types d'échafauds :

1. La matrice extracellulaire osseuse déminéralisée comme échafaud

La matrice extracellulaire décellularisée a gagné beaucoup d'attention comme biomatériau implantable naturel ou échafaud biologique pour la réparation tissulaire, en montrant des résultats cliniques encourageants(39). Celle-ci en conservant sa microarchitecture et ses composants moléculaires bioactives comme les cytokines et les facteurs de croissance, fournit un environnement permettant une régénération tissulaire in vitro et in vivo. L'élimination des cellules et du matériel génétique de la matrice est réalisé dans un but de prévenir les réactions immunitaires post implantation (40,41).

Plusieurs méthodes de décellularisation ont été développés mais que nous n'allons pas détailler. Retenons que toutes ces méthodes affectent différemment la microstructure et les composants moléculaires de la matrice extracellulaires (42).

cette matrice extra cellulaire peut aussi prendre la forme d'hydrogels possédant des propriétés mécaniques et biologiques différentes de celles des matrices solides mais maintiennent leur potentiel d'induction et de conduction de la repousse tissulaire (43).

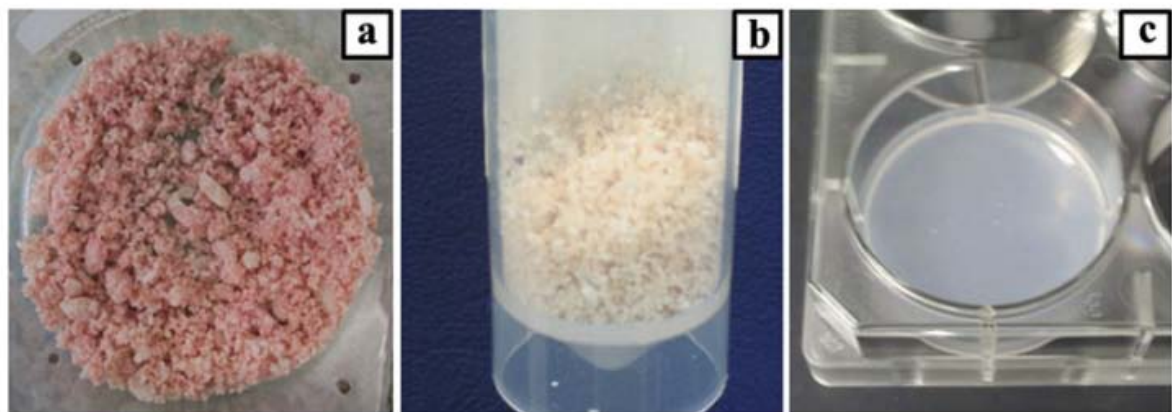


Figure 4 : Production d'un hydrogel de MEC décellularisé à partir d'un tibia bovin. Réduit d'abord en fragment (a), ensuite les lipides, les cellules et les minéraux sont éliminés par diverses procédures (b), avant d'être transformé en gel par digestion et solubilisation.(43)

2. Les polymères naturels :

Les dérivés naturels de protéines et les polymères d'hydrates de carbone sont largement utilisés comme échafauds pour l'ingénierie tissulaire. Les polysaccharides comme la cellulose et ses dérivés, mais également les alginate, le chitosane (extrait de carapace de crustacés), les hyaluronates, la fibrine, la fibronectine, le collagène, la gélatine et leurs dérivés sont employés à cet effet. Des agents biologiques peuvent être incorporés à ces polymères grâce à leur état de gel(44).

Le collagène est le composant principal de la matrice extracellulaire. En plus de présenter une grande résistance aux forces de tension, les fibres de collagène portent des ligands qui favorisent l'adhésion, la migration et la différenciation cellulaire.

L'exemple est celui des matériaux composites développés pour la régénération osseuse comprenant des combinaisons variables de collagène fibreux avec l'hydroxyapatite, les polysaccharides, le polyéthylène glucol, les dérivés de cellulose et les hyaluronates de sodium. Ces matériaux ont démontré de bons résultats dans la littérature. Cependant, ils présentent un risque de rejet immunitaire, d'hypercoagulabilité et d'hypertrophie tissulaire(45).

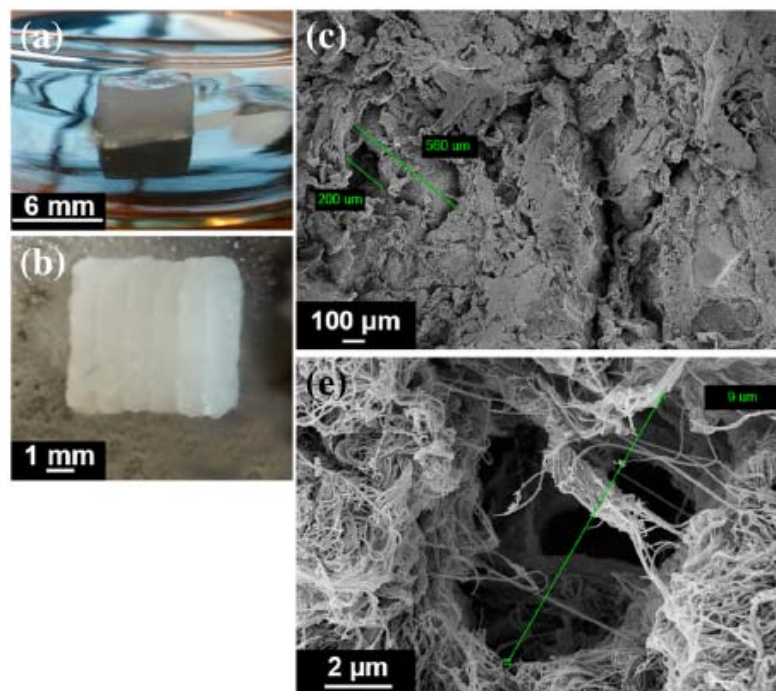


Figure 5 : forme macroscopique d'un échafaud de collagène imprimé en 3D (a–b). Images du même échafaud obtenues par microscope électronique à balayage(c–d). (46)

3. Les polymères synthétiques :

Les échafauds synthétiques comprennent majoritairement les polyesters comme l'acide poly-lactique (PLA), l'acide poly-glycolique (PGA), et le poly-caprolactone (PCL)(37). En plus de ces homopolymères, des copolymères synthétiques ont été étudiés (47).

Les polymères synthétiques sont généralement biocompatibles et plusieurs sont bio-résorbables. Dans certaines situations (exemple de reconstruction osseuse) les échafauds doivent posséder une certaine solidité mécanique (38). Celle-ci, ainsi que la vitesse de résorption, peuvent être modifiés grâce à la variation du poids moléculaire et à sa distribution. L'un des problèmes à surmonter est l'accumulation des produits de dégradation de ces polymères qui, même en étant des produits naturellement présents dans les chemins physiologiques du métabolisme, déclenchent une inflammation locale du fait de leur quantité anormalement élevée (37).

4. Echafauds en céramique :

Les céramiques biocompatibles comprennent l'hydroxyapatite, les phosphates de tricalcium, les phosphates de calcium et leurs matériaux composites en association avec les polymères synthétiques ou naturels. Ces combinaisons sont les plus utilisées en raison de la fragilité et du manque de porosité des échafauds en céramique pure (48).

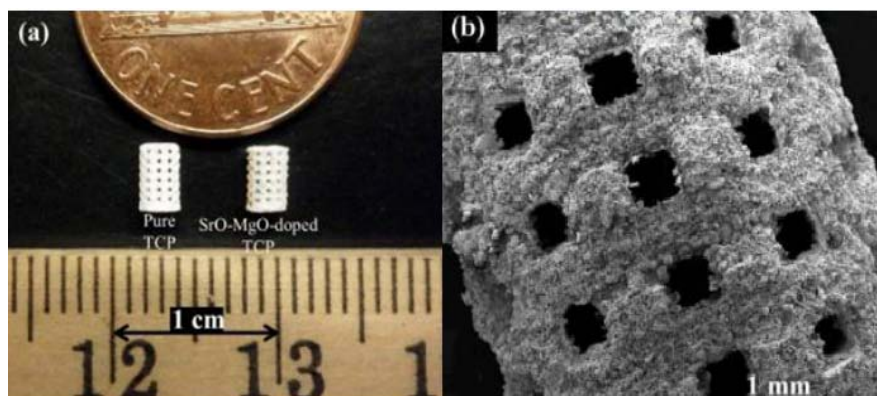


Figure 6 : Echafaud en céramique de phosphate de tricalcium.(49)

5. Les nouveaux échafauds :

Les nanomatériaux fabriqués à une échelle nanométriques pour la régénération osseuse incluent les nanosphères, les nanoparticules, les nanotubes de carbone et les nano-dendrimères basés sur le carboxyméthylechitosane et les polyamido-amines. Leur utilisation est motivée principalement par l'amélioration des propriétés mécaniques des échafauds. Plusieurs techniques ont permis de potentialiser le bénéfice de ces matériaux, usant de leurs interactions chimiques, électriques, thermiques et photo-acoustiques avec les CSM(37).

La découverte des nanotubes et des fullerènes a révolutionné l'ingénierie tissulaire grâce à leur capacité de mimer la structure de la matrice extracellulaire. Ces nanomatériaux ont été étudiés durant les deux dernières décennies pour l'utilisation dans les échafauds et la bio-ingénierie des tissus(50).

II. Les interactions cellules-échafaud :

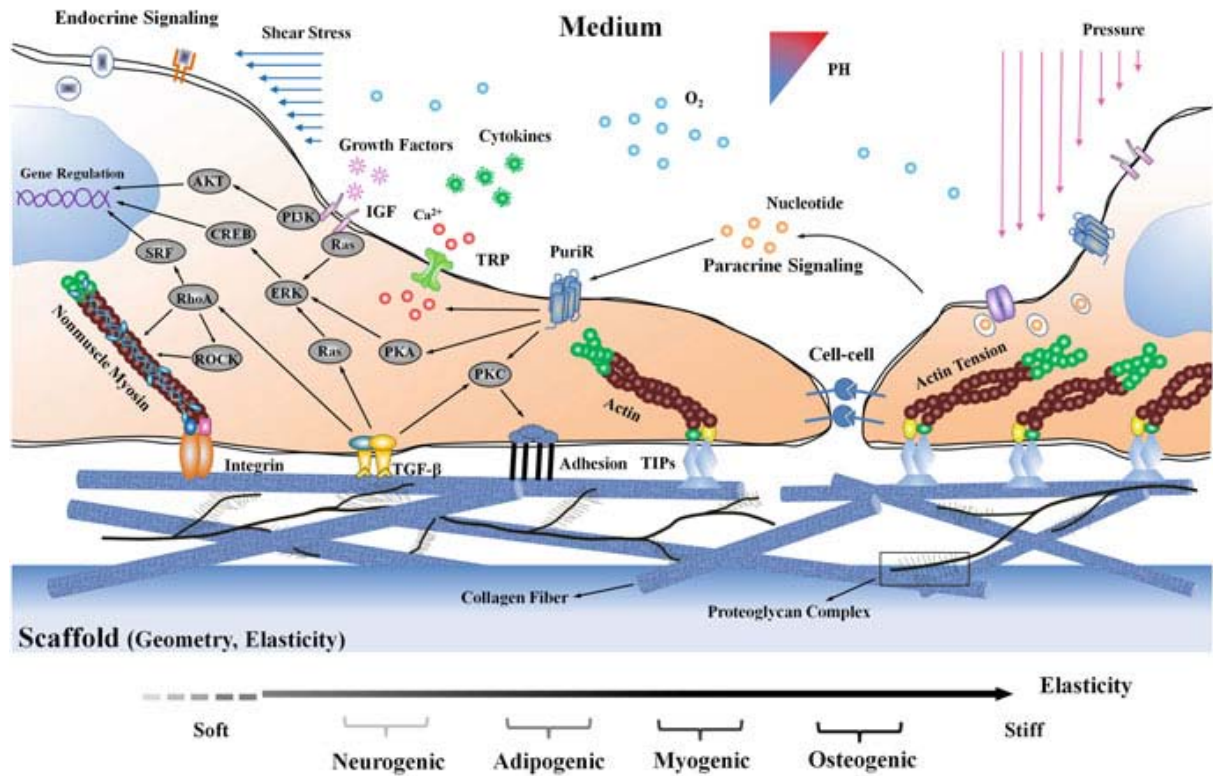
L'échafaud doit être construit dans le sens de fournir un environnement mimant la matrice extra cellulaire, et être adapté au microenvironnement nécessaire pour la maintenance et la différenciation des cellules souches. Le terme de niche de cellule souche a été adopté pour désigner cet environnement(37). Les échafauds à surface biomimétique peuvent diriger la différenciation cellulaire vers une lignée donnée (51).

La niche est le microenvironnement qui entoure physiquement les cellules souches dans un tissu donné, et qui influence activement le devenir de ces cellules, soit dans le sens de la conservation de leurs caractéristiques d'auto-renouvellement et de pluripotence, ou dans le sens de différenciation vers une lignée précise pour la réparation ou la régénération tissulaire.

Des facteurs mécaniques (l'élasticité, les contraintes de pression, de cisaillement et la pression artérielle) (52) ou physico-chimiques (le pH, la pression partielle en oxygène et les forces ioniques) régulent positivement ou négativement les réponses des cellules souches au niveau de la niche (53-55).

En plus des facteurs physico-chimiques et mécaniques, Les cellules souches interagissent chimiquement avec leur environnement aussi bien cellulaire que matriciel, guidant ainsi leur devenir (56). Un système complexe de signaux paracrines moyennant les cytokines et les facteurs de croissance(57) ainsi qu'une signalisation autocrine entre les cellules souches elles mêmes(58) ou les cellules souches et les cellules avoisinantes(59) régissent la différenciation et la réplication des cellules souches.

La connaissance des facteurs et des composants des niches n'est pas suffisante à elle seule, les concentrations locales de ces derniers peuvent constituer des réactions seuil dépendantes(60). L'ingénierie des tissus à une échelle microscopique constitue donc la clé d'une reconstruction fidèle des niches au sein des échafauds pour de meilleurs résultats(37).



Les cellules souches sont affectées par leur microenvironnement qui est défini par les propriétés de la matrice extracellulaire comme :l'élasticité ; la géométrie; les molécules qui s'y lient (le TGF- β , les TIPS, les intégrines, et le TRP qui peuvent réguler la tension cytosquelletique, induisant ainsi une expression génique et une adhésion focale via l'activation d'une série d'évènements de transduction mécanique); de nombreux facteurs solubles (comme les nucléotides extracellulaires, les FDC, et les cytokines qui influencent le devenir cellulaire); des forces mécaniques comme les contraintes de cisaillement et la pression artérielle qui elles aussi affectent la prolifération et la différenciation des cellules souches ; les facteurs physico-chimiques comme le pH et l'oxygène.

Figure 7 : Les cellules souches et leur microenvironnement naturel (37) :



**LA RÉPARATION
DU TISSU OSSEUX**



I. La préparation des cellules souches mésenchymateuses :

L'utilisation des CSM en médecine régénérative suit schématiquement trois étapes : le prélèvement et l'isolement des CSM, leur mise en culture ou expansion (facultatif) et enfin, leur administration. Les protocoles utilisés varient considérablement selon le tissu de prélèvement, l'indication thérapeutique et les préférences des équipes.

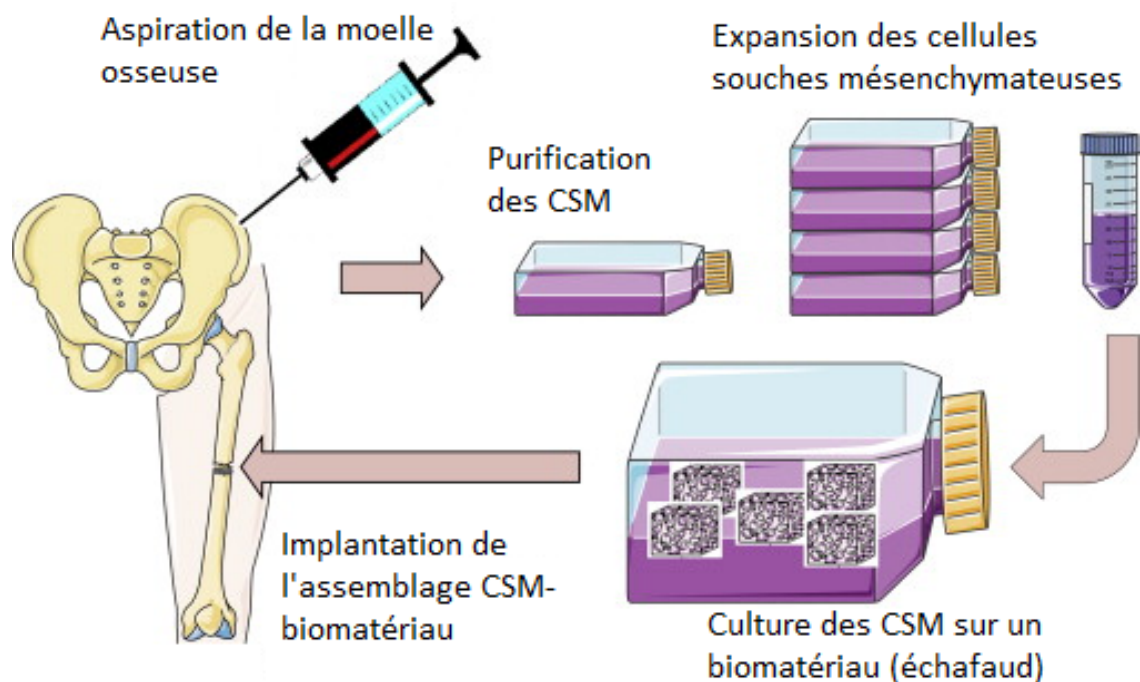


Figure 8 : schéma de prélèvement, culture et implantation des CSM dérivées de la MO sur un échafaud (61)

1. Techniques d'isolement :

Nous passerons en revue les différentes techniques d'isolement à partir de la moelle osseuse, du tissu adipeux et du cordon ombilical du fait que ce sont les sites les plus fréquemment utilisés en pratique et en recherche. Il existe d'autres sites donneurs utilisables que- par commodité- nous n'allons pas détailler.

1.1. A partir de la moelle osseuse :

Le prélèvement à partir de la MO suit une procédure standard établie initialement pour l'obtention de greffons de cellules souches hématopoïétiques. La moelle est aspirée au niveau de la crête iliaque postérieure du patient à l'aide d'une aiguille de Jamshidi vers une seringue héparinée(62). La moelle prélevée est ensuite préparée, par gradient de densité via centrifugation, par étalement direct ou par d'autres méthodes d'enrichissement.

Il a été prouvé que l'âge du donneur et la qualité de l'échantillon aspiré impactent la fréquence d'isolement des CSM (63). Des volumes supérieurs à 2 mL contiendraient aussi du sang périphérique diluant l'échantillon (64).

Plusieurs tentatives d'enrichir le prélèvement en CSM à partir de la MO par immunodéplétion, rappelant l'utilisation du CD34+ pour la préparation des cellules souches hématopoïétiques, ont été utilisées. Une multitude de marqueurs de sélection ont été décrits (65)-(66)-(67), mais aucun n'a prouvé sa capacité de distinguer les CSM multipotentes à haut degré de prolifération des autres cellules engagées dans une lignée à moindre potentiel de différenciation. De ce fait, les procédures usuelles pour l'obtention des CSM en pratique clinique utilisent l'isolement par gradient de densité ou l'étalement direct pour séparer les cellules mésenchymateuses des cellules hématopoïétiques par leur capacité d'adhésion au plastic(68).

L'efficacité des CSM dérivées de la MO sur la régénération osseuse dans diverses pathologies orthopédiques a été démontrée par accumulation de preuves. Nous passerons au crible ces preuves pour chaque indication plus tard dans ce chapitre.

Malgré leur efficacité, les CSM dérivées de la MO présentent l'inconvénient d'avoir une concentration extrêmement réduite. Les CSM représentent 0,001 à 0,01% des cellules mononucléées prélevées de la moelle. Ceci représente un véritable obstacle, sachant que la régénération osseuse est dose dépendante, voir seuil dépendante(69). En effet, certains auteurs suggèrent que le nombre minimal de CSM nécessaire pour traiter la pseudarthrose tibiale est de 30 000 cellules, et de 35 000 pour le traitement de l'ostéonécrose par cm³(70). Pour atteindre des concentrations et des quantités suffisantes, une grande quantité de moelle osseuse doit être

aspirée, ce qui contribue potentiellement à la morbidité du site donneur. De plus, l'étape de purification est nécessaire pour un effet optimal, car les CSM de la MO peu ou pas purifiées affichent une morphologie variable et par conséquent leur potentiel d'auto-renouvellement et de différenciation sont limités.

1.2. A partir du tissu adipeux :

Les chirurgiens plasticiens ont pratiqué des greffes autologues de tissu adipeux pour le filling de tissus mous ou des défauts de contours pendant plus d'un siècle. La découverte de CSM multipotentes dans ce tissu adipeux a établi une seconde source majeure de ces cellules(71).

Le produit de lipoaspiration constitue le matériel de base dans la plupart des cas. Les techniques de liposuction peuvent récupérer des volumes allant de quelques millilitres à plusieurs litres de tissu. La liposuction tumescence exige la perfusion de solutions salines contenant des agents anesthésiants ainsi que de l'adrénaline à but vasoconstricteur. Pour l'obtention de volumes minimes de tissu adipeux, l'aspiration mécanisée ou par seringue ou encore l'excision peuvent être utilisées(73). Il a été démontré que la liposuction assistée par ultrasons altère la capacité de récupération et d'expansion des CSM(72).

Les étapes du traitement du tissu adipeux visent à éliminer les débris cellulaires, les huiles, les cellules sanguines en excès, les protéines et les constituants de la matrice extracellulaire. Le lavage permet généralement d'obtenir des puretés satisfaisantes.

Si l'âge des sujets prélevés n'a pas d'effet sur la fréquence d'isolement des cellules souches(74), il joue un rôle dans la vitesse de prolifération et le degré de différenciation en adipocytes adultes (75).

La fédération internationale des thérapies et science adipeuses (IFATS) et l'ISCT proposent une appellation pour les cellules souches obtenues à partir du tissu adipeux: ASCs pour

adipose-derived stromal and stem cells(76) (Cellules stromales et cellules Souches dérivées du tissu Adipeux). Nous utiliserons l'abréviation CSA.

Leur potentiel d'ostéo-différenciation est bel est bien établi sur des données in vitro et in vivo(77). Les CSA ont l'avantage de la facilité d'obtention et d'un haut rendement (100 à 1000 fois plus que les CSM dérivées de la MO pour un centimètre cube de tissu). L'expansion ex vivo reste cependant souhaitable pour réduire la contamination par les autres types cellulaires et atteindre un plus grand rendement. Le rendement varie également en fonction du site du prélèvement du tissu adipeux(78).

En dépit de leur abondance, les CSA cultivées in vitro montrent une multipotence et un auto-renouvellement réduit. La capacité proliférative semble diminuer avec l'âge de l'hôte, ce qui est désavantageux pour les patients âgés. De plus, les CSA sont inférieurs aux CSM dérivées de la moelle en termes de différenciation ostéogénique in vitro, leur supériorité in vivo reste à démontrer(79).

1.3. A partir du cordon ombilical :

Le cordon ombilical humain est une source primitive et abondante en CSM qui a gagné beaucoup d'attention du fait qu'il ne pose pas de problèmes éthiques et dont le prélèvement n'est pas invasif. Il existe quatre méthodes pour l'isolement des CSM à partir du cordon ombilical : la centrifugation par gradient de densité ; l'isolement par cytométrie en flux ; le screening de l'attachement cellulaire, et la digestion enzymatique en deux étapes(80).

Le placenta humain est également utilisé pour l'isolement des CSM selon des procédés très semblables à ceux des CSM dérivées du cordon ombilical(81).

Quoique fréquemment utilisé comme source de cellules souches, le sang du cordon ombilical en reste moins riche que le tissu adipeux. Il présente par contre l'avantage d'un haut rendement en culture(82). Les cellules souches du cordon ombilical possèdent un potentiel de différenciation ostéogénique, mais à un degré moindre par rapport aux cellules souches dérivées

de la moelle osseuse. Leur utilisation comme alternative à ces dernières reste controversée, surtout en manque de preuves d'ostéo–formation in vivo(83).

Il est admis actuellement que tout tissu de l'organisme est une source potentielle de CSM, mais leur isolement se heurte à des contraintes relatives à la sécurité, à la fréquence d'isolement et à la difficulté d'expansion(84).

Nous verrons que plusieurs équipes utilisent les CSM résidentes du tissu à traiter ou d'un tissu avoisinant. Ainsi, le muscle, la membrane synoviale, le ligament croisé antérieur et d'autres tissus ont également été exploités.

2. Techniques d'expansion :

Afin d'être utilisées à des fins thérapeutiques, les cellules souches peuvent passer par une étape d'expansion (facultative), dite également de mise en culture ou d'amplification. Celle-ci vise à augmenter le nombre des CSM préalablement obtenues par les procédés d'isolement cités plus haut. Un environnement de culture approprié est indispensable à cet effet, il est typiquement maintenu par une combinaison de milieux, de suppléments et de réactifs, avec éventuellement une population de cellules nourricières dans le cadre de co–cultures(85).

Le milieu de base

Il n'existe actuellement pas de milieu de culture standard, certains auteurs préfèrent l'usage du milieu minimum essentiel de Eagle–modification alpha (α –MEM), d'autres préfèrent le Milieu de Eagle modifié par Dulbecco (DMEM). Toutefois les composants indispensables, et critiques à l'expansion des CSM semblent être présents dans le sérum, qui est une source de nutriments, d'hormones et de facteurs de croissance (64).

Le sérum bovin foetal (SBF) semble être incontournable pour l'obtention de CSM de qualité et en grande quantité après expansion ex–vivo (86) . Il n'est toutefois plus considéré comme un supplément sûr pour les protocoles d'expansion à échelle thérapeutique en raison du

risque de transfert d'exo-protéines immunogènes et d'agents infectieux, notamment l'encéphalopathie spongiforme bovine (dite maladie de la vache folle) (87). Dans ce sens, l'Agence Européenne des Médicament (EMA) recommande l'utilisation de sérums en provenance d'espèces sans risque d'atteinte par l'encéphalopathie spongiforme bovine ou idéalement des sérums d'origine non animale(88). Malgré cela, le SBF continue d'être utilisé par plusieurs équipes du fait de sa disponibilité dans le commerce sous formes prêtes à l'emploi.

Les suppléments humains : Les inquiétudes relatives à l'utilisation du SBF dans la fabrication des CSM ont encouragé l'utilisation de suppléments alternatifs d'origine humaine. Plusieurs équipes optimisent les milieux de culture par l'ajout de facteurs dérivés du sérum, de plaquettes ou de sérum humains.

Le Lysat de plaquettes humaines (HPL) peut être obtenu à partir de plasma riche en plaquette dérivé de la couche leuco-plaquettaire, qui est séparé des globules rouges et blancs par centrifugation, les plaquettes sont ensuite concentrées à au moins 10^9 /mL.

La libération des facteurs de croissance et des facteurs mitogènes stockées dans les granules alpha des plaquettes peut être induite soit par l'activation de ces dernières par la thrombine ou par la fragmentation cellulaire. Ces facteurs sont supposés augmenter la prolifération des cellules osseuses, des chondrocytes et des CSM.

Le sérum humain AB rhésus négatif (HuS) est une autre alternative au SBF, il est obtenu à partir du pooling de sérum de donneurs AB rhésus négatif (48).

3. Techniques d'administration:

L'accessibilité des cellules thérapeutiques à leur site cible dépend fortement de leur moyen d'administration. Dans cette perspective, le chemin d'administration doit donc être choisi et adapté en fonction du type de la lésion, de son siège et des mécanismes d'action des CSM.

Les voies d'administration des CSM peuvent être classées en trois catégories :

- Systémique ;
- Locale et régionale
- Sur échafauds et pièces de bio-ingénierie.

3.1. Les voies systémiques :

L'injection intraveineuse des CSM semble être le chemin le plus utilisé en thérapie par CSM tous appareils confondus en raison de sa sécurité et de sa facilité de réalisation. Ce chemin semble toutefois conduire à une séquestration des CSM majoritairement au niveau des poumons, mais également au niveau de la rate, du foie, de la moelle osseuse, du thymus des reins et de la peau(89). La distribution des CSM au niveau de ces organes ne semble pas être affectée par leur caractère autologue, syngénique, allogénique ou même exogénique(90). Des modèles murins indiquent par ailleurs que le site d'injection intraveineuse (veine caudale versus veine porte) joue un rôle dans la distribution et la persistance des CSM dans les différents organes, mais moins que le chimiotactisme exercé par les tissus lésés(91).

La capacité de survie des CSM dans les organes de distribution est relativement courte. Moins de 0,01% des CSM humaines injectées à des souris par voie I.V étaient détectables à 4 semaines dans les poumons de ces dernières. Le taux d'apoptose des CSM détectées reste inférieur à 1% suggérant d'autres mécanismes de disparition de ces cellules(92).

La séquestration des CSM au niveau de certains organes et leur courte survie ne retentit cependant pas sur leur efficacité. Celle-ci semble plus dépendante de la quantité initiale de cellules injectée (93). La majorité des auteurs recommandent dans cette perspective un minimum d'1 à 2 millions de cellules par kilogramme de poids corporel, ou 1 à 2 millions d'éléments par centimètre cube de tissu traité(94).

Il est à noter que si dans les modèles animaux, murins notamment, la voie intraveineuse était à l'origine d'embolies pulmonaires et de sarcomes(93), elle semble sûre et sans conséquences pathologiques dans les essais cliniques(95).

La voie intra artérielle constitue un moyen à la fois local et systémique pour l'administration des CSM, présentant un avantage important par rapport à la voie IV grâce au contournement du premier passage pulmonaire où les CSM sont capturées, permettant ainsi un greffage supérieur de ces dernières au niveau des tissus cible, tout en réduisant la dose minimale efficace(96). Cette réduction de dose permet non seulement une réduction du temps et du coût lors de l'isolement et l'expansion des CSM, mais également la limitation du risque d'infarctus de l'artère utilisée(97).

Cette voie est particulièrement intéressante pour les thérapies par CSM dans les infarctus du myocarde et les accidents vasculaires ischémiques, mais également pour l'arthrite goutteuse, les séquelles des traumatismes crâniens et les traumatismes musculaires, comme en attestent plusieurs études sur des modèles animaux (98-100).

3.2. Les voies locales :

Les voies locales trouvent leur utilité dans le fait que la voie intraveineuse limite le bénéfice thérapeutique des CSM à cause de leur filtration pulmonaire(101).

la voie intramusculaire a été explorée dans cette logique. Celle-ci a l'avantage de potentialiser la sécrétion des biomolécules par les CSM, en plus de les rendre détectables jusqu'à 5 mois après l'administration(101). Elle est également moins invasive par rapport à la voie IV.

L'application topique cutanée des CSM est la méthode la moins invasive d'administration. Son potentiel en matière de brûlure et de cicatrisation des plaies est prometteur. La guérison des ulcères diabétiques, la survie des greffes de peau sur brûlure et les plaies chroniques en général semblent améliorées par les CSM appliquées par voie topique(102). Un système de polymère de fibrine en spray développé par Falanga et coll. (103) ont montré une efficacité sur les taux de fermeture des plaies sur un modèle animal ainsi que sur des patients avec des plaies chroniques des extrémités du membre inférieur.

L'application topique directe est un autre type d'application topique qui concerne l'administration des CSM en per opératoire directement au niveau du site de la lésion. Cette voie,

quoique très invasive, est souvent utilisée à l'occasion d'une intervention chirurgicale concomitante. Nous verrons dans les chapitres qui suivent des exemples de cette voie d'administration.

L'injection directe : Afin que la concentration cellulaire au niveau du tissu cible soit maximale pour obtenir un bénéfice thérapeutique optimal , (ce qui semble logique, et est corroboré par les études qui démontrent que l'effet des CSM diminue de façon proportionnelle à la distance du site d'injection(102)), l'injection des CSM directement au niveau de l'organe cible est utilisée pour une multitude de tissus en injection intra-articulaire, intra myocardique (traitement des séquelles d'infarctus du myocarde) intra spinale (pour les lésions traumatiques de la moelle épinière) et intra parenchymateuse au niveau cérébral (traitement des accidents vasculaires cérébraux ischémiques).

L'injection directe pose cependant le problème de différenciation de ces cellules en des tissus ectopiques, notamment osseux(104). Les risques chirurgicaux encourus lors de l'administration de ces cellules sont également à prendre en compte (laminectomie lors des injections intra-spinales, risque septique...)

4. Les échafauds pour la réparation osseuse :

Les défauts osseux doivent être divisés en deux catégories : les petits défauts, et les défauts de taille critique (critical size defects). Ces derniers désignent les lésions qui n'ont aucun potentiel de guérison spontanée et nécessitent une intervention extérieure.

Les défauts de taille critique ont besoin de cellules et d'échafaud pour ponter le manque tissulaire. Ces substituts osseux doivent non seulement être biocompatibles, mais également permettre l'ostéo-induction (capacité d'induire la différenciation vers la lignée osseuse) et l'ostéo-conductivité (capacité de permettre le développement de tissu osseux à la surface d'un matériau). Pour ce faire, le type cellulaire et les facteurs physicochimiques et mécaniques de l'environnement cellulaire doivent être respectés(37).

En effet. Plusieurs facteurs mécaniques et chimiques comme l'oxygène et le calcium, avec ou sans enzymes additionnelles, sont connus pour leur rôle dans la différenciation vers l'ostéogénèse.

L'angiogénèse constitue un problème non encore résolu dans les pertes de substance osseuses importantes. Les CSM ont démontré leur capacité à se différencier in vitro en cellules endothéliales (les cellules clés de l'angiogénèse) pour former de nouveaux vaisseaux(105). Cependant, malgré la connaissance précise de la taille des pores inter-connecteurs requise au sein des échafauds pour les vaisseaux ainsi que la maîtrise des facteurs induisant l'angiogénèse comme le VEGF (Vascular endothelial growth factor), il est toujours hors de portée de produire un échafaud correctement vascularisé pour une perte osseuse de taille importante. Jusqu'à présent, les nouveaux vaisseaux produits sont trop petits, et les facteurs inducteurs d'angiogénèse présentent un risque carcinogène élevé(37).

En théorie, un échafaud idéal est une structure qui rassemble les éléments nécessaires pour une réparation ad integrum de l'os. Celui-ci doit donc :

- Mimer les propriétés mécaniques, physiques et chimiques voire biologiques de la MEC osseuse (56)
- Permettre la rétention et la survie CSM mais également leur mobilité(106).
- Etre ostéo-inducteur et ostéo-conducteur(37)
- Etre chimiquement inerte, biocompatible et non immunogène(38).
- Promouvoir l'angiogénèse(107)

5. La différenciation des CSM:

Diriger la différenciation des CSM vers la lignée désirée est critique pour la régénération tissulaire. La lignée vers laquelle se fait la différenciation est gouvernée par l'environnement physico-chimique, notamment les facteurs solubles, les facteurs physiques et chimiques, les facteurs mécaniques comme la tension et l'élasticité de la matrice, et le microenvironnement biophysique comme cité précédemment.

L'utilisation d'un milieu de culture inducteur est une méthode efficace pour diriger les CSM vers la différenciation en lignées ostéogénique, chondrogénique, adipogénique ou autre. A titre d'exemple, le milieu d'induction ostéogénique, contenant la dexaméthasone, le β -glycérophosphate et l'acide ascorbique a été généralement utilisé pour induire la différenciation des CSM vers les ostéoblastes en augmentant l'activité de la phosphatase alcaline et en accélérant la minéralisation osseuse.

Malgré l'utilisation répandue de ces milieux de culture pour induire la différenciation des CSM, cette pratique est non naturelle, et convient plus aux manipulations *in vitro*. De nombreuses études ont rapporté que la matrice exerce un effet profond sur les CSM, y compris sur leur attachement, leur prolifération, leur migration et leur différenciation(108).

Deux questions surgissent donc: est-il nécessaire de diriger la différenciation des CSM avant leur transplantation au niveau de la lésion ? Si oui, cela doit-il se faire par la modification du milieu de culture ou par le modelage de la matrice cellulaire, c'est-à-dire le chargement des cellules sur un échafaud reproduisant les caractéristiques de la matrice ?

La réponse à la première question se trouve dans la seconde. Les CSM sont connues pour leur capacité à migrer vers le site de la lésion même lorsqu'elles sont administrées à distance de celle-ci (109). De ce fait, elles se retrouvent en contact de la matrice cellulaire du microenvironnement du site cible et sont plus ou moins baignées dans le liquide extracellulaire, qui lui contient les facteurs cités plus haut en quantités variables, secrétés localement ou à distance. Ceci aboutit à leur différenciation, comme en attestent plusieurs études précliniques(56,110,111), ainsi que certains essais cliniques réalisées par des équipes qui injectent directement les CSM au site de la lésion sans culture(112), ou historiquement sans manipulation après le prélèvement du site donneur, et arrivent tout de même à obtenir une régénération tissulaire(113). La direction de la différenciation n'est donc pas nécessaire, son intérêt est un sujet de débat scientifique.

La seconde question comparant les milieux de cultures aux échafauds peut être adressée en deux temps. Les études précliniques tendent à favoriser la sélection matricielle. Une étude

menée par Jing He et al(108), comparant l'induction par milieu de cultures modifiés à la sélection de la matrice a permis de démontrer la supériorité de cette dernière au niveau la différenciation cellulaire vers la lignée ostéoblastique en utilisant un échafaud d'acide hyaluronique et collagène. Il est important de rappeler que cette étude explore la différenciation in vitro. Les essais cliniques dans ce sens ne sont pas concluants.

De plus, lorsque les cellules souches, sont administrées dans leur état indifférencié, elles jouent également un rôle de médiation cellulaire et immuno-modulateur au niveau du site lésé. L'administration de cellules préalablement différenciées, partiellement ou totalement, réduit théoriquement cette capacité (114).

II. L'ostéonécrose aseptique de la tête fémorale:

1. Rappel :

L'ostéonécrose est caractérisée par l'association de mort cellulaire et d'un processus complexe de réparation mêlant résorption et formation osseuse. La nécrose en elle-même n'est pas responsable de la perte osseuse, c'est plutôt la composante de résorption qui est à l'origine de la perte de l'intégrité structurale de l'os et des fractures sous-chondrales(115).

Le forage de la tête fémorale est largement utilisé pour le traitement des ON aux stades initiaux. Il vise à réduire la pression intra-osseuse au niveau de la tête fémorale, rétablir le flux vasculaire et améliorer la douleur(116). Le forage se limite toutefois au traitement des symptômes de l'ostéonécrose sans agir sur la progression de la maladie(117). Le taux de succès du forage, qu'il soit associé ou non à la greffe d'os autologue est d'environ 63%, et la taux de reprise par arthroplastie de la hanche se situe à 33%(118).

L'utilisation des CSM dans le traitement de l'ostéonécrose est une approche émergente et prometteuse développée dans le but d'améliorer les résultats du forage de la tête fémoral et d'éviter le recours au traitement prothétique(119). Les résultats des études réalisées dans ce cadre seront détaillés ci-dessous.

2. Les CSM dans l'ostéonécrose :

2.1. Le forage de la tête fémorale : seul ou avec greffe de cellules souches mésenchymateuses :

En partant du fait que l'ostéonécrose est caractérisée par un défaut de cellules mésenchymateuses et de cellules osseuses au niveau la tête fémorale, l'implantation des CSM dans le foyer de forage est semble être un traitement prometteur contre cette pathologie. De plus, plusieurs études suggèrent le potentiel de promotion de l'angiogénèse et de l'ostéogénèse au niveau de la tête fémorale (120). La thérapie par cellule souche aiderait non seulement à

l'amélioration des symptômes de l'ostéonécrose mais également à réduire son évolution et sa sévérité, voir même un rétablissement fonctionnel si elle est correctement utilisée(121).

Une méta analyse comparant l'efficacité clinique du forage de la tête fémorale avec la thérapie par CSM dérivées de la MO dans le traitement de l'ostéonécrose de la tête fémorale a été menée en 2014 par Li et al(122). Cette étude a concerné un total de 219 fémurs répartis sur 4 études.

Cette méta analyse a indiqué que l'odds ratio groupé de la progression vers la greffe d'os vascularisé (traduisant l'échec du traitement entrepris) était de 0,11 (0.03~0.43 IC=95% ; $P < 0.01$), ce qui montre que le groupe traité par forage+CSM présente une diminution significative de l'échec thérapeutique par rapport au groupe traité par forage seul. Il a été également rapporté une différence moyenne standardisée de 8.69 (3.76~13.62 ; IC= 95%; $P < 0.01$) pour la comparaison du score HHS (Harris hip score), ce qui suggère que le groupe des CSM présente une meilleure évolution clinique en termes de douleur, de fonction et de déformation par rapport au groupe du forage seul.

Les données de cette méta analyse suggèrent que l'adjonction de l'implantation des CSM dérivées de la MO au forage permet d'améliorer la douleur et la fonction des hanches et de diminuer le recours à la greffe d'os vascularisé.

Une méta analyse similaire(123) a comparé le forage seul au forage supplémenté par la greffe de CSM dérivées de la MO à travers les foyers de décompression dans le traitement de l'ostéonécrose de la tête fémorale. Cette analyse s'est basée sur l'évaluation du collapsus épiphysaire de la tête fémorale et la conversion vers la prothèse totale de la hanche. Les auteurs ont inclus 7 études, reprenant les 4 études analysées par Xu Li et coll. en plus de 3 autres études publiées entre 2010 et 2014.

Il a été démontré une diminution de la progression vers le collapsus épiphysaire par un facteur de 5 chez le groupe des CSM par rapport au groupe du forage seul (odds ratio (OR) = 0.2, 95% CI: 0.08-0.6; $p = 0.02$), ainsi qu'une réduction de la conversion vers la prothèse totale

de la hanche par un facteur de 2 chez le groupe CSM par rapport au groupe forage (OR = 0.6, 95% CI: 0.3-1.02; p = 0.06).

Les auteurs de cette analyse se basent sur ces résultats pour suggérer que l'implantation des CSM améliorerait la survie des têtes fémorales lors de l'ostéonécrose et réduirait le recours vers l'arthroplastie, surtout lorsque les CSM sont utilisées durant les stades précoces de la maladie. Ils soulignent malgré cela le besoin de réaliser des essais randomisés contrôlés avec des échantillons de taille importante pour mieux cerner le rôle des CSM dans la prise en charge de l'ostéonécrose de la tête fémorale.

Une méta analyse plus récente datant de 2019 publiée par Wang et coll. (119) se penche sur la même question. Elle inclut 14 études avec un total de 540 patients, comparant le forage seul au forage avec administration de CSM sur la base de la douleur évaluée par l'échelle visuelle analogique et l'indice du WOMAC (Western Ontario and McMaster universities osteoarthritis Index), le taux de recours à l'arthroplastie, et le volume de la zone nécrotique en post opératoire.

Le nombre de cellules souches mésenchymateuses utilisées dans les études analysées varie de 2.10^6 à 2.10^8 de cellules. Ces nombres élevés de CSA ont été obtenus après mise en culture de cellules dérivées de la moelle osseuse. Ceci est expliqué par l'effet dose dépendant des cellules souches démontré in vitro comme cité précédemment.

Les résultats de cette méta analyse étaient favorables à l'utilisation des cellules souches mésenchymateuses avec forage de la tête fémorale par rapport au forage seul, avec une amélioration de l'EVA et du score de WOMAC à 6, 12 et 24 mois, avec moins de recours à l'arthroplastie de la hanche.

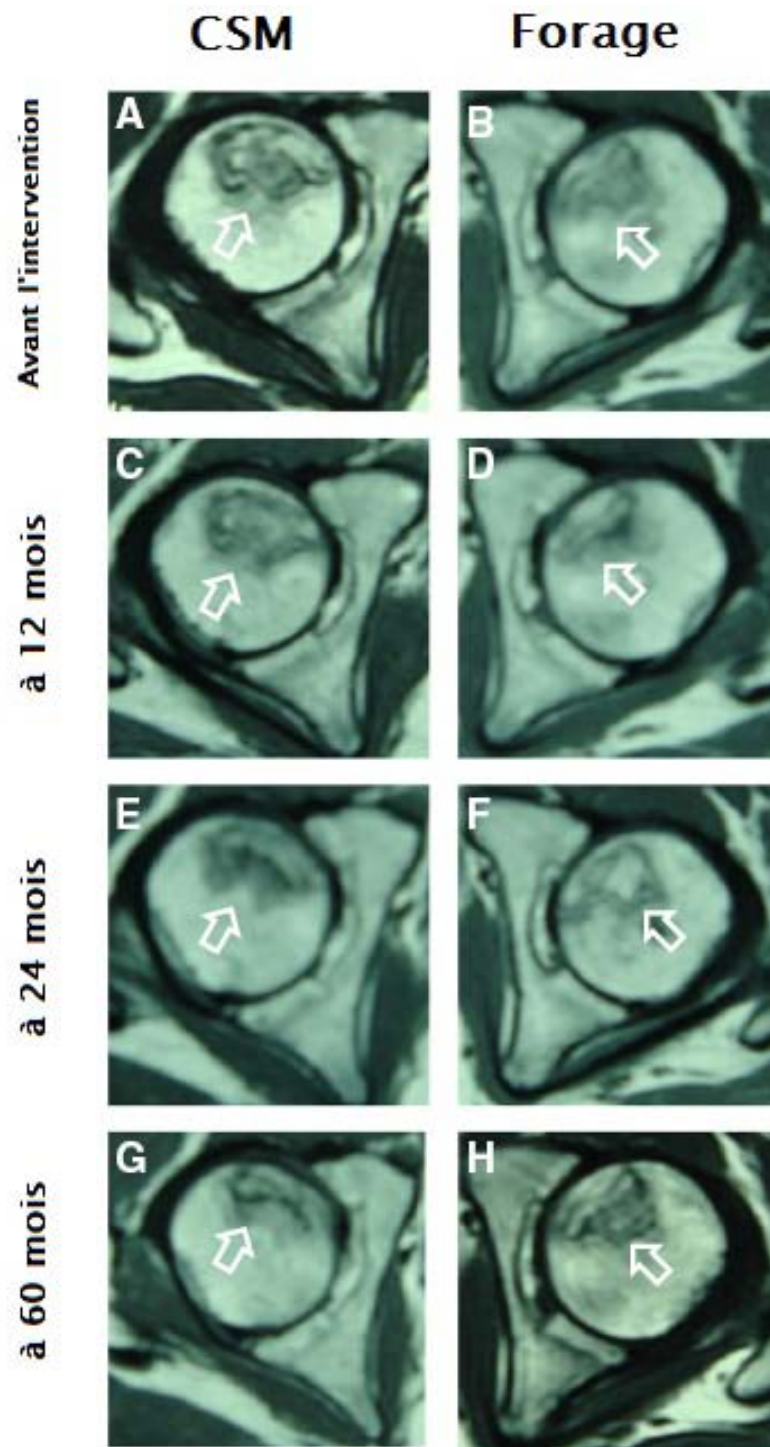


Figure 9 : Images par résonance magnétique en séquence T1 d'une hanche traitée par forage et CSM (A, C, E et G) et d'une autre traitée par uniquement par forage (B, D, F, et H). Les flèches blanches indiquent les lésions nécrotiques. (Étude de Zhao et coll. 2012(120))

Tableau II : Résumé des études incluses dans la méta-analyse de Wang et coll. (119) :

Etude	Age (I/C)	Nombre de cas (I/C)	Diagnostic (classification)	Stade de l'ON	Nombre de cellules	Suivi (mois)	Intervention	Contrôle : (diamètre du forage)	DMS de l'EVA (suivi en mois)	DMS du volume de la zone nécrotique	DMS du WOMAC	RR de recours à l'arthroplastie
Gangji 2004 (124)	40.9/48.4	10/8	ND	ND	9.2×10^8	24	Forage + CSM de la MO	Forage (3.0 mm)	-15.20 (24)	ND	-11.19	0.16
Guo 2008(125)	42/42	10/10	ARCO	III	5×10^8	12	Forage + CSM de la MO	Forage (2.0 mm)	-11.00 (12)	0.08	-8.59	0.33
Sun 2008(126)	36/36	15/13	ARCO	I/II	5×10^8	18	Forage + CSM de la MO	Forage (2.0 mm)	-10.30 (24)	-0.06	-7.75	ND
Chang 2010(127)	35.7/32.4	8/8	ARCO	II/III	2.9×10^6	12	Forage + CSM de la MO	Forage (3.0 mm)	-4.10 (12)	ND	ND	0.33
Gangji 2011(128)	42.2/45.7	13/11	ARCO	I/II	2.24×10^8	60	Forage + CSM de la MO	Forage (3.0 mm)	-24.70 (24)	-0.06	ND	0.56
Rastogi 2012 (129)	34.7/33	30/30	ARCO	I/II/III	2.9×10^6	24	Forage + CSM de la MO	Forage (3.0 mm)	ND	ND	-7.85	0.33
Sen 2012 (130)	ND	26/25	ARCO	I/II/III	5×10^8	60	Forage + CSM de la MO	Forage (4.0 mm)	ND	ND	ND	ND
Zhao 2012 (120)	32.7/33.8	50/50	ARCO	I/II/III	2×10^6	60	Forage + CSM de la MO	Forage (1.0 mm)	ND	-0.07	ND	0.09

Tableau II : Résumé des études incluses dans la méta-analyse de Wang et coll. (119) : «suite»

Etude	Age (I/C)	Nombre de cas (I/C)	Diagnostic (classification)	Stade de l'ON	Nombre de cellules	Suivi (mois)	Intervention	Contrôle : (diamètre du forage)	DMS de l'EVA (suivi en mois)	DMS du volume de la zone nécrotique	DMS du WOMAC	RR de recours à l'arthroplastie
Ma 2014 (131)	35.6/34.8	21/18	Ficat	I/II/III	2×10^6	24	Forage + CSM de la MO	Forage (4.0 mm)	-8.70 (24)	ND	ND	0.29
Tabatabaee 2015(132)	31/26.8	14/14	ARCO	I/II/III	2×10^6	24	Forage + CSM de la MO	Forage (2.7 mm)	-16.10 (24)	ND	-17.50	0.14
Yang 2015(119)	35.3/37.6	30/26	ARCO	I/II	2.9×10^6	18	Forage + CSM de la MO	Forage (2.0 mm)	-5.50 (12)	ND	ND	0.52
Pepke 2016(133)	44.3/44.5	11/14	ARCO	I/II	1.18×10^8	24	Forage + CSM de la MO	Forage (2.0 mm)	-4.20 (24)	ND	ND	ND
Zhao 2016(119)	30.5/35.3	18/18	Steinberg	ND	5×10^8	24	Forage + CSM de la MO	Forage (2.0 mm)	-3.90 (24)	0.01	ND	ND
Hauzeur (134) 2018	48.0/49.7	19/19	ARCO	ND	1.94×10^7	24	Forage + CSM de la MO	Forage (4.0 mm)	-6.30 (24)	ND	ND	0.79

ARCO : Association Research Circulation Osseous classification ; CSM : Cellules souches mésenchymateuses ; DMS : Différence moyenne standardisée ; EVA : échelle visuelle analogique ; (I/C) : intervention/contrôle ; MO : moelle osseuse ; ND : non disponible ; ON ostéonécrose ; RR : risque relatif ; WOMAC : Western Ontario and McMaster Universities Osteoarthritis index.

Au total, La majorité des études rapportent des résultats cliniques positifs incluant une diminution de la douleur, une amélioration de la fonction et de la motricité ainsi qu'une progression retardée vers la prothèse totale de la hanche voire une épargne de cette dernière.

De ce fait, il semble que les résultats cliniques de l'utilisation des CSM pour le traitement de l'ostéonécrose de la tête fémorale sont globalement positifs. Il existe toutefois plusieurs études qui ne rapportent pas de différence significative entre le forage seul et le forage avec implantation de CSM. Les raisons derrière les conclusions divergentes pourraient être dues à l'hétérogénéité entre les études comme la différence dans la sélection des patients, la collecte des cellules, leur conditionnement et la méthode d'administration. Ces variables constituent une voie d'investigation qui permettrait de tirer un bénéfice maximal de la technique.

2.2. Les Facteurs influençant le traitement par CSM dans l'ostéonécrose :

a. La sélection des patients:

Certaines études suggèrent que les résultats du traitement étaient associés à la condition du patient, plus précisément par les déterminants suivants:

- **le stade de l'ostéonécrose** : Ma et coll. (131) ont rapporté que le stade de la maladie affecte le résultat de la thérapie cellulaire. Hauzer et coll. (134) ont rapporté que l'implantation d'aspirat de moelle osseuse n'avait pas d'effet sur la progression de la maladie dans le stade III de la classification de Ficat et Arlet. De ce fait, les patients au stade I et II seraient meilleurs candidats à la technique.
- **L'étiologie** : Sen et coll. (130) ont rapporté que les patients avec des hanches traumatiques avaient de meilleurs résultats que les patients porteurs d'ON non traumatique.
- **L'âge des patients** : Les CSM prélevées à partir de patients d'un âge plus avancé ont la même capacité de différenciation mais sont plus rares et sont moins capables de proliférer. On ne sait pas si le sexe des donneurs affecte ces capacités, Sen et coll. (130) n'ont cependant pas rapporté de différence imputable au sexe de leurs patients.

b. Le type de cellules utilisées:

Des types variés de cellules souches ont été utilisées pour le traitement de l'ostéonécrose, principalement les CSM dérivées de la MO, mais également les CSA, les CSM dérivés du cordon ombilical humain et les CSM dérivés du sang périphérique.

Les CSM dérivées de la MO restent les plus utilisées et les plus étudiées. Elles sont également utilisées comme simple aspirat médullaire ou sous forme de concentré de moelle osseuse(121).

Les CSA sont un autre choix pour la thérapie cellulaire de l'ostéonécrose. Elles se distinguent également par leur haute capacité proliférative(135). Les études prospectives étudiant leur valeur thérapeutique dans le traitement de l'ON sont limitées, et ne permettent donc pas une comparaison avec les CSM dérivés de la MO.

Les patients souffrant d'ostéonécrose induite par l'alcool ou les corticoïdes ont des CSM dont la prolifération et l'ostéogénèse sont réduites(136). Ces patients devraient donc bénéficier d'une greffe allogénique de CSM. Les CSM du cordon ombilical semblent être un candidat prometteur dans cette indication grâce à leur faible immunogénicité, permettant une transplantation même à partir de donneurs non HLA compatibles(137). La facilité d'obtention des CSM dérivés du cordon, l'absence d'obstacles éthiques à la méthode, et la fréquence élevée d'isolement des CSM font de ces cellules une alternative intéressante pour le traitement de l'ON.

Cai et coll. (138) ont évalué la co-transplantation des cellules mononucléées de la MO avec les CSM allogéniques dérivées du cordon pour le traitement de l'ON. Des effets thérapeutiques positifs ont été rapportés sans effets secondaires majeurs à 12 mois de la transplantation. Chen et coll. (139) ont analysé les effets de la transplantation des CSM dérivées du cordon seules, et ont obtenus des résultats encourageants sans effets secondaire notables. Toutefois ces deux études ne rassemblent que 39 cas, fournissant ainsi un faible niveau de preuve.

D'autres études ont également combiné l'injection locale de CSM avec le plasma riche en plaquette (PRP) (140), les traitements pharmacologiques comme l'iloprost(141) et les biphosphonates(142) par voie orale, ou encore la thérapie physique comme les ultrasons pulsés

de basse intensité (LIPUS)(143). La plupart de ces études ont rapporté des résultats satisfaisants, mais présentent des niveaux bas de preuves et aucune étude comparative n'est rapportée(144). L'efficacité de ces combinaisons reste donc à prouver.

c. Le nombre des cellules injectées :

La prévalence des CSM dans la moelle osseuse en regard de la crête iliaque est d'environ une cellule pour 30 000 cellules nucléées. Les cellules mésenchymateuses ont donc une concentration de 600 cellules par mL(64). L'expansion in vitro permet une augmentation de cette concentration.

Il est suggéré que les effets thérapeutiques des CSM sont majorés par des nombres plus élevés dans l'ostéonécrose. Cependant, le nombre optimal de cellules est encore inconnu.

Le volume moyen d'os à réparer a été estimé à 15 cm³ dans une série de patients atteints d'ostéonécrose comme l'indiquent les observations histologiques et par IRM. Ces observations estiment également qu'il existe approximativement 20 millions d'ostéoblastes ou d'ostéocytes par cm³ d'os nouvellement formé(70). De ce fait, si l'on multiplie ce nombre par le volume d'os à réparer on obtient le nombre de ~~13~~ ⁸ (20 million cellules/cm³ × 15 cm³) d'ostéocytes ou d'ostéoblastes nécessaires pour la réparation osseuse. Ce calcul mathématique ne tient pas compte de la capacité proliférative et de différenciation des CSM, et ne représente donc pas une valeur qui reflète les besoins réels ou la dose optimale à administrer(144). L'intérêt et la sécurité de l'administration de doses supérieures restent à préciser.

En se basant sur les études publiées dans ce sens, le nombre de cellules utilisées dans la plupart des séries se situe entre 10⁶ et 10⁹, avec une majorité de ces études utilisant un nombre de 10⁸ de cellules(119). Il semble donc raisonnable d'utiliser un nombre de cellules compris dans cet intervalle. Le nombre optimal de cellules reste à déterminer.

d. Les méthodes d'administration :

Différentes techniques d'administration ont été rapportées dans des études récentes, souvent combinées avec le forage de la tête fémorale. D'autres techniques incluent

l'administration des CSM en complément d'autres interventions comme la greffe allogénique d'os par impaction(145), la greffe autologue d'os iliaque spongieux(146), l'implantation de broches poreuses en tantale(147), la combinaison des broches de tantale avec une greffe d'os iliaque vascularisé(148) ainsi que l'utilisation d'échafauds d'hydroxyapatite de calcium poreux interconnecté(149) et de nano-hydroxyapatite poreuse(150).

En plus de l'application topique des CSM dans la zone nécrotique de la tête fémorale, quelques études ont administré les CSM par injection artérielle. Cai et coll. (138) ont injecté les CSM au niveau des artères circonflexe médiale, circonflexe latérale ou obturatrice par angiographie numérisée, et ont rapporté une amélioration clinique et radiologique des hanches traitées. Mao et coll. (151) ont rapporté que l'injection intra artérielle de CSM dérivées du sang périphérique pourrait augmenter l'efficacité du support biomécanique durant le traitement de l'ON. Ces deux études démontrent que la perfusion intra artérielle des CSM pourraient être une approche mini invasive de thérapie cellulaire de l'ON. Cependant, il est difficile de comparer l'efficacité de cette voie d'administration par rapport à la voie chirurgicale à cause du manque de données.

Retenons au total que, quelque soit la méthode d'administration ou la combinaison thérapeutique utilisée, il existe des résultats positifs justifiant son utilisation à des niveaux de preuve différents.

2.3. La sécurité de la thérapie par CSM dans l'ostéonécrose :

Les études citées plus haut, utilisant les CSM dans le traitement de l'ON ne rapportent pas de complications ou d'effets secondaires sévères. Quelques études seulement rapportent des effets indésirables mineurs se limitant à de la fièvre, des 'bouffées' de chaleur ou des céphalées de moyenne intensité(120,129). L'utilisation des CSM semble alors relativement sûre dans cette indication. Des études supplémentaires et de longues périodes de suivie restent tout de même nécessaires pour appuyer la sécurité et l'innocuité de la technique.

Pour les techniques nécessitant une expansion cellulaire in vitro, l'ensemble du procédé doit être surveillé pour s'assurer du maintien du phénotype et de la fonction des cellules

cultivées, tout en veillant à l'absence de transformation de ces cellules et à l'absence de contamination microbienne(33). De ce fait, une standardisation de ces procédés respectant la caractérisation qualitative et quantitative des thérapies cellulaires doit être développée.

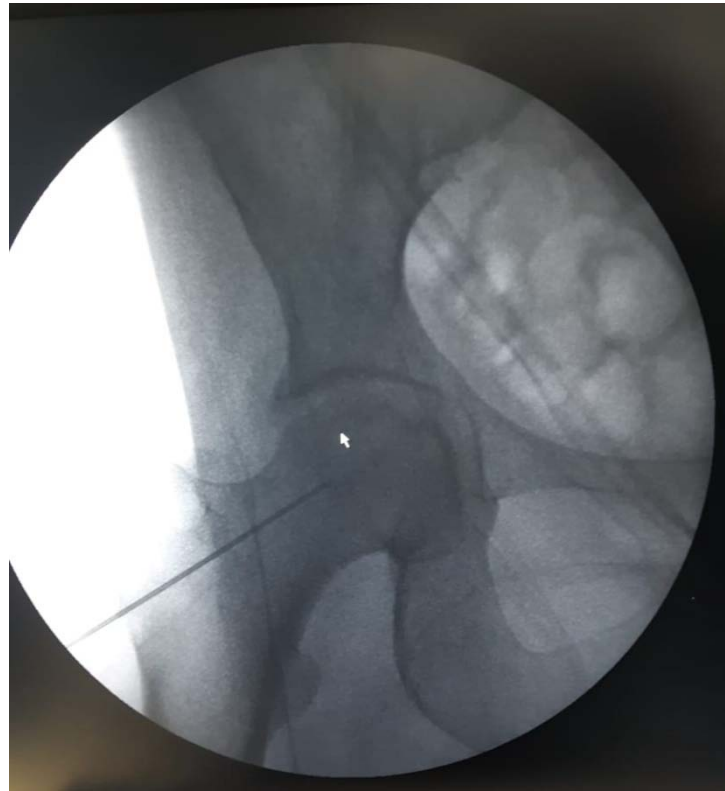


Figure 10: Injection de CSM sous amplificateur de brillance après forage de la tête fémorale pour le traitement d'une ostéonécrose.

3. Perspectives et avenir

3.1. Les sous population de CSM:

Outre la définition largement acceptée des CSM proposée par l'ISCT (voir le chapitre définition), il existe des preuves que les sous populations de CSM peuvent avoir des caractéristiques distinctes et des potentiels régénératifs différents. Ainsi, certaines peuvent promouvoir la différenciation vers des ostéoblastes ou des chondrocytes(152). Jusqu'à cette date, les études précliniques et cliniques étudiant le traitement de l'ON n'utilisent que des CSM

non triées, constituées probablement d'un pool varié de sous populations. Ce facteur pourrait être à l'origine des résultats inconstants de ces études. De ce fait, la sélection précise de sous populations pourrait améliorer l'effet thérapeutique des CSM dans le traitement de l'ON, et constitue donc une piste de recherche prometteuse pour l'avenir.

Levi et coll. (153) ont démontré que les CSA n'exprimant pas le CD105 séparées par cytométrie en flux ont une différenciation augmentée vers la lignée ostéogénique et une plus grande capacité de régénération osseuse par rapport aux cellules non séparées ou par rapport aux cellules exprimant fortement le CD105. Cet effet est probablement lié à une signalisation réduite du TGF- β 1 / Smad 2.

Leyva-Leyva et coll. (154) ont observé que les cellules CD105⁻ ont une expression plus forte d'ostéonectine, qui est associée à un dépôt plus important d'ions calciques par rapport aux cellules CD 105⁺. De plus, les études in vivo ont démontré que les greffons contenant les CSM CD105⁻ promeuvent une intégration adéquate du greffon, une meilleure infiltration vasculaire de l'hôte, et facilitent la réparation par l'ossification intra membraneuse(155), contrairement aux greffons contenant les cellules CD105⁺ qui ont développé un tissu fibro-cartilagineux abondant et une ossification endochondrale déficiente.

Le CD90 est un autre marqueur de sélection de sous populations. Yamamoto (156) a trouvé que les CSM CD90⁺ ont une capacité accrue de formation osseuse in vitro et in vivo. Ce marqueur pourrait être plus efficace que le CD105 pour l'isolement de cellules à haut potentiel ostéogénique. Rada et coll. (157) ont rapporté que les cellules isolées par les anticorps anti CD90, anti CD49 et anti p75 démontrent un potentiel de différenciation ostéogénique très élevé avec en contrepartie un potentiel chondrogénique très faible.

Itoh et coll. (158) ont rapporté que la différenciation vers les lignées ostéogénique et adipocytaire était supérieure dans les sous populations de CSM riches en aldéhyde déshydrogénase (ALDH) par rapport aux sous populations avec des taux moindres de ALDH.

Toutes ces études révèlent que le potentiel de différenciation ostéogénique est lié à différentes sous populations de CSM

3.2. Les CSM génétiquement modifiées :

Quelques études se sont penchées sur l'utilisation du génie génétique dans la modification des CSM, en intégrant des gènes d'expression du BMP2, du facteur basique de croissance des fibroblastes (bFGF), du facteur de croissance des hépatocytes (HGF), du VEGF, du peptide lié au gène de la calcitonine (CGRP) ou une combinaison de ces gènes.

Tang et coll. (159) ont utilisé des CSM dérivées de la MO modifiées par la BMP-2 pour la réparation expérimentale d'un modèle caprin d'ON et ont réussi à obtenir des résultats positifs. Pend et coll. (160) ont démontré que les CSM modifiées par la BMP-2 et le bFGF peuvent efficacement traiter l'ON dans un modèle canin par la promotion de la formation osseuse et de l'angiogénèse. Le VEGF seul ou en combinaison avec la BMP-2 ont démontré de bons résultats chez des modèles de chiens et de lapins(161).

L'HGF (Hepatocyte growth facteur) est une cytokine qui a été évaluée par Wen et coll. (162), qui ont démontré que l'administration via forage de la tête fémorale de CSM dérivées de la MO modifiée par voie transgéniques pour exprimer cette cytokine améliore la régénération vasculaire et la reconstruction osseuse dans un modèle d'ON chez le lapin. Cet effet positif a été également confirmé par Pan et coll. (163).

Les CSM génétiquement modifiées tracent des horizons prometteurs pour l'amélioration de l'efficacité du traitement de l'ON dans l'avenir. Toutefois les études explorant cette méthode sont dérivées d'expériences animales. L'efficacité et la sécurité de cette approche chez les patients atteints d'ON nécessitent plus d'évaluation.

3.3. Les exosomes dérivées des CSM pour une thérapie acellulaire de l'ostéonécrose :

Comme cité précédemment, il a été admis pendant longtemps que les CSM exerçaient leurs effets thérapeutiques par la migration vers le site lésé, et se différenciaient vers les cellules désirées pour la réparation tissulaire. Cette théorie a été revue après une accumulation de preuves indiquant que le bénéfice thérapeutique des CSM n'était que partiellement attribué à leur migration et à leur différenciation, et qu'il était plutôt secondaire à la sécrétion de facteurs qui orchestrent une réponse des cellules des tissus lésés à travers plusieurs mécanismes de

médiation cellulaire (voir le chapitre principe thérapeutique). L'une de ces voies de communication est la libération de vésicules extracellulaires (VE).

Les VE sont composées d'une double couche lipidique qui contient des protéines transmembranaires et renferme des protéines du cytosol et de l'ARN. Les cellules peuvent sécréter différents types de VE comme les exosomes et les microvésicules qui sont classées selon leur origine subcellulaire. Les exosomes sont des vésicules inférieures à 150 nm de diamètre et enrichies de composés dérivées de l'endosome.

Guo et coll. (164) ont démontré que les exosomes dérivées des CSM synoviales humaines peuvent prévenir l'ON cortico-induite chez le rat par l'augmentation des effets prolifératifs et anti apoptotiques des cellules de l'hôte. Liu et coll. (165) ont rapporté que les exosomes secrétées par les CSM induites peuvent également prévenir l'ON par la promotion de l'angiogénèse.

Cette approche thérapeutique dépourvue de cellules joue un rôle de plus en plus important dans la médecine régénérative. Toutefois, contrairement aux traitements pharmacologiques qui délivrent des molécules spécifiques à des doses connues, les CSM sont régulées par l'environnement dans lequel elles siègent et secrètent des facteurs bioactifs et des signaux à des concentrations variables en réponse à des stimuli de leur microenvironnement(166). La réplique des effets des CSM en les remplaçant par leurs vésicules reste donc fortement discutable.

De plus, le risque de l'utilisation des exosomes doit être pris en considération. Plusieurs études indiquent que les exosomes sont un moyen de communication des cellules cancéreuses par libération de microARN (miRNA) dans ce qui est appelée exosomes libérés par des tumeurs (Tumor released exosomes) (167). Il a été également rapporté que les exosomes peuvent véhiculer des protéines toxiques associées à des maladies neuro-dégénératives (prions) comme la maladie de Creutzfeld Jacob. La sécurité de l'utilisation des vésicules dérivées des CSM doit être évaluée, en particulier si une transplantation allogénique est considérée (168).

L'utilisation clinique des exosomes se heurte également à l'absence de méthodes standardisées de production, de caractérisation, d'isolement et d'optimisation de la quantité en plus de l'absence de doses précises à seuil d'efficacité.

Au total

Il semble que la thérapie par CSM dans l'ostéonécrose aseptique de la tête fémorale, notamment celles dérivées de la MO, a démontré des résultats cliniques prometteurs ainsi qu'une sécurité dans leur utilisation (119,122,123). Le niveau de preuve n'est cependant pas suffisant pour leur intégration dans la pratique chirurgicale de routine. Davantage d'études randomisées sont nécessaires à cette fin. Les CSM génétiquement modifiées, les exosomes dérivés des CSM, ainsi que les sous groupes des CSM constituent des pistes de recherche pouvant révolutionner la prise en charge de l'ON.



Figure 11 : Administration de CSM après forage de la tête fémorale pour le traitement d'une ostéonécrose au CHU Mohamed VI de Marrakech (2019).

III. La pseudarthrose :

1. Rappel :

Entre un à cinq pour cent de toutes les fractures évoluent vers une pseudarthrose(169). Celle-ci peut être définie comme une fracture n'ayant pas consolidé au bout de 6 mois. Plusieurs facteurs de risques peuvent être derrière cette absence de consolidation, attribuables au type de la fracture ou au patient.

La pseudarthrose peut être hypertrophique ou atrophique. Chacune de ces catégories diffère en matière de prise en charge. Le but du traitement est d'obtenir l'indolence, la récupération fonctionnelle et la consolidation osseuse. Le traitement chirurgical permet d'avoir une consolidation dans 85% des cas. Il présente toutefois des risques non négligeables d'iatrogénie ou de non aboutissement à la consolidation qui ont motivé le développement de méthodes complémentaires ou alternatives(170)

La consolidation osseuse est un processus dynamique conditionné par cinq facteurs selon le Diamond Concept, à savoir : la stabilité mécanique, la présence de cellules vivantes à potentiel ostéogénique, l'ostéo-induction (la présence de facteurs de croissance stimulant l'ostéogénèse), l'ostéo-conduction (la présence d'une échafaud poreux permettant du supporter le tissu osseux), et enfin la vascularisation de l'os et des tissus mous avoisinants(171).

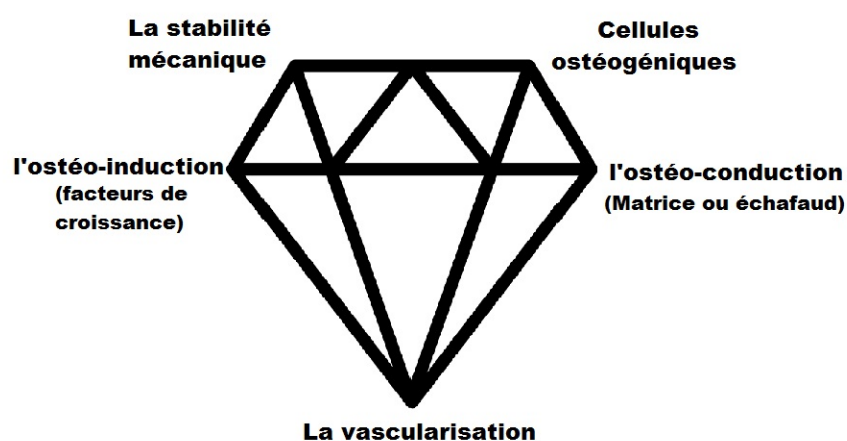


Figure 12 : Schéma du Diamond Concept de la pseudarthrose

Le traitement chirurgical à foyer ouvert avec décortication et greffe autologue conduit à un taux de consolidation de 85%, mais présente l'inconvénient d'une morbidité importante(172). Des alternatives non chirurgicales ont été explorées. Parmi celles-ci, citons les ondes de choc extra-corporelles (EWST : extracorporeal shock wave therapy) et le champ électromagnétique pulsé (PEMF: pulsed electromagnetic field). Malgré les résultats variables des études ayant évalué l'efficacité de ces méthodes, certains auteurs tendent à les favoriser en raison du risque minime qu'elles comportent et de leur faible coût(173).

La transplantation des cellules souches mésenchymateuses autologues constitue une nouvelle approche dans le traitement de la pseudarthrose. L'investigation de cette voie se justifie par une morbidité plus faible du site donneur, ainsi que par le potentiel ostéogénique et ostéo-inducteur des CSM dans la consolidation osseuse.

2. La thérapie par CSM dans la pseudarthrose des os longs :

2.1. Les CSM dérivées de la MO en injection in situ :

Les études cliniques explorant l'efficacité des CSM dans la pseudarthrose des os longs restent limitées. Les études sur modèles animaux ont attesté de la faisabilité, de la sécurité et de l'efficacité de cette approche. La translation de ces résultats a donc motivé quelques études cliniques avec des nombres restreints de patients durant les dernières années.

Dans une série de cas rapporté par Labibzadeh et coll. (174), 7 patients atteints de pseudarthrose des os longs ont reçu des CSM autologues dérivées de la MO, soit 20 millions de cellules prélevées de la crête iliaque et mises en culture, pour être ensuite implantées au niveau du site de la pseudarthrose en combinaison avec un produit de lysat plaquettaire. Ces patients ont ensuite été suivis à 1, 3, 6 et 12 mois par radiographies standard. Parmi les 7 patients inclus dans la série, 4 ont gagné la consolidation entre 2 et 12 mois après le geste. Aucun effet secondaire n'a été rapporté pour l'ensemble des 7 patients. Il est à noter que certains de ces patients avaient déjà subi une greffe d'os autologue sans succès.

Si cette étude apporte une preuve d'efficacité et de sécurité, le niveau de preuve reste faible. D'un côté, l'échantillon est trop réduit pour tirer toute conclusion, d'un autre, l'absence d'un groupe comparatif bénéficiant de lysat plaquettaire seul ne permet pas de distinguer le bénéfice des CSM, quoique les auteurs avancent que l'utilisation du lysat plaquettaire aurait également un intérêt synergique à travers l'activation de l'ostéogénèse à partir des CSM.

La même équipe a publié en 2017 une étude rétrospective (175) explorant la sécurité et l'efficacité des CSM par voie percutanée dans le traitement des pseudarthroses des os longs du membre inférieur. Cette étude a concerné 5 patients âgés entre 23 et 55 ans, dont 3 hommes et 2 femmes souffrant de pseudarthrose évoluant entre 7 mois et 6 ans. Parmi ces patients, 4 ont reçu des traitements antérieurs par ECM et/ou plaque vissée, un seul patient a reçu une autogreffe d'os iliaque. La technique a consisté en un prélèvement de sang médullaire des crêtes iliaques antérieures gauche et droite, avec un isolement des CSM et mise en culture de ces dernières. Les CSM obtenues étaient de l'ordre de 25 à 50 millions ($2,5$ à 5×10^7) de cellules et ont été injectées sous amplificateur de brillance au niveau du site de la pseudarthrose par voie percutanée. Les patients ont été suivis à 1, 3, 6 puis 12 mois par radiographies standard. Aucun effet indésirable n'a été rapporté. Parmi les 5 participants, 3 ont consolidé leurs fractures. Les auteurs de cette étude concluent donc que la greffe de CSM est une méthode sans risques pour le traitement de la pseudarthrose des os long et pourrait être efficace chez certains patients.

Mentionnons également le cas d'un homme de 47 ans avec une fracture ulnaire isolée traitée initialement par plaque vissée évoluant vers une pseudarthrose (176). Ce patient a bénéficié d'une greffe de CSM cultivées dérivées de la MO, administrées au niveau du site de la pseudarthrose à travers une petite incision de 3 cm sans changement du système d'ostéosynthèse. La consolidation a été obtenue au bout d'un an. Ce cas représente selon les auteurs une preuve de l'efficacité de la greffe seule de CSM dérivées de la MO après culture et justifie des études de plus grande envergure.

2.2. Les CSM sur échafaud pour le traitement de la pseudarthrose des os longs

Une étude pilote publiée 2013 (177) a étudié l'apport des CSM dérivées de la MO en combinaison avec un échafaud sur 8 sujets avec une moyenne d'âge de 44 ans atteints de pseudarthrose, suivis pendant 53 mois. La méthode utilisée consiste à prélever du sang médullaire avec isolement des CSM et mise en culture pendant 3 semaines, et ensuite à administrer les cellules obtenues en suspension dans un gel de plasma autologue et de chlorure de calcium (CaCl_2), servant d'échafaud. L'administration s'est faite par voie chirurgicale à ciel ouvert. Après revitalisation du site de la pseudarthrose par micro fractures et forage, le gel chargé de CSM a été utilisé pour combler les foyers de forage et de micro fractures, en plus d'os autologue ou homologue. Les auteurs rapportent une consolidation chez les 8 candidats sur les images radiologiques sans effets indésirables. Cette étude est un argument de la sécurité de la méthode, mais présente de faibles preuves d'efficacité en raison de la petite taille de l'échantillon et de la conception de l'étude d'un côté, et de l'utilisation concomitante de revitalisation des extrémités et greffe osseuse d'un autre.

Ismail et coll. (178), dans une étude quasi expérimentale comparative ont étudié le potentiel thérapeutique des CSM dérivées de la MO en combinaison avec des granules d'hydroxyapatite versus la greffe osseuse pour la pseudarthrose des os longs. Cette étude a concerné 10 patients, répartis en 2 groupes de façon sélective, 5 sujets dans le groupe CSM et 5 dans le de greffe d'os. Les sujets du groupe des CSM ont reçu une combinaison d'hydroxyapatite en granules servant d'échafaud et de $1,5 \times 10^7$ de CSM autologues cultivées pendant 4 semaines après prélèvement de MO par l'épine iliaque postérieure, administrées par voie chirurgicale avec fixation interne. Les patients de l'autre groupe ont reçu une greffe d'os autologue de la crête iliaque en combinaison avec des granules d'HA et fixation interne. L'ensemble des patients ont été suivis pendant 12 mois en post opératoire, les paramètres évalués étaient la douleur par l'EVA, le niveau de fonctionnalité par le LEFS et le DASH, et les radiographies standard.

La douleur post opératoire était similaire entre les 2 groupes. Le groupe de greffe d'os a démontré des améliorations radiographiques et fonctionnelles plus rapides, avec des différences

significatives entre le 1^{er} et le 3^{ème} mois de suivi. Les deux groupes ont achevé des résultats similaires à la fin de 12 mois de suivi. Aucun effet secondaire majeur n'a été rapporté dans les deux groupes. Les auteurs suggèrent que la combinaison de CSM dérivées de la MO et de granules d'hydroxyapatite est une méthode sans risque, et pourrait avoir une efficacité comparable celle de la greffe d'os autologue. Notons cependant que les résultats de cette étude pourraient être biaisés par le manque de randomisation des participants, la courte période de suivi, ainsi que par la taille de l'échantillon.

Une étude (179) portant sur 3 patients atteints de pseudarthrose a étudié le potentiel thérapeutique des CSM autologues dérivées de la MO chargés sur des microsphères de collagène (MC) et incluses dans des caillots de plasma riche en plaquette (PRP). Les CSM ont été isolées à partir de sang médullaire de la crête iliaque, puis mises en culture pendant 4 semaines, avant d'être montées sur les microsphères de collagène, puis mélangées avec le PRP autologue, formant des caillots par l'ajout de chlorure de calcium au mélange. Ces caillots (CSM+collagène+PRP) ont ensuite été administrés au niveau du site de la pseudarthrose par voie chirurgicale après excision du tissu fibrotique.

Les auteurs de cette étude rapportent également une viabilité in vitro des CSM sur les caillots obtenus à 1 mois. Les patients traités ont été suivis à 3 mois puis à 1 an cliniquement et radiologiquement. Les 3 patients ont montré des signes d'ostéogénèse au niveau du site de la pseudarthrose et ont tous consolidé au bout d'un an. Aucun effet indésirable majeur n'a été rapporté. Les auteurs s'appuient sur ces résultats pour suggérer l'intérêt de l'utilisation des CSM pour le traitement des pseudarthroses sous la forme de caillots de CSM, collagène et PRP. Cette étude a comme inconvénient le nombre limité de participants ainsi que l'interférence avec les effets ostéogéniques du PRP, une évaluation du potentiel thérapeutique des CSM seules est donc impossible.

Un essai clinique multicentrique européen, non comparatif et non contrôlé(180), a étudié l'utilisation des CSM dérivées de la MO sur un échafaud de granules de phosphate de calcium bi-phasique en céramique. Cette étude a inclus un total de 28 patients, âgées entre 18 et 65 ans

recevant entre 100 à 200 millions de CSM sur des échafauds implantés par voie chirurgicale au niveau des foyers de pseudarthroses diaphysaires ou métaphyso- diaphysaires, tibiales, fémorales et humérales. 26 patients ont obtenu une consolidation radiographique au bout de 12 mois de suivi, soit un taux de 92%. Également, aucun effet secondaire majeur n'a été rapporté chez les patients traités. Les auteurs en déduisent que les CSM sur échafaud en biocéramique constituent un moyen sûr et qui fait preuve d'efficacité dans le traitement des pseudarthroses des os longs. Il est toutefois important de rappeler que cette étude ne comporte pas de groupe contrôle. Ainsi, on ne saurait attribuer les résultats rapportés au CSM ou à l'échafaud utilisé. De plus, l'absence d'un groupe comparatif, la taille limitée de l'échantillon ne permettent pas de tirer des conclusions claires sur l'efficacité de cette technique.

2.3. Méta-analyses et revues systématiques étudiant les CSM dans la pseudarthrose

Une étude combinant une méta analyse et une revue systématique de la littérature(181), publiée en décembre 2019, fait état de l'utilisation des thérapies cellulaires dérivées de la moelle osseuses pour le traitement des pseudarthroses des os longs. Cette méta analyse reprend les études citées ci-dessus mais implique également des études utilisant le produit d'aspiration médullaire que nous n'allons pas détailler.

Cette méta analyse (181) rapporte donc que les études portant sur les CSM dérivées de la MO montrent des taux de guérisons à 6 mois de 59% lorsqu'elles sont utilisées sans échafaud, et de 4% avec échafaud, mais à 12 mois ces taux sont respectivement de 87% et de 100%. Notons que la taille totale de l'échantillon est de 9 patients issus de 3 études pour le groupe CSM sur échafauds, et de 22 patients issus de 5 études pour le groupe des CSM.

La méta analyse (181) note également que l'injection d'aspirat médullaire est légèrement supérieure à l'utilisation des CSM après isolement et mise en culture, ce qui semble à notre sens surprenant puisque les CSM sont beaucoup moins nombreuses dans le produit d'aspiration médullaire, cette supériorité pourrait être due à l'intervention d'autres composants de l'aspirat médullaire ou à la perte du potentiel régénératif des CSM après plusieurs passages en culture .

Les auteurs évoquent également la supériorité des résultats des études utilisant des échafauds. Ils soulignent toutefois la taille limitée de l'échantillon, ainsi que le manque d'uniformisation des études, en plus de nombreux biais et de variables confondantes qui rendent l'interprétation de leurs résultats très délicate. Les auteurs attribuent également les échecs rapportés dans certaines séries à l'inclusion des patients atteints de pseudarthroses hypertrophiques qui seraient de mauvais candidats à ces approches ortho-cellulaires.

Il faut être prudent quant aux conclusions d'efficacité qu'on peut tirer de ces études, notamment en raison de leurs méthodes de sélection des patients et de l'absence de branches de contrôle pour certaines. Néanmoins, les résultats cités plus haut restent donc encourageants et présentent une preuve de la sécurité de plusieurs méthodes, permettant ainsi davantage d'investigations. Des études avec de meilleures conceptions, une sélection plus rigoureuse et un nombre plus important de candidats sont nécessaires pour tirer des conclusions claires sur la place du traitement par CSM dans la pseudarthrose des os longs.

C'est d'ailleurs dans cette perspective qu'un essai clinique randomisé multicentrique (176) intitulé ORTHOUNION qui portera sur 100 patients a été lancé en 2016. Cette étude compare les CSM cultivées dérivées de la MO avec un échafaud en biocéramique versus l'autogreffe d'os dans la pseudarthrose des os long. Les résultats de ces études prévus pour décembre 2021, permettront de répondre à ces certaines questions relatives à l'efficacité et à l'optimisation des protocoles thérapeutiques.



Figure 13 : Prélèvement de sang médullaire pour extraction de CSM dérivées de la MO
(bloc opératoire du CHU Mohammed VI de Marrakech, 2019)

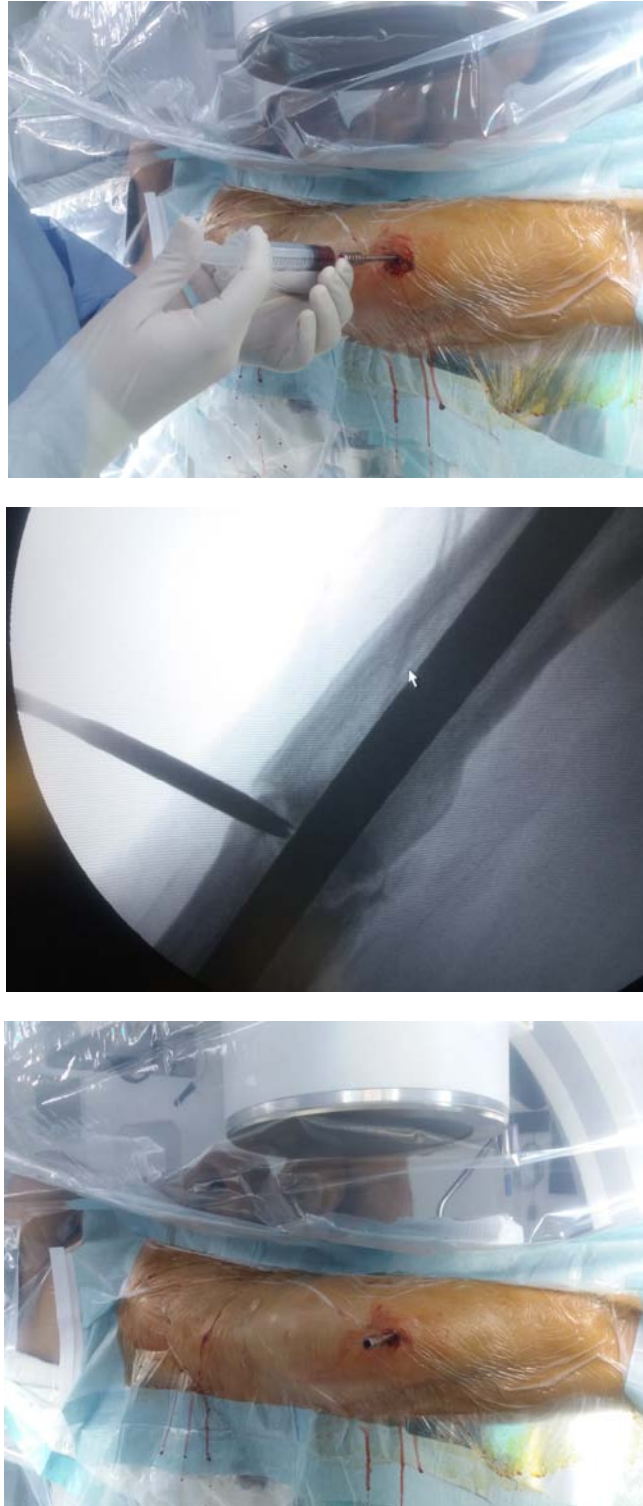


Figure 14: Injection de CSM autologues au niveau du foyer de pseudarthrose aseptique de la diaphyse fémorale (bloc opératoire du CHU Mohammed VI de Marrakech, 2019)

Tableau III : résumé des études humaines utilisant les CSM dérivées de la MO dans le traitement de la pseudarthrose des os longs (181) :

Etude	Nombre de Sujets	Age (années)	Site de la fracture	Type de la PSD	Durée de la PSD	Traitement	Nombre de CSM utilisées	Consolidation à 6 mois (guéris/ total)	Consolidation à 12 mois (guéris/ total)	Taux d'échec en fin de suivi (mois)
Bajada 2007(182)	1	34	tibia	Hyper-trophique	9 ans	CSM dérivées de la MO + granules sulphate de calcium	5 x 10 ⁶	1/1	1/1	0%
Gianotti 2013(177)	8	18 à 73	3 humérus 1 ulna/ 1 radius/ 1 os de l'av. bras	avitale	ND	CSM dérivées de la MO+gel de plasma autologue+ CaCl ₂	1-4 x10 ⁶	ND	8/8	0%
Dell'Osso 2016(176)	1	47	Ulna	avitale	6 mois	CSM dérivées de la MO	ND	0/1	1/1	0%
Labibzadeh 2016 (174)	7	26 à 61	4 fémurs/ 3 tibias	avitale	8 à 96 mois	CSM dérivées de la MO + PRP	20x10 ⁶	3/7	4/7	42.8% (12 mois)

Tableau III : résumé des études humaines utilisant les CSM dérivées de la MO dans le traitement de la pseudarthrose des os longs (181) : (suite)

Etude	Nombre de Sujets	Age (années)	Site de la fracture	Type de la PSD	Durée de la PSD	Traitement	Nombre de CSM utilisées	Consolidation à 6 mois (guéris/ total)	Consolidation à 12 mois (guéris/ total)	Taux d'échec en fin de suivi (mois)
Wittig 2016(179)	3	27-81	1 fémur/ 2 tibias	avitale	12 à 24 mois	CSM dérivées de la MO+PRP+ microsphères de collagène	50- 60× 106	ND	3/3	0%
Ismail 2016(178)	5	18-37	3 fémurs/ 1 tibia/ 1 humérus	avitale	37.2 mois (moyenne)	CSM dérivées de la MO+ granules d'hydroxy- apatite	12-18x106	0/5	5/5	0%
Emadedin 2017(175)	5	23 à 55	3 fémurs/ 2 tibias	avitale	7 à 72 mois	CSM dérivées de la MO + lysat plaquettaire	20- 50×106	2/5	3/5	40% (12 mois)
Gómez-Barrena 2019(180)	28	18 à 65	11 fémurs/ 4 humérus/ 13 tibias	avitale	4 à 163 mois	CSM dérivées de la MO + phosphate de calcium en granules	10 à 20 x 107	ND	26/28	(8%) 12 mois

CSM : cellules souches mésenchymateuses MO : moelle osseuse ; ND : non disponible ; PRP : Plasma riche en plaquettes ; PSD : pseudarthrose.

2.4. Les CSA dans la pseudarthrose des os longs

Actuellement aucune étude clinique n'a exploré l'apport des CSM dérivées du tissu adipeux dans le traitement de la pseudarthrose, les études recensées dans la littérature font état d'hypothèses biologiques sur leur efficacité et leur sécurité justifiant leur utilisation(183). D'autres études ont été réalisées sur des modèles animaux de pseudarthroses, notamment murins, avec des résultats positifs

Shoji et coll. (184) ont rapporté L'administration locale de CSA humaines à un modèle de pseudarthrose fémorale chez des rats. Une consolidation radiologique et histologique supérieure a été obtenue chez les rats recevant les CSA par rapport aux rats témoins recevant des fibroblastes humains ou un tampon phosphate salin. Ces résultats suggèrent l'efficacité des CSA pour la consolidation des pseudarthroses.

Une autre étude(185) publiée en 2019 a évalué l'administration des CSA autologues sur des microsphères de poly- γ -benzyl-L-glutamate à des rats avec une pseudarthrose induite du fémur. Les auteurs rapportent une différenciation vers la lignée ostéogénique in vitro et in vivo des CSA, avec une consolidation de la pseudarthrose chez les rats traités. Ils en concluent que les CSA sur des échafauds constituent une option thérapeutique pour le traitement des pseudarthroses des os longs.

2.5. Les CSM dérivées du CO :

Une seule étude –à notre connaissance– compare les CSM dérivées du CO avec les cellules mononucléées autologues prélevées de la MO dans le traitement de la pseudarthrose. Cette étude rétrospective(186) a porté sur 9 patients répartis en deux groupes, un groupe de 3 patients ayant reçu une transplantation de cellules mononucléées médullaire autologues, et un second groupe de 6 patients ayant reçu des CSM dérivées du CO humain. Les deux groupes ont reçu ces traitements en complément de greffe d'os autologue, avec un suivi radiologique à 3, 6, 12 et 36 mois. Le temps moyen de consolidation était de 10 mois et 18 jours dans le groupe des cellules mononucléées de la moelle et de 9 mois et 3 jours dans le groupe des CSM dérivées du CO. Ceci suggère que les CSM du CO seraient comparables dans cette indication aux CSM dérivées de la MO.

Les auteurs concluent donc que les patients traités par allogreffe de CSM du CO n'ont pas eu de complications ni de baisse de l'efficacité du traitement par rapport au patients traités par autogreffe de cellules médullaires, ils suggèrent donc que les CSM dérivées du CO représentent une alternative intéressante pour les patients qui présentent une contre indication ou dont la qualité des CSM autologues peut être compromise.

Au total :

Comme cité plus haut, le traitement de la pseudarthrose repose sur le « Diamond Concept » qui stipule que la consolidation osseuse nécessite :

- la stabilité mécanique (fournie par les techniques d'ostéosynthèse)
- la présence de cellules vivantes à potentiel ostéogénique (les CSM trouvent ici leur utilité)
- l'ostéo-induction (pouvant être augmentée par les CSM elles mêmes de par leur qualité de cellules sécrétant plusieurs facteurs ostéo-inducteurs)
- l'ostéo-conduction (les échafauds sont utilisés à cette fin)
- et enfin la vascularisation de l'os et des tissus mous avoisinants (l'angiogénèse est promue par les CSM et les facteurs de croissance qui peuvent être administrées de façon concomitante soit entant que facteurs spécifiques comme la BMP-2 ou via le PRP et les lysats plaquettaires).

La thérapie par cellules souches mésenchymateuses pour la pseudarthrose n'est donc qu'une branche d'une stratégie thérapeutique multi disciplinaire reposant sur la chirurgie, la thérapie cellulaire et l'ingénierie tissulaire. Les perspectives de cette approche reposent sur l'optimisation des échafauds et des protocoles d'isolement, de culture et d'administration des CSM, ainsi que la détermination des profils de patients et des types de pseudarthroses qui répondent le mieux à ce genre de thérapies. Les études revues ci-haut offrent des preuves concrètes de l'efficacité, la faisabilité et la sûreté de cette approche. Néanmoins, des études de plus grande envergure avec une méthodologie plus rigoureuse restent nécessaires.

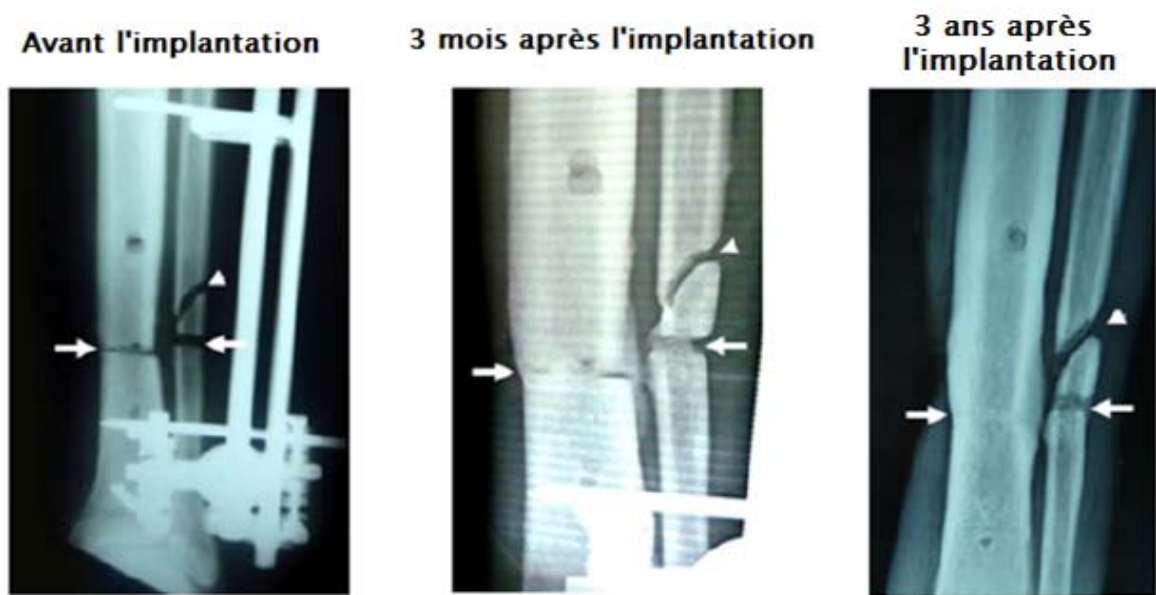


Figure15 : Evolution d'une pseudarthrose tibiale et fibulaire chez un patient traité par CSM+PRP sur un échafaud de collagène de la série de Wittig et coll.(179)

IV. La perte de substance osseuse :

La perte de substance osseuse, causée par les infections sévères, les traumatismes, la résection tumorale et les déformations squelettiques représentent un challenge considérable pour la chirurgie orthopédique. Une variété de stratégies thérapeutiques actuellement disponibles dont la transplantation d'os autologue ou allogénique et l'utilisation d'échafauds osseux avec des cellules osseuses ou des facteurs de croissance sont utilisées, or ceci n'est pas toujours possible (la non disponibilité de donneurs, l'état de l'os autologue et morbidité du site donneur...) . De ce fait, de nouveaux traitements doivent être développés afin de régénérer efficacement le tissu osseux perdu.

La capacité de différenciation ostéogéniques des CSM en fait de bons candidats pour la fermeture des pertes de substances osseuses.

1. Les études précliniques

Les efforts de recherche dans l'utilisation des CSM dans les pertes de substance osseuse ont débuté sur des modèles animaux depuis le début des années 2000. Citons une étude sur des rats porteurs d'un défaut fémoral osseux de 7 mm(187). Les auteurs de cette étude ont utilisée des CSM fœtales humainesensemencées sur un échafaud macroporeux de poly-3-caprolactone-phosphate de tri-calcium qu'ils ont transplanté au niveau du défaut osseux. Après 12 semaines de l'intervention, les rats traités par les CSM sur cet échafaud ont démontré une formation d'os nouveau deux fois plus importante en volume par rapport aux rats traités par échafaud acellulaire, en plus d'avoir un os plus compact et mieux tissé et 10 fois plus résistant, avec la présence d'une vasculogénèse (une prolifération vasculaire due à la différenciation de cellules précurseurs, communes aux lignées sanguines, en cellules endothéliales qui se répandent, s'associent et établissent un réseau vasculaire). Les auteurs suggèrent le rôle des CSM dans la consolidation des pertes de substance par le biais de la vasculogénèse par un mécanisme non

encore élucidé. Selon eux, cette étude constitue une preuve de la validité du concept de l'utilité des CSM dans la thérapie des pertes de substance osseuse.

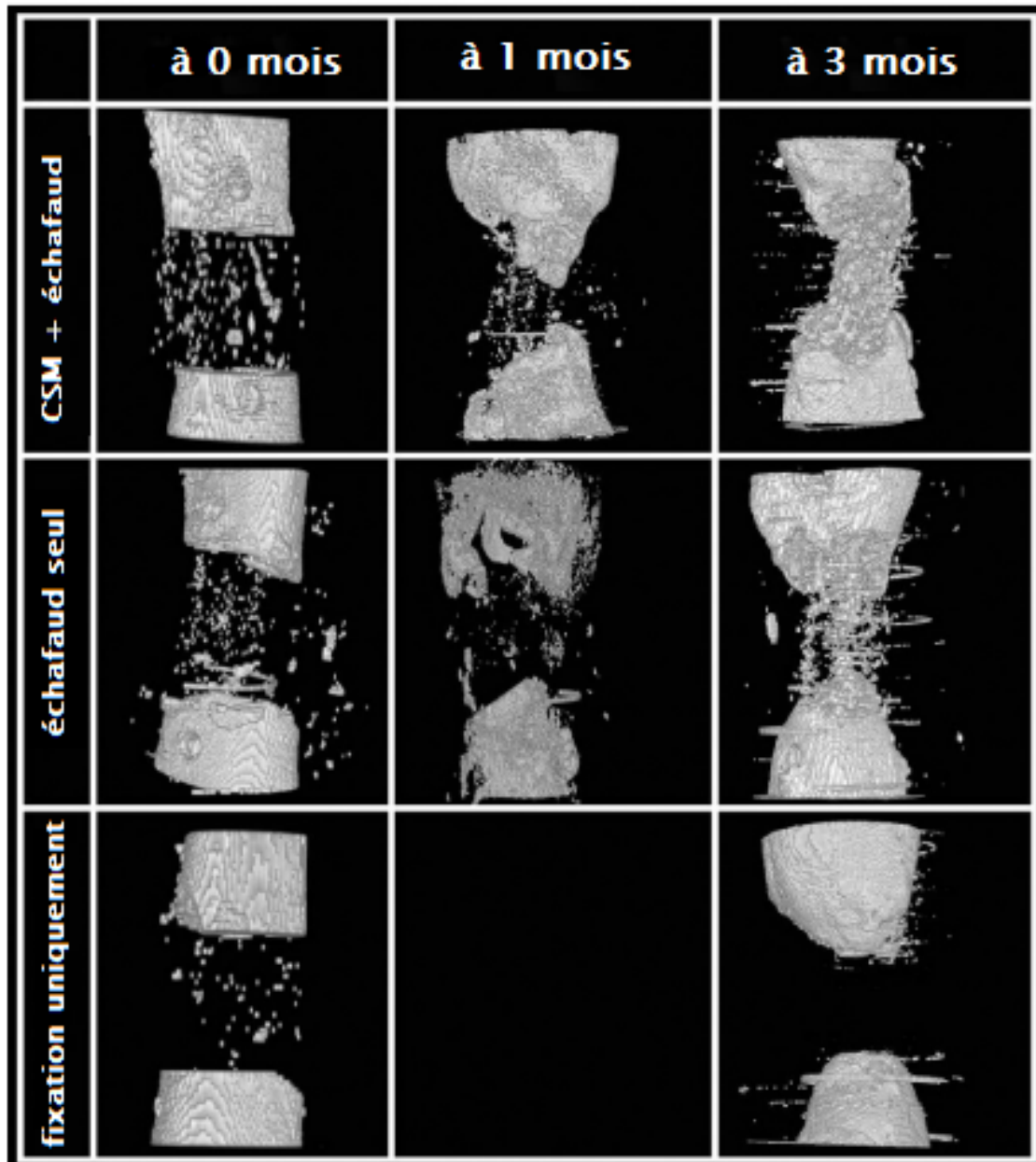


Figure 16 : Reconstruction 3D par micro-TDM : Evolution d'un défaut de la diaphyse fémorale dans un modèle de perte de substance osseuse chez des rats traités par des CSM humaines sur un échafaud de poly-3-caprolactone-phosphate de tri-calcium, en comparaison avec le même échafaud seul ou la fixation seule. (d'après l'étude de Zhang et coll. (187))

Aussi, l'utilisation des CSM humaines en complément de la BMP-7 sur des échafauds a été étudiée sur un modèle de perte de substance osseuse fémorale chez des rats(188). Les auteurs ont comparé les CSM en combinaison avec la BMP-7 contre les CSM seules et la BMP-7 seule. Ils ont trouvé que les rats traités par la combinaison CSM et BMP-7 avaient une meilleure régénération osseuse que les groupes de contrôle sur la radiographie standard et lors de l'analyse histologique 16 semaines après la transplantation. Ces résultats indiquent que l'association in vitro de CSM humaines avec la BMP-7 sur échafaud constitue un transplant ostéo-inducteur meilleur que les CSM seules ou la BMP-7 seule.

Dans le but d'étudier l'efficacité et la sécurité préclinique des CSM humaines avec des facteurs de croissance pour la régénération osseuse dans les pertes de substance osseuse, un essai randomisé contrôlé (189) a porté sur l'administration de CSM humaines sur des caillots de plasma à des rats immunodéprimés contre l'administration de caillots de plasma seulement au niveau de défaut segmentaires fémoraux. Les CSM ont été obtenues à partir des moelles osseuses de donneurs humains sains et de patients atteints de lymphome. L'analyse par micro-TDM, radiologie standard et histo-morphométrie à 8 puis 16 mois a montré une survie des CSM pendant toute la durée de l'essai, avec une régénération osseuse plus marquée chez le groupe ayant reçu les CSM issues de donneurs sains par rapport aux rats ayant reçu les CSM des patients atteints de lymphomes et les rats ayant reçu les caillots de plasma seulement. Les auteurs rapportent également l'absence d'effets indésirables et notamment l'absence de preuve de migration des CSM vers d'autres sites ou d'apparition de malignité chez les rats traités.

L'utilisation de modèles d'animaux plus grand a été rapportée dans la littérature. Ainsi, Ben-David et coll. (190) ont utilisé des CSA cultivées sur un échafaud tridimensionnel minéral (Bonofill-II™) grâce à un bioréacteur pour combler une perte osseuse tibiale de 3.2 cm chez des moutons. L'analyse radiographique, histologique et mécanique des tibias manipulés 8 à 12 semaines après l'intervention a montré une régénération osseuse menant à une fermeture totale du défaut osseux sans signes d'inflammation ou de rejet immunitaire. Les auteurs estiment que cette technique est efficace et sans danger pour la régénération osseuse et le pontage des pertes

de substance osseuses des os longs. Il est toutefois prudent de signaler que cette étude concerne un dispositif disponible dans le commerce et que la majorité des auteurs déclarent un conflit d'intérêt avec la société qui commercialise ce produit.

Les exosomes dérivées des iPSC (cellules souches pluripotentes induites) ont été également utilisé avec succès pour le traitement d'un défaut osseux crânien chez des rats ostéoporotiques (191). Cette étude est la preuve que les exosomes à partir des CSM peuvent être utilisées.

Il existe également une multitude d'études étudiant la transplantation des cellules souches mésenchymateuses en association avec les cellules endothéliales pour les pertes de substance osseuse crânio-faciales chez plusieurs modèles animaux. Une méta-analyse et revue systématique de la littérature(193) résume les résultats de 22 études dans ce sens utilisant les CSM ou les ostéoblastes en association avec les cellules endothéliales sur des échafauds. La comparaison et l'analyse des résultats radiologiques et histologique de ces études a permis aux auteurs de conclure que l'utilisation des CSM sur des échafauds de biomatériaux en associations avec les précurseurs de cellules endothéliales permet d'obtenir de meilleurs résultats par rapport à la transplantation de CSM seules. Ils rajoutent que la co-culture in vitro de ces deux types cellulaires avant la transplantation permet d'obtenir une activité synergique, sans pour autant que ceci ne se reflète constamment sur l'angiogénèse et la régénération osseuse. Ils appellent toutefois à prendre ses résultats avec précaution en raison de l'hétérogénéité des études et de la taille restreinte de l'échantillon standardisé.

Notre revue de la littérature nous a aussi permis de répertorier des études avec des résultats moins encourageants. Vahabi et coll. (194) rapportent l'absence de supériorité d'un échafaud d'hydroxyapatite chargés de CSM contre l'échafaud seul dans un modèle canin de perte de substance osseuse de l'os mandibulaire.

Une étude similaire de Saad et coll.(195) sur un modèle de perte de substance mandibulaire chez des lapins, comparant l'implantation d'échafauds de triphosphate de calcium avec ou sans CSM, a rapporté une amélioration de la fermeture du défaut osseux dans le groupe des lapins recevant les CSM sans que cette amélioration ne soit statistiquement significative.

Une étude publiée en 2019 a exploré l'utilisation du nPRP (plasma riche en plaquettes non activé) en combinaison avec les CSA pour la régénération osseuse dans un modèle de perte de substance osseuse crânienne chez des lapins(192). Le PRP non activé se démarque par sa capacité à libérer lentement les facteurs de croissance par rapport au PRP standard. Les auteurs de cette étude ont répartis les 30 lapins avec des défauts crâniens de 15 mm de diamètre en 4 groupes, chacun recevant sur une éponge de collagène servant d'échafaud soit le nPRP, les CSA, le nPRP et les CSA, ou l'éponge de collagène seule. Après 16 semaines de l'intervention, la surface et le volume d'os nouveau ont été analysées par TDM, la régénération osseuse a également été analysée par étude histologique. Les auteurs rapportent que la surface d'os nouveau était plus importante chez les groupes traités par nPRP par rapport aux groupes recevant les CSA et le groupe de contrôle. Ces résultats indiquent que les CSA ne sont pas activées par la libération lente de facteurs de croissance. Les auteurs favorisent donc l'utilisation des CSA en combinaison avec le PRP standard activé.

2. Les études humaines

Marcacci et coll.(196) publient en 2007 une étude pilote utilisant les CSM dérivées de la MO sur des échafauds poreux d'hydroxyapatite conçus sur mesure pour le pontage de défauts osseux d'os longs allant de 4 à 6 cm chez une série de 4 patients. Les échafauds ont été posés par voie chirurgicale au niveau des défauts osseux après fixation externe. Un suivi de 6 à 7 ans chez ces patients par radiographie standard et tomодensitométrie a rapporté une fusion des extrémités osseuses avec les échafauds à partir du 5^{ème} mois suivant l'intervention avec une fermeture durable du défaut. Aucun effet secondaire majeur n'a été rapporté. Les auteurs se sont basés sur ces résultats pour évoquer le potentiel encourageant des CSM et des échafauds biologiques dans la réparation des pertes osseuses.

Vulcano et coll.(197) ont présenté une série de cas évaluant l'utilisation des cellules mononucléées de la MO (contenant entre autres des CSM) autologues, pour le traitement des

déficits osseux réfractaires aux traitements traditionnels. 10 patients d'un âge moyen de 49,6 ans avec des défauts osseux sévères ont été inclus dans cette étude. Les défauts des membres inférieurs mesuraient plus de 5 cm³ et ceux des membres supérieurs 2cm³. Les cellules mononucléées de la MO ont été enrichies par concentration puis les CSM adhérentes ont été isolées, et ont démontré un phénotype semblable aux CSM. Ces cellules ont été chargées sur des échafauds osseux humains allogéniques avant leur administration chirurgicale. 9 patients sur les 10 traités ont obtenu une consolidation avec fermeture de la perte osseuse à travers une intégration du greffon osseux sans effets secondaires majeurs sur une période de 2 années. Les auteurs concluent que cette approche (greffe allogénique d'os + cellules mononucléées de la MO) est une méthode sûre et au potentiel prometteur pour le comblement des défauts osseux.

Une étude prospective de Šponer et coll. (198) a comparé l'utilisation des CSM autologues dérivées de la MO ($15 \pm 4,5 \times 10^6$) sur échafaud de β -tricalcium de phosphate à ce même échafaud seul pour le traitement de défauts osseux dans le cadre de prothèses totales de la hanche revisitées. 18 patients ont été divisés de façon égale en un groupe traitement et un autre de contrôle. Les deux groupes ont été évalués par le score HHS (Harris Hip Score), la radiographie standard et l'ostéodensitométrie à 6 semaines, 3, 6 puis 12 mois en post opératoire. Une différence significative dans la guérison du défaut osseux a été observée entre les deux groupes. Dans le groupe traitement, le remodelage trabéculaire a été retrouvé chez tous les patients, contre un seul patient dans le groupe de contrôle. Il n'y a pas eu de différence significative quant à la résorption de l'échafaud de β -tricalcium de phosphate entre les deux groupes. Aucun effet secondaire majeur imputable au traitement n'a été rapporté. Les auteurs concluent que les CSM chargés sur un échafaud de β -tricalcium de phosphate constituent un traitement sûr et efficace pour le traitement des défauts osseux dans un environnement osseux altéré.

Une étude de Chu et Coll. (199) publiée en 2019, relate l'expérience de l'utilisation des CSM montée sur des échafauds de β -tricalcium de phosphate grâce un système de circulation cellulaire pour les traitements de défauts osseux du plateau tibial. 39 patients ont été répartis entre un groupe traitement de 16 patients recevant les CSM sur échafauds et un groupe de

contrôle de 23 patients recevant l'échafaud seul. Les patients ont été évalués pendant le suivi par la TDM, la radiographie standard et le score de Lysholm pendant 30 mois. A 18 mois en post implantation, le ratio de nouvel os était significativement plus élevé chez le groupe des patients recevant les CSM. Ces derniers avaient également une meilleure récupération fonctionnelle. Les auteurs concluent que l'utilisation des CSM en complément d'un échafaud de β -tricalcium de phosphate sur un système de circulation cellulaire est une stratégie efficace et dénuée de risque pour le traitement des patients présentant des fractures enfoncées du plateau tibial, aussi bien pour la régénération osseuse que pour le rétablissement de la fonction articulaire.

Au total :

Les études sur modèles animaux que nous avons citées ci-haut indiquent que la technique est faisable et ne comporte pas de risques majeurs, quant à son efficacité dans la fermeture des défauts osseux, les résultats semblent majoritairement positifs. Les études cliniques humaines demeurent cependant rares, incluant peu de patients, et manquant souvent de groupe comparatif. L'intégration de cette thérapie cellulaire dans l'arsenal thérapeutique de cette pathologie risque encore de tarder quelques années.



**LA RÉPARATION DES TISSUS
SQUELETTIQUES NON OSSEUX**



I. Le cartilage articulaire :

1. L'arthrose :

L'arthrose est la pathologie la plus fréquente en rhumatologie. Elle est à l'origine d'une morbidité importante et une cause d'invalidité à travers le monde, particulièrement dans les pays dont la population est vieillissante(200).

Sur le plan macroscopique et histologique, l'arthrose est marquée par des altérations en foyer du cartilage articulaire, sous formes d'érosions et de fissures pouvant aboutir à la mise à nu de l'os sous-chondral. Ce dernier, ainsi que la membrane synoviale subissent également des modifications. Les critères diagnostiques de l'arthrose peuvent être cliniques et/ou radiologiques(201).

Le traitement de l'arthrose repose sur plusieurs axes. L'éducation du patient en est un. Il est donc conseillé au patients arthrosiques une perte pondérale en cas d'obésité ou de surpoids si l'arthrose concerne une articulation portante, avec une économie articulaire qui repose sur la mise en repos de l'articulation(202).

Le traitement médical inclut la physiothérapie la rééducation pour le renforcement musculaire, l'utilisation de cannes, d'orthèses ou de semelles médicale. Le traitement médicamenteux par voie générale comprend les antalgiques du 1^{er} et 2^{ème} palier de l'OMS, les anti-inflammatoires non stéroïdiens, ainsi que les anti-arthrosiques d'action lente qui auraient un effet structuro-modulateur et chondro-protecteur (qui restent à prouver). Les traitements par voie locale comprennent les infiltrations cortisoniques en intra-articulaire et la visco-supplémentation (par acide hyaluronique), ainsi que le lavage articulaire qui est réservé aux poussées congestives d'arthrose(203).

Le traitement chirurgical comprend la réaxation par ostéotomie et l'arthroplastie. Cette dernière est considérée comme le dernier recours à cause de la durée de vie limitée des prothèses articulaires et de la difficulté des reprises chirurgicales. Elle est réservée aux arthroses avancées à l'origine d'une douleur et d'un handicap importants.

De nouvelles approches thérapeutiques sont en cours d'essai, comme la greffe de cartilage, l'injection de plasma riche en plaquette ou du plasma riche en fibrine, ainsi que les thérapies cellulaires comme l'utilisation des CSM et les techniques d'ingénierie tissulaire(204).

2. L'apport des CSM dans la pathologie arthrosique

Durant les 20 dernières années, en plus des traitements conventionnels, des tentatives de régénération du cartilage articulaire (CA) endommagé ont été entreprises. L'implantation de chondrocytes autologues consiste à implanter des chondrocytes prélevés du cartilage du patient, puis cultivés sur les lésions chondrales en vue de régénérer le CA. Cette procédure nécessite le prélèvement de CA par voie arthroscopique à partir d'une zone intacte et non portante pour l'obtention des chondrocytes, ces derniers sont ensuite cultivés puis implantés par une chirurgie du genou à ciel ouvert. Cette technique présente les inconvénients d'une méthode à deux étapes, avec les risques de deux chirurgies invasives et la morbidité du site donneur. De plus, la mise en culture des chondrocytes aboutit à la formation de fibrocartilage au lieu de cartilage hyalin. Enfin, le cartilage arthrosique prélevé a une faible capacité de réparation(205).

Cette méthode, en plus de son coût élevé, a mené à des résultats cliniques conflictuels. Il est à noter que l'arthrose induit des lésions diffuses de la surface articulaire affectant ainsi l'homéostasie tissulaire, ce qui inhiberait la régénération utilisant le chondrocyte. Ces observations suggèrent que la greffe autologue de cartilage ne serait pas une approche thérapeutique optimale pour l'arthrose.

Les CSM se sont donc imposées comme une source alternative de cellules pour le traitement de l'arthrose. Leurs propriétés anti-inflammatoires et immuno-modulatrices sont censées réduire l'inflammation et la douleur articulaire et réparer le cartilage par la différenciation directe en chondrocytes et par l'induction de la différenciation chondrocytaire des cellules de l'hôte. Aussi, les facteurs de croissance paracrines et les protéines de la MEC sécrétées par les CSM auraient un rôle clé dans la formation d'un nouveau cartilage (206).

2.1. Les paramètres à considérer pour le traitement de l'arthrose par les CSM :

a. Les CSM autologues ou allogéniques ?

Les CSM ont été d'abord utilisées en autogreffe, mais leur pouvoir immunosuppresseur et leur faible immunogénicité ont permis leur utilisation en allogreffe(207). On sait également que les patients qui souffrent d'une arthrose avancée présentent une prolifération réduite des CSM in vivo et in vitro, avec une faible activité chondrogénique et adipogénique, et une forte activité ostéogénique(208). Les CSM autologues ne sont donc pas convenables à ce profil de patients. La possibilité d'utiliser des préparations commerciales de CSM allogéniques offre donc une alternative à ces patients. Ces CSM allogéniques présentent également l'avantage d'un coût moindre par rapport aux CSM autologues et moins de difficultés techniques.

b. Les différentes sources des CSM :

Les CSA ont un pouvoir de chondrogénèse in vitro plus faible que les CSM dérivées de la MO, surtout en termes de morphologie cellulaire et de production de la MEC (209). La différenciation en chondrocyte semble similaire en monocouche, mais les CSM dérivées de la MO présentent de meilleurs résultats en culture tridimensionnelle(210). Les CSA permettent cependant d'obtenir une quantité plus importante de cellules pour un même volume d'aspirat en comparaison avec les CSM dérivées de la MO(209).

Lopa et coll. (211) ont rapporté que les CSA provenant de la graisse infra patellaire d'un donneur atteint d'arthrose montre une différenciation chondrogénique et ostéogénique supérieure à celle des cellules isolées de la graisse sous-cutanée du même sujet.

Les CSM dérivées de la MO sont les plus étudiées dans la littérature et les plus utilisées cliniquement, les CSA et les CSM du sang du cordon ombilical ont également été utilisées en clinique pour le traitement de l'arthrose. Toutefois, il n'existe pas d'études comparant les différents types de CSM dans cette indication, aucune conclusion ne peut donc être tirée sur la

supériorité d'un type par rapport à l'autre, surtout en l'absence d'une standardisation des protocoles d'isolement, d'expansion et d'administration des CSM(212).

c. Le dosage des CSM :

Le dosage des CSM est un facteur pronostique important pour la réparation cartilagineuse. La dose optimale à administrer n'est pas bien étudiée. Elle pourrait également varier selon le profil du donneur, du récepteur et également en fonction des méthodes d'expansion cellulaire et du nombre de passages en culture. Cependant, la dose minimale en CSM dérivées de la MO ayant rapporté des résultats positifs est de 10^7 cellules(213).

d. Le nombre d'injections :

La plupart des études décrivent une seule injection, mais des injections multiples pourraient améliorer l'efficacité des traitements. Les injections multiples sont plus applicables en cas d'allogreffes, elles peuvent être également réalisées en autogreffe mais impliquent une augmentation de la morbidité du site donneur(214).

e. Le profil des patients:

Les patients présentant une arthrose légère à modérée gradée 2-3 à l'échelle de Kellgren-Lawrence (KL) sont considérés être les meilleurs candidats à la thérapie par CSM(215). Les améliorations notées chez les patients gradés 4 à l'échelle KL semblent diminuer après 6 mois de traitement. De la même façon, les patients qui ont des lésions étendues d'arthrose démontrent des résultats médiocres. L'âge des patients est également un facteur qui conditionne les résultats thérapeutiques, un âge supérieur à 60 ans est corrélé à une efficacité moindre (216).

f. L'implantation versus l'injection :

Initialement, la thérapie cellulaire, y compris par les CSM, était censée promouvoir la réparation du cartilage par la différenciation directe de ces cellules en chondrocytes et par la production de MEC. Cependant, les études récentes ont démontré que la réparation tissulaire est également le produit de la sécrétion de facteurs de croissance et d'autres protéines par les CSM

qui agissent sur les chondrocytes préexistants. Toutefois, la persistance des CSM au niveau de leur site d'administration potentialiserait leur différenciation et permettrait une interaction prolongée avec les cellules du tissu lésé (217).

Il a été prouvé que les iPSC ou les CSM qui sont implantées au sein des défauts chondraux sous forme de granules ou de gels persistaient au-delà de 3 mois (217). Par contre, lorsqu'elles sont injectées librement au niveau de liquide synovial leur survie en terme de temps était limitée. Les cellules mortes subiraient l'apoptose après leur activité paracrine sur les cellules de l'hôte. Une étude(218) comparant par arthroscopie les résultats de l'administration des CSM par injection à l'administration par implantation dans un échantillon de patients appariés a montré que les patients bénéficiant de l'implantation des CSM ont présenté une meilleure amélioration.

Ces observations montrent que la prévention de l'apoptose des CSM et leur persistance au niveau du site de la lésion cartilagineuse sont essentielles si une réparation par différenciation directe est recherchée(218).

2.2. Mécanismes d'action

Une multitude d'études in vitro et in vivo se sont penchées sur l'identification et l'explication des mécanismes d'action des CSM dans l'arthrose. Certaines de ces études ont souligné l'influence de l'activité paracrine des CSM sur l'inflammation et le turnover de la matrice dans l'arthrose, où le milieu pro-inflammatoire est suggéré être à l'origine de l'activation des effets anti-inflammatoires des CSM(217). En effet, l'amorçage des CSM avec le liquide synovial arthrosique promeut une augmentation de l'expression de indoleamine2,3-dioxygénase (IDO)(219), tandis que l'amorçage par $INF\gamma$ et le $TNF\alpha$ induit une hausse de l'activité de l'IDO et de l'expressions de l'IL-6(220). De plus, le milieu obtenu par l'amorçage des CSM par le liquide synovial arthrosique inhibe la prolifération des lymphocytes T(219). Le milieu obtenu par l'amorçage des CSM par l' $INF\gamma$ et le $TNF\alpha$ permet une inhibition de la sécrétion de l'IL-1 β et une hausse de la synthèse de la protéine SOCS1 (suppressor of cytokine signaling) dans un explant de la synoviale, ainsi qu'une inhibition de l'ADAMTS5 (A Disintegrin And Metalloproteinase with

Thrombospondin Motifs) et une hausse de la IL-1Ra et de la SOCS1 dans un explant de cartilage articulaire(220).

Il a été rapporté qu'en présence de hautes concentrations de médiateurs pro-inflammatoires, une co-culture de chondrocytes, de synoviocytes et de CSM obtenues à partir du tissu adipeux entraîne la baisse de l'expression et de la libération d'IL-1 β , d'IL-6 et de l'IL-8(221). Les cellules souches amniotiques en co-culture avec des explants de cartilage et de membrane synoviale ont également démontré une amélioration de la viabilité chondrocytaire et du contenu articulaire en glycosaminoglycanes (GAG), en plus de provoquer un changement des macrophages vers un phénotype anti-inflammatoire(222).

Ces observations récentes n'invalident pas la théorie classique basée sur la participation des CSM au processus de réparation par leur différenciation directe en chondrocytes. Toutefois cette ancienne théorie n'explique pas les effets de thérapie par les concentrés d'aspiration de moelle osseuse ou de la fraction stromale vasculaire qui ne contiennent que peu de CSM et qui ne peuvent se différencier en chondrocytes en nombres suffisants pour produire un nouveau cartilage. De ce fait, les deux mécanismes ne sont pas exclusifs l'un à l'autre, mais la nuance doit être faite pour une meilleure analyse critique de la littérature et pour mieux informer les patients des résultats auxquels ils devraient s'attendre(223).

2.3. Les essais cliniques

L'ensemble des études que nous passerons en revue concernent la gonarthrose.

a. Les CSM par injection intra articulaire :

a.1. Les CSM autologues dérivées de la MO

Al-Najar et coll. (224) ont décrit une série de 13 patients atteints de gonarthrose traités par deux injections intra-articulaires de CSM dérivées de la MO. Ils ont rapporté à 2 ans de l'injection une amélioration significative du score KOOS (Knee Injury and Osteoarthritis Outcome Score) de ces patients. Les auteurs ont également noté une amélioration statistiquement

significative de l'épaisseur moyenne du cartilage articulaire mesurée sur la séquence T2 d'IRM. Aucun effet indésirable n'a été rapporté.

Garaz-Mendoza et coll. (225) ont conduit un essai clinique randomisé en ouvert étudiant le traitement par CSM autologues stimulées dérivées de la MO. Le groupe traitement a reçu une injection sous cutanée de G-CSF pour la stimulation de la MO, suivie d'une aspiration de cette dernière pour le recueil de CSM destinées à une injection intra-articulaire unique. Le groupe contrôle a uniquement reçu du paracétamol. Les patients du groupe traitement ont montré une amélioration significativement supérieure dans toutes les sous échelles du score WOMAC, à savoir la douleur, la raideur et la fonction à 1 et 6 mois de suivi. Cette étude est pionnière de par la stimulation de la moelle osseuse avant le prélèvement des CSM. Cet essai clinique présente toutefois des limites qui peuvent biaiser l'interprétation des résultats, notamment l'absence d'aveugle, surtout par l'omission d'une évaluation radiologique ou histologique fournissant un certain degré d'objectivité.

Une autre étude de Lamo-Espinosa et coll. (226) comparant les CSM dérivées de la MO en combinaison avec l'acide hyaluronique contre l'acide hyaluronique seul, en injection intra-articulaire, a rapporté une amélioration supérieure du WOMAC et de l'EVS pour le groupe des CSM, ainsi qu'une amélioration radiologique de l'arthrose sur radiographie standard et IRM. Les auteurs de cette étude rapportent également un effet dose dépendant. Selon eux, l'injection de 10^8 cellules/1.5 mL a eu un impact clinique et fonctionnel supérieur à la concentration de 10^7 cellules/1.5 mL. La dose optimale de CSM à administrer pour la gonarthrose est encore un sujet actif de recherche.

a.2. Les cellules souches dérivées du tissu adipeux :

Avec l'avènement des protocoles d'expansion rapide in vitro et la facilité relative de la collecte des cellules, les CSA autologues ont également montré des résultats prometteurs ces dernières années.

Une étude de phase I (227) a démontré dans une série préliminaire de 18 patients que les CSA réduisent la douleur et améliorent la fonction selon le WOMAC à 6 mois de suivi. Cette étude

a rapporté qu'il n'y avait pas de différence significative sur les résultats cliniques entre la dose de 2×10^6 et 5×10^7 de cellules par injection. Le recrutement pour une étude de phase II sous forme d'essai clinique randomisé à double aveugle par cette même équipe est en cours.

Dans un essai clinique randomisé à double aveugle, Song et coll. (228) ont rapporté des résultats cliniques positifs suggérant un effet dose dépendant des CSA. Une dose unique de 5×10^7 cellules/injection a démontré les meilleurs résultats par l'amélioration des scores WOMAC et SF-36 (short Form 36) ainsi que l'augmentation du volume radiographique du cartilage.

a.3. Les CSM d'origine allogénique :

L'utilisation des CSM allogéniques dérivées du CO, du sang du CO et de la MO ont été décrites récemment avec leurs atouts de facilité technique par rapport aux CSM autologues.

Matas et coll. (229) ont mené un essai clinique randomisé en triple aveugle (patients, chirurgiens et investigateurs) comparant les patients traités par une dose unique de CSM dérivées du CO avec les patients recevant plusieurs doses de ces cellules, et d'autres patients recevant uniquement de l'acide hyaluronique. Seuls les patients ayant reçu les CSM ont présenté une amélioration du WOMAC de l'EVS et du SF-36 à 1 an. Les patients ayant reçu des injections multiples ont présenté de meilleurs résultats par rapport à ceux recevant une dose unique.

Gupta et coll. (230) ont décrit l'utilisation du Stempeucel[®], une suspension ex vivo de CSM allogéniques dérivées de la MO en comparaison avec l'acide hyaluornique seul. Dans cet essai clinique randomisé de 60 patients, ils ont démontré une tendance à l'amélioration de l'EVS (l'échelle verbale simple) et du WOMAC dans le groupe traitement à 6 et 12 mois de suivi. Cette amélioration n'est cependant pas statistiquement significative. A des doses supérieures à 5×10^7 de cellules/injection, ils ont noté une douleur et un œdème au niveau du genou chez une minorité de patients.

Vega et coll. (207) ont également comparé les CSM allogéniques dérivées de la MO à l'injection d'acide hyaluronique seul. Et ont relevé une amélioration significativement supérieure de l'EVA, du WOMAC, et l'échelle de Lequesne, et SF-12 dans le groupe recevant les CSM. Ils

rapportent également chez ce même groupe une réduction de la zone pauvre en cartilage et une amélioration de la qualité articulaire en T2.

a.4. La combinaison des CSM et du PRP

L'injection intra-articulaire de CSM a été combinée au PRP (Plasma riche en plaquettes) dans le but de potentialiser ses effets régénératifs (231). Le PRP autologue est connu être riche en plusieurs facteurs de croissance comme le TGF- β et le PDGF, et pourrait ainsi promouvoir la différenciation chondrogénique des CSM injectées(232).

A l'occasion de plusieurs séries de cas séquentiels, Koh et coll.(233) ont démontré une amélioration significative de la douleur et de la fonction articulaire de patients recevant une injection combinée de CSM et de PRP, par rapport a des patients recevant le PRP seul. Il est à noter que les données sur la thérapie combinée CSM/PRP, quoique constamment positives, sont limitées à des séries de cas individuels sans groupes de comparaisons utilisant les CSM seules(234). Des ECR étudiant les contributions relatives des CSM et du PRP et les doses optimales sont nécessaires.

b. Les CSM comme adjuvant à la chirurgie

En plus des preuves de l'efficacité des CSM injectables, la littérature comporte également des études décrivant la thérapie par CSM comme un adjuvant intra-opératoire pour la régénération du cartilage dans des procédures comme le forage articulaire arthroscopique, les micro-fractures ou l'ostéotomie tibiale de valgisation(235). Il est supposé que les CSM pourraient servir comme une source de chondrocytes quand la régénération endogène et la culture ex vivo sont limitées.

Dans un essai clinique de 56 patients souffrant de gonarthrose uni-compartmentale sur genu varum, Wong et coll. (236) ont étudié l'utilisation des CSM allogéniques dérivées de la MO en adjuvant de l'ostéotomie tibiale et des microfractures. Les patients ayant reçu les CSM 3 semaines après la chirurgie en injection intra articulaire ont montré une amélioration significative dans les scores de Tegner, Lysholm et l'IKDC (International Knee Documentation

Committee) à 2 ans de suivi par rapport aux sujets du groupe contrôle bénéficiant uniquement de l'ostéotomie tibiale et des microfractures. Le score radiologique MOCART (Magnetic Resonance Observation of Cartilage Repair Tissue) était également meilleur chez les patients ayant reçu les CSM.

Koh et coll.(233) ont démontré que les CSA dérivées de la graisse infra patellaire étaient efficaces comme adjuvant pour le débridement sous arthroscopie. Le même groupe a également rapporté une amélioration significative à court terme de l'EVA, du KOOS et des images IRM en utilisant l'association CSM/PRP comme adjuvant de l'ostéotomie tibiale.

En utilisant les CSM autologues dérivées du sang périphérique comme adjuvant, Saw et coll. (237) ont rapporté des résultats positifs après forage sous chondral sous arthroscopie.

Toutes les techniques chirurgicales décrites ci-dessus pourraient servir comme alternatives à la greffe autologue de cartilage articulaire, qui présente les inconvénients d'une procédure chirurgicale à deux étapes et du coût élevé de culture de chondrocytes dont le potentiel de croissance est limité. Toutefois, les preuves justifiant l'utilisation de l'autogreffe du cartilage sont, à ce moment, d'un plus haut niveau et ont démontré une efficacité cohérente au suivi à long terme(238).

2.4. Méta analyses et revues systématiques étudiant les CSM dans la gonarthrose

Notre revue de la littérature n'a retrouvé que quelques méta analyses ayant étudié l'apport des CSM dans la pathologie arthrosique, ceci peut être expliqué par le manque d'essais cliniques randomisés et la différence dans la conception des études publiées, rendant tout effort de standardisation des échantillons difficile et produisant des résultats peu interprétables avec des conclusions incertaines. Toutefois nous exposerons quelques méta analyses et revues systématiques publiées à ce sujet.

Yubo et coll. (235) ont conduit une méta-analyse en 2017, analysant les données des ECR qui ont investigué la thérapie par CSM dans la gonarthrose. Les paramètres évalués étaient l'EVA, le WOMAC, l'échelle de Lequesne, de Lysholm, le score d'activité de Tegner et les effets secondaires. 11 ECR ont été jugés éligibles, rassemblant 582 genoux arthrosiques. Les auteurs

ont démontré que le traitement par CSM aurait baissé de façon significative l'EVA et augmenté le score IKDC après une période de suivi de 24 mois, comparé au groupe de contrôle ($P < 0.05$). La thérapie par CSM a également permis une baisse significative des scores WOMAC et de Lequesne à 12 mois de suivi comparativement au groupe de contrôle ($P < 0.01$). L'analyse des scores de Lysholm et de Tegner à 24 mois a également révélé des résultats significativement favorables au traitement par CSM ($P < 0.05$). Les auteurs en concluent que le traitement par transplantation de CSM est une méthode sûre et à fort potentiel thérapeutiques pour la gonarthrose.

Une méta analyse et revue systématique(239) publiée en 2018 a inclus toutes les études comprenant plus de 5 patients où les CSM ont été utilisées pour la réparation du cartilage articulaire. Les essais contrôlés ont été analysés en se basant sur la douleur comme résultat primaire comparatif par rapport aux groupes de contrôle. Les séries de cas ont constitué une synthèse narrative. Une réduction significative de la douleur dans le groupe traitement a été rapportée, la différence moyenne standardisée était de 1.27 (95% IC -1.95 to -0.58). Toutefois, l'échantillon était extrêmement hétérogène ($I^2 = 95\%$). Les auteurs attribuent cette hétérogénéité entre autres à la différence des techniques utilisées et au profil des patients traités. Les séries de cas passées en revue ont montré des améliorations sur plusieurs résultats, cliniques, fonctionnels et radiologiques chez les patients traités malgré la différence des moyens thérapeutiques utilisés. Les auteurs ne rapportent pas d'effets secondaires majeurs, confirmant ainsi la sécurité de l'utilisation des CSM pour la pathologie articulaire. Ils concluent donc que les CSM ont un potentiel thérapeutique significatif dans cette indication, mais réclament davantage d'essais cliniques pour pouvoir réaliser des analyses conclusives.

Une revue systématique(240) publiée en 2019 fait état de la littérature étudiant les résultats cliniques de l'utilisation des populations cellulaires contenant des CSM pour la réparation cartilagineuse chez des patients atteints de gonarthrose. Cette revue a exclu les études ayant un niveau de preuve bas (IV et V). L'évaluation des résultats s'est basée sur les scores cliniques, la réparation cartilagineuse sur l'IRM et sur l'arthroscopie de contrôle. 17 études ont été revues, dont 6 ECR, 8 études observationnelles prospectives et 3 études

rétrospectives cas-témoins. Parmi ces 17 études, 8 ont utilisé les CSM dérivées de la MO, 6 ont utilisé les CSM dérivées du stroma vasculaire, 2 ont utilisé les CSA et une seule étude a utilisé les CSM dérivées du sang du cordon.

15 études parmi 17 ont rapporté de meilleurs résultats cliniques de façon significative dans le groupe traité. En termes de réparation du cartilage, 9 études sur 11 ont rapporté une amélioration de l'état cartilagineux sur les images par résonance magnétique, et 6 études sur 7 ont décrit une réparation tissulaire à l'arthroscopie de contrôle. La moyenne du score méthodologique de Coleman modifié était de 55.5 ± 15.5 (extrêmes : 28-74).

Les auteurs de cette revue s'appuient sur ces chiffres pour avancer que les CSM en intra-articulaire permettent une réduction de la douleur et une amélioration de la fonction du genou dans la gonarthrose à une période courte de suivi (<28 mois). Ils suggèrent également que les CSM ont une certaine efficacité dans la réparation du cartilage arthrosique. Les auteurs reconnaissent toutefois que les preuves de l'efficacité des CSM sur les résultats cliniques et l'état du cartilage restent limitées.

2.5. Sécurité et complications

Les données sur la sécurité de l'utilisation des CSM dans l'arthrose sont limitées et non systématisées. La récolte des CSM autologues, qu'elle soit faite à partir de la MO ou du tissu adipeux présente théoriquement un risque de morbidité du site donneur et d'infection, tandis que les sources allogéniques peuvent potentiellement transmettre des infections ou déclencher des interactions hôte/greffe avec des réponses immunologiques.

Dans une revue systématique de 2013, Peeters et coll. (241) ont rapporté les effets secondaires chez un total de 844 sujets traités par injection intra-articulaire de CSM autologues dérivées de la MO. Deux effets secondaires majeurs relatifs à l'intervention ont été notés, à savoir une embolie pulmonaire et une infection au niveau du site de la ponction médullaire traitées avec succès. 22 autres effets secondaires relatifs à l'intervention et 7 relatifs à l'utilisation des CSM ont été rapportés. La plupart des ces effets secondaires sont représentés par une douleur et/ou un œdème locaux transitoires au niveau du site du prélèvement cellulaire

ou du site d'administration. Il est possible que l'immuno-modulation résultant directement des CSM ou du PRP soit à l'origine des douleurs et œdèmes. Des fébricules et des anomalies biologiques transitoires ont également été décrites.

Une revue systématique(242) publiée en 2017 a étudié les ECR ayant investigué l'utilisation de l'injection intra-articulaire de CSM autologues et allogénique, aucun effet secondaire majeur n'a été rapporté. Des effets secondaires locaux transitoires, à type de douleurs et d'œdèmes au niveau de l'articulation traitée ont été rapportés chez une minorité de patients.

La méta analyse de Yubo et coll. (235) précédemment citée, rapporte des effets secondaires mineurs, qui ne sont pas statistiquement significatifs entre le groupe étude et le groupe contrôle.



Figure 17 : Prélèvement de CSM dérivées de la MO au niveau de l'épine iliaque postérieure puis injection de ces cellules au niveau du genou droit d'un patient atteint d'arthrose (service de Traumatologie Orthopédie B du CHU Mohammed VI de Marrakech, 2020)

A partir de ces données, il paraît que l'utilisation des CSM dans la pathologie arthrosique semble être sans risque pour les patients traités. Cependant, dans le but d'avoir une idée claire sur la balance risques / bénéfiques de cette approche thérapeutique, davantage d'investigations devraient être réalisées.

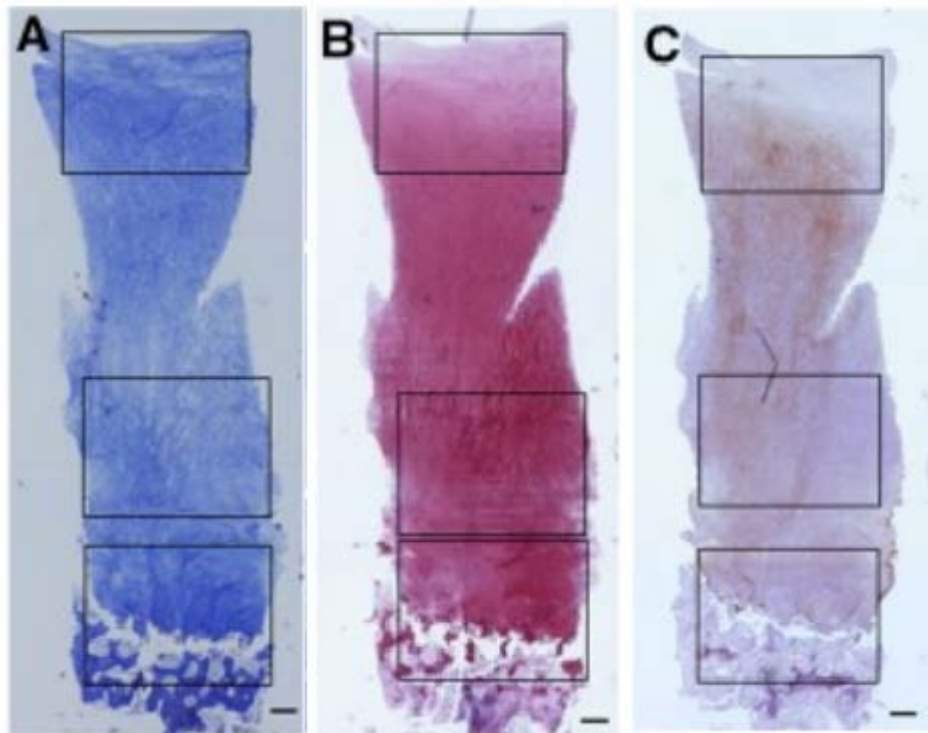


Figure 18 : Les propriétés histologiques de la biopsie du tissu régénéré sous différents colorations : au trichrome de Masson (A) montrant une forte présence de collagène, à la safranine (B) révélant une abondance de glycosaminoglycans. L'immunohistochimie montre une forte coloration au collagène de type II. La répartition de ces colorations correspond à celle du cartilage articulaire. L'alignement des chondrocytes en colonne avec des formations lacunaires sont également évocateurs de la. Park et coll. (243)

Tableau IV : Résumé des études humaines utilisant les CSM dans la gonarthrose incluses dans la méta analyse de Ha. et coll(240) :

Etude	Nombre de cas (t/c)	Traitement concomitant	Source des CSM	Voie d'administration	Nombre de CSM	Suivi (mois)	Résultat clinique	IRM	Arthroscopie de second-look	Analyse histologique
Wakitani 2002 (244)	24 (12/12)	Ostéotomie tibiale haute	Moelle osseuse, autologue	Implantation après culture	1.3×10^7	16	Pas de différence significative dans le HSS	ND	Tissu de réparation plus mou que le cartilage normal	Cartilage hyalin-like
Davatchi 2011 (245)	4	aucun	Moelle osseuse, autologue	Injections après culture	$0.8-0.9 \times 10^7$	12	Amélioration de l'EVA, périmètre de marche et montée d'escalier	ND	ND	ND
Emadedin 2012 (246)	6	aucun	Moelle osseuse, autologue	Injections après culture	$2-2.4 \times 10^7$	12	Amélioration de l'EVA, du WOMAC et du périmètre de marche	Augmentation de l'épaisseur du cartilage	ND	ND
Koh 2012 (247)	50 (25/25)	PRP	Tissu adipeux, autologues	Injection directe	$0.12-0.23 \times 10^7$	16 (12-18)	Amélioration de l'EVA, du Lysholm et du Tegner	ND	ND	ND
Wong 2013 (236)	56 (28/28)	Ostéotomie tibiale haute/microfracture	Moelle osseuse, autologue	Injections après culture	1.4×10^7	24	Amélioration de l'EVA, du Lysholm et du Tegner du groupe CSM	Augmentation du score MOCART 62.3 vs 43.2	ND	ND
Orozco 2013 (248)	12	aucun	Moelle osseuse, autologue	Injections après culture	4×10^7	12	Amélioration de l'EVA, du WOMAC et du SF-36	Réduction de la zone pauvre en cartilage et amélioration de la qualité articulaire en T2	ND	ND

Tableau IV : Résumé des études humaines utilisant les CSM dans la gonarthrose incluses dans la méta analyse de Ha. et coll(240) (suite) :

Etude	Nombre de cas (t/c)	Traitement concomitant	Source des CSM	Voie d'administration	Nombre de CSM	Suivi (mois)	Résultat clinique	IRM	Arthroscopie de second-look	Analyse histologique
Bui 2014 (249)	21	PRP	Tissu adipeux, autologues	Injection directe	ND	8.5	Amélioration de l'EVA, du Lysholm	Régénération partielle du cartilage articulaire	ND	ND
Jo 2014 (214)	18	aucun	Tissu adipeux, autologues	Injections après culture	1.0 ; 5.0 ; 10.0 x 10 ⁷	6	Meilleure amélioration de l'EVA, KSS, WOMAC et du KSS dans le groupe haute dose	Régénération graduelle durant le suivi, réduction des défauts articulaires groupe haute dose	Surface articulaire blanche et lisse	Cartilage hyalin-like
Koh 2014 (233)	44 (23/21)	Ostéotomie tibiale haute+ PRP	Tissu adipeux, autologues	Injection directe/ sous arthroscopie	4.83 x 10 ⁷	24	Meilleure amélioration de l'EVA du KOOS dans le groupe CSM	ND	Meilleur score ICRS dans le groupe CSM	ND
Kim 2014 (250)	56 (17 fibrine, 39 sans fibrine)	aucun	Tissu adipeux, autologues	Injection sous arthroscopie	4.2 x 10 ⁷	28 (24-34)	Amélioration de l'IKDC et du Tegner, pas de différence entre les groupes	ND	Meilleur score ICRS dans le groupe fibrine	ND
Kim 2015 (251)	40 (20 injection, 20 chirurgie)	PRP en injection, fibrine en chirurgie	Tissu adipeux, autologues	Injection directe/ sous arthroscopie	4.0 x 10 ⁷	28 (24-42)	Amélioration de l'IKDC et du Tegner, pas de différence entre les groupes	ND	Meilleur score ICRS dans le groupe chirurgie	ND
Vega 2015 (207)	30 (15/15)	Contrôle: acide hyaluronique	Moelle osseuse, allogénique	Injection directe	4 x 10 ⁷	12	Meilleure amélioration de l'EVA du WOMAC, du Lequesne, et SF-12 dans le groupe CSM	Réduction de la zone pauvre en cartilage et amélioration de la qualité articulaire en T2 dans le groupe CSM	ND	ND

Tableau IV : Résumé des études humaines utilisant les CSM dans la gonarthrose incluses dans la méta analyse de Ha. et coll(240) (suite) :

Etude	Nombre de cas (t/c)	Traitement concomitant	Source des CSM	Voie d'administration	Nombre de CSM	Suivi (mois)	Résultat clinique	IRM	Arthroscopie de second-look	Analyse histologique
Kim 2016 (252)	24	aucun	Tissu adipeux, autologues	Injection sous arthroscopie	4.9×10^7	28 (24-34)	Amélioration de l'IKDC et du Tegner	Réduction de la surface et augmentation de l'épaisseur au niveau des défauts articulaire	ND	ND
Park 2016 (243)	6	Forage multiple (5x5mm)	Cordon ombilical, allogénique	Implantation sans culture	$1.15-2.00 \times 10^7$	84	Amélioration de l'EVA et de l'IKDC	Indice delta R1 relatif de 1.44 à la dGEMRIC	Amélioration du score ICRS, Surface articulaire blanche et lisse	Cartilage hyalin-like chez 2 patients sur 6
Gupta 2016 (230)	60 (40/20)	Injection d'acide hyaluronique	Moelle osseuse, allogénique	Injection directe	$2.5-15 \times 10^7$	12	Pas de différence significative entre groupes dans l'EVA le WOMAC.	Pas d'amélioration significative du score WORMS	ND	ND
Lamo-Espinosa 2016 (226)	30 (20/10)	Injection d'acide hyaluronique	Moelle osseuse, autologue	Injections après culture	$1 ; 10 \times 10^7$	12	Amélioration de l'EVA et du WOMAC dans le groupe CSM, surtout le groupe 10×10^7 CSM	Légère amélioration du score WORMS dans le groupe 10×10^7 CSM seulement	ND	ND
Pers 2016 (227)	18	aucun	Tissu adipeux, autologues	Injections après culture	$0.2 ; 1 ; 5 \times 10^7$	6	Amélioration de l'EVA, WOMAC et KOOS, significative dans le groupe de 0.2×10^7 CSM	Amélioration probable à la dGEMRIC	Lésions d'arthrose sévère	Cartilage greffé à partir des CSM (PS100, CD34, Ki67) chez un seul patient

dGEMERIC : delayed gadolinium-enhanced magnetic resonance imaging of cartilage; EVA : échelle visuelle analogique ; HSS : Hospital for Specific Surgery score, ICRS: International Cartilage Repair Society score ; MOCART: Magnetic Resonance Observation of Cartilage Repair ; Tissue (t/c) : traitement/ contrôle ; WORMS: Whole-Organ Magnetic Resonance Imaging Score.

2.6. Perspectives et avenir :

Malgré les résultats prometteurs rapportés par la littérature traitée ci-dessus sur la thérapie par CSM dans la pathologie articulaire, plusieurs questions attendent des réponses. La cohérence dans le report des résultats et la conception des études traitant les CSM sont une problématique à part entière. Si les études précoces sont pour la plupart des séries de cas sans un groupe contrôle structuré, les efforts de recherche à venir devraient fournir des preuves de qualité pour s'assurer de l'efficacité et de sécurité de la technique pour les patients. A plusieurs occasions, la promotion commerciale de la thérapie par CSM dépasse largement les preuves qui appuient leur efficacité, et cette tendance semble résister aux efforts de régulation(253). Les inquiétudes par rapport à la désinformation dans le marketing dirigé au consommateur des produits cellulaires comme les CSM et le PRP ont amené plusieurs instances sanitaires et scientifiques à établir des critères minimaux pour le développement des produits et la recherche clinique afin de limiter les inquiétudes par rapport à la sécurité et à la responsabilité éthique(254).

L'intégration de la thérapie par CSM dans les protocoles thérapeutiques de l'arthrose semble donc tarder encore. Les résultats majoritairement positifs que rapporte la littérature citée ci-dessus nécessitent d'être consolidés par des ECR de plus grande envergure, en plus d'une standardisation des protocoles utilisant les CSM dans la pathologie arthrosique

II. Le ménisque :

1. La pathologie méniscale :

Les lésions méniscales ont une incidence annuelle de 66 pour 100 000 habitants aux Etats Unis. Les hommes sont plus fréquemment atteints avec un sexe ratio entre 2,5 et 4/1. L'incidence est maximale entre 20 et 29 ans(255).

Elles sont le plus souvent secondaires aux accidents sportifs, et sont souvent accompagnées de rupture du LCA (ligament croisé antérieur) dans plus de 80% des cas. Les accidents de la voie publique en sont également une cause fréquente(256).

Les lésions méniscales sont également fréquentes chez les sujets âgés de plus de 50 ans. Ces lésions sont le plus souvent secondaires à un processus dégénératif à long terme. La symptomatologie est semblable à celle du sujet jeune, mais est difficile à discerner des symptômes d'une arthrose du genou. Le ménisque est rarement suspecté, où à l'inverse, une rupture méniscale à l'IRM peut être faussement reconnue comme l'étiologie d'une symptomatologie arthrosique. Ceci retentit sur le choix d'un moyen thérapeutique approprié. La qualité du ménisque chez cette tranche d'âge est généralement médiocre et conduit le plus souvent à la méniscectomie(257).

Le traitement des ruptures méniscales de plusieurs facteurs dont leur localisation en fonction des zones (Rouge-rouge, Rouge-Blanche ou Blanche-blanche).

La zone périphérique (vascularisée/rouge) du ménisque est traitée par plusieurs techniques chirurgicales de sutures. Ces techniques sont efficaces chez les sujets jeunes avec des genoux stables, avec des taux de réussite entre 63 et 91% (258).

Les ruptures dans la zone centrale (avasculaire/blanche et rouge blanche) du ménisque sont plus complexes est plus diversifiées, et ont un pronostic médiocre même après réparation. Ces blessures présentent un véritable défi thérapeutique pour les praticiens et les chercheurs. Plusieurs techniques ont été étudiées, avec des résultats variables. Parmi ces nouvelles

techniques, citons l'utilisation du tissu synovial para-méniscal, la « trépanation » du rebord méniscal périphérique avec suture de la rupture, la création de canaux vasculaires d'accès, et l'utilisation des facteurs de croissance et CSM(258).

2. La thérapie par CSM dans la pathologie méniscale:

2.1. Origines des CSM :

Les CSM utilisées dans la réparation méniscale selon la littérature disponible sont dérivées par ordre de fréquence, à partir de la MO, de la membrane synoviale, du tissu adipeux, des ménisques et d'autres tissus articulaires et extra articulaires. Si les données disponibles tendent à favoriser les CSM dérivées de la MO, il est important de noter que ces cellules sont les plus étudiées, ce qui pourrait présenter un biais dans la comparaison des différentes sources de CSM. Actuellement, aucune de ces sources n'est considérée comme étant optimale(259).

2.2. Modèles animaux :

Le modèle murin a été exploré par différents groupes de recherche. Le potentiel de différenciation chondrogénique des CSM dérivées de la MO a été démontré par la culture de ces dernières sur un échafaud décellularisé issu d'un ménisque de rat. Les échafaudsensemencés ont montré une augmentation de leur rigidité et une hausse de l'expression des protéines de la MEC, conduisant à la formation d'un nouveau tissu se rapprochant d'un ménisque normal(260). La même équipe a démontré l'efficacité de cet échafaudensemencé par les CSM en le transplantant dans les genoux de rats(261).

Les expériences in vivo utilisant diverses modalités d'administration des CSM, à savoir les injections intra-articulaires, les échafaudsensemencés ou les agrégats cellulaires ont également démontré leur potentiel thérapeutique. L'injection de 10^7 de cellules au niveau de genoux de rats où des lésions multiples ont été induites a montré une migration et une différenciation CSM notamment au niveau du ménisque (262).

Suite à l'injection de CSM dérivées de ménisque humain dans les articulations de rats ayant subi une hémi-méniscectomie, il a été rapporté une promotion de la synthèse du collagène de type II dans le ménisque traité (263). La transplantation de CSM dérivées de la membrane synoviale en agrégats semble régénérer plus efficacement le tissu méniscal par rapport à ces mêmes cellules en injection intra-articulaire, à cause d'un temps de contact plus important et une viabilité supérieure(264).

Les CSM ont également été étudiées dans les blessures méniscales chez les grands mammifères. Un modèle canin(265) a démontré que l'injection de CSM autologues dérivées de la MO au niveau d'une rupture de la zone rouge-blanche du ménisque latéral permet une amélioration remarquable de la lésion par rapport au ménisques de contrôle non injectés.

Une étude(266) portant sur 33 chevaux avec des blessures méniscales a exploré l'injection des CSM autologues dérivées de la MO avec un suivi de 2 ans. 42% des chevaux traités ont repris leur activité au même rythme ou mieux qu'avant la blessure, 33% ont eu un retour d'activité inférieur à celui d'avant la blessure, tandis que 24% des chevaux n'ont pas pu regagner leur activité.

Ces études sur modèles animaux ont motivé des études cliniques humaines en prouvant la faisabilité, la sécurité et le principe d'efficacité des CSM dans la réparation méniscale.

2.3. Les essais cliniques humains :

Les études humaines étudiant l'apport des CSM dans la pathologie méniscale sont rares et ne présentent pas un haut niveau de preuve. Une recherche sur PubMed, Google Scholar et la librairie de la Cochrane avec les termes « meniscus » et « mesenchymal stem cells » à la date de août 2020 a retrouvé 4 études cliniques dont une seulement est un ECR, les trois autres sont des séries de cas. Nous exposerons donc les résultats de ces études.

Centeno et coll. (267) ont publié en 2008 le cas d'un patient atteint d'arthrose symptomatique du genou traitée par injection intra-articulaire de CSM autologues dérivées de la MO après expansion. Le patient a reçu $2,24 \times 10^7$ de CSM en plus d'1 mL de cellules

mononucléées de la MO en injection intra-articulaire sous guidage fluoroscopique. Les résultats évalués étaient l'EVA, l'indice d'évaluation fonctionnelle (FRI) et les images IRM avant et après l'intervention. En plus de l'amélioration de l'EVA et du FRI, les images IRM ont montré une augmentation du volume du cartilage et du ménisque. Les auteurs reconnaissent que cette augmentation de volume ne traduit pas forcément une réparation méniscale, surtout en l'absence de preuves histologiques.

Plus tard en 2014, Pak et coll. (268) rapportent le cas d'une patiente de 32 ans souffrant d'une rupture méniscale gradée II à l'IRM. La patiente avait reçu des AINS, des séances de physiothérapie, une injection intra-articulaire de PRP, et une infiltration d'acide hyaluronique, sans amélioration. La patiente a ensuite reçu une préparation à base de CSA autologues non cultivées (estimées à $1,6 \times 10^7$ cellules) et de PRP autologue en injection intra-articulaire échoguidée. Les auteurs rapportent que trois mois après l'intervention, les IRM réalisées ont montré une disparition quasi-totale de la rupture avec une amélioration nette de la symptomatologie à hauteur de 18 mois de suivi. La patiente n'a pas rapporté d'effets indésirables. Les auteurs avancent que ce cas suggère la possibilité de traiter efficacement les lésions méniscales sans recours à des procédures plus invasives grâce aux CSM du tissu adipeux. Ils s'appuient sur l'échec des traitements dont la patiente avait bénéficié avant l'intervention pour poser un argument de comparaison. Toutefois le niveau de preuve est celui d'un cas isolé et ne permet pas de tirer de conclusions quant à la sécurité et à l'efficacité de ce traitement.

Le plus haut niveau de preuve à ce jour en termes de sécurité et d'efficacité de cette thérapie revient à l'étude de Vangness et coll. (269) publiée en 2014. Cette étude est un essai clinique randomisé à double aveugle intéressant 55 patients ayant subi une méniscectomie médiale partielle et répartis en 3 groupes, le groupe A recevant 50×10^6 et de CSM autologues dérivées de la MO en suspension dans une solution d'acide hyaluronique, le groupe B, 150×10^6 de CSM, tandis que le troisième groupe a servi de contrôle en recevant uniquement une injection d'acide hyaluronique. Tous les patients ont reçu ces injections 7 à 10 jours après leur méniscectomie. Les patients ont été

suivis pendant 2 ans à des intervalles croissants, avec une évaluation clinique et des scores subjectifs (l'EVS et le score de Lysholm) et une évaluation par IRM.

Les résultats rapportés indiquent l'absence d'effets secondaires majeurs, ainsi qu'une augmentation du volume méniscal d'au moins 15% sur IRM chez 24% des patients du groupe A et 6% chez les patients du groupe B. Aucun patient du groupe contrôle n'a dépassé le seuil de 15% d'augmentation du volume méniscal. Les patients des groupes A et B souffrant d'une arthrose sous-jacente ont rapporté une baisse significative de douleur selon l'EVA par rapport aux patients du groupe de contrôle. Il n'y avait pas de différence significative quant au score de Lysholm. Les auteurs concluent à partir de ces résultats que l'utilisation des CSM autologues dérivées de la MO en injection articulaire ne présente pas de risque pour les patients et serait bénéfique pour la régénération méniscale, ils suggèrent aussi que l'administration de doses supérieures de CSM n'aurait pas de bénéfice thérapeutique. Les limites principales de cet ECR sont le caractère multicentrique (variabilité des mesures radiologiques du volume méniscal), ainsi que la différence de distribution de l'arthrose au sein des groupes.

Whitehouse et coll. (270) publient en 2017 une étude à bras unique, pour étudier la sécurité d'utilisation d'un échafaud ensemencé de CSM autologues dérivées de la MO après expansion (les CSM administrées varient en nombres de $1,05 \times 10^7$ à $2,99 \times 10^7$ cellules) pour le traitement de ruptures méniscales en zone avasculaire. Les échafauds utilisés étaient à base d'éponges de collagène, et ont été placés en contact du site de la rupture avant la réalisation de sutures verticales. 5 patients ont bénéficié de cette intervention avec un suivi de 2 ans, 3 patients sont devenus asymptomatiques sans signe de récurrence de la rupture sur IRM au bout de la période de suivi. Les deux autres patients ont dû recourir à la méniscectomie pour récurrence ou non cicatrisation de la rupture. Aucun autre effet secondaire n'a été rapporté. Les auteurs en concluent que l'implantation des CSA non différenciées sur échafaud représente un adjuvant thérapeutique sans risque en complément des sutures pour le traitement de la rupture méniscale en zone avasculaire, pouvant être efficace chez certains patients.

Tableau V : Résumé des études cliniques humaines utilisant les CSM dans les lésions méniscales :

Etude	Nombre de sujets	Age moyen	Blessure méniscale	Types de CSM	Nombre de CSM	Modalité d'administration	suivi	Arthroscopie	IRM	Résultat clinique
Centeno 2008 (267)	1	47 ans	Arthrosique/ dégénérative	CSM de la MO autologues après culture	22.4 x10 ⁶	CSM+lysate plaquettaire en injection intra articulaire sous amplificateur de brillance	6 mois	ND	augmentation du volume méniscal de 28,64%	Diminution du FRI : de 21 à 9 Réduction de l'EVA : de 4 à 0.38
Pak 2014 (268)	1	32 ans	Rupture isolée du ménisque médial stade II	CSA autologues sans culture	16 x10 ⁶ (estimée)	CSM+PRP+CaCl ₂ +AH en injection intra articulaire écho guidée	18 mois	ND	Fermeture de la rupture méniscale	Diminution du FRI : de 18 à 8 Réduction de l'EVA de 5 à 1
Vangsness 2014(269)	55	46 ans	Ménisectomie partielle	CSM de la MO allogéniques après culture.	50 ou 150 x 10 ⁶	-CSM 50x10 ⁶ +AH (groupe A) -CSM 150x 10 ⁶ +AH (groupe B) -AH (groupe Contrôle) Par injection intra-articulaire 7-10 jours après ménisectomie partielle	24 mois	ND	augmentation plus importante du volume méniscal chez le groupe A	Diminution de l'EVA : -grp A : 5,60 à 2.87 -grp B : 4,31 à 1.9 -grp ctrl : 4,30 à 2,30 Pas de différence significative dans le score de Lysholm
Whitehouse 2017(270)	5	37 ans	Rupture du ménisque médial en zone avasculaire (blanche)	CSM de la MO autologues après culture	10.5 à 29.9 x 10 ⁶	CSM sur échafaud implantées par arthroscopie avec suture méniscale prenant l'échafaud	24 mois	Cicatrisation de la rupture méniscale chez 3 patients. Récidive/ échec de cicatrisation chez 2 patients	Cicatrisation méniscale chez 3 patients.	Amélioration des scores de Tegner-Lysholm, IKDC et de l'amplitude de mouvement chez les 3 patients

								nécessitant une méniscectomie		ayant cicatrisé.
--	--	--	--	--	--	--	--	-------------------------------	--	------------------

AH : acide hyaluronique ; CSA : cellules souches mésenchymateuses dérivées du tissu adipeux ; CSM : cellules souches mésenchymateuses ; EVA : échelle visuelle analogique ; FRI : functional rating index ; IKDC : International Knee Documentation Committee score ; MO : moelle osseuse ; ND : non disponible ; PRP : Plasma riche en plaquettes.

Au Total :

Malgré le nombre limité des études cliniques publiées à ce sujet, les CSM représentent une option prometteuse pour le traitement des blessures méniscales. Les résultats des études animales ainsi que les données cliniques préliminaires confirment le potentiel régénératif des CSM. Ceci dit, aucune conclusion définitive ne peut être tirée sur l'efficacité et la sécurité de cette thérapie à la lumière des preuves actuelles.

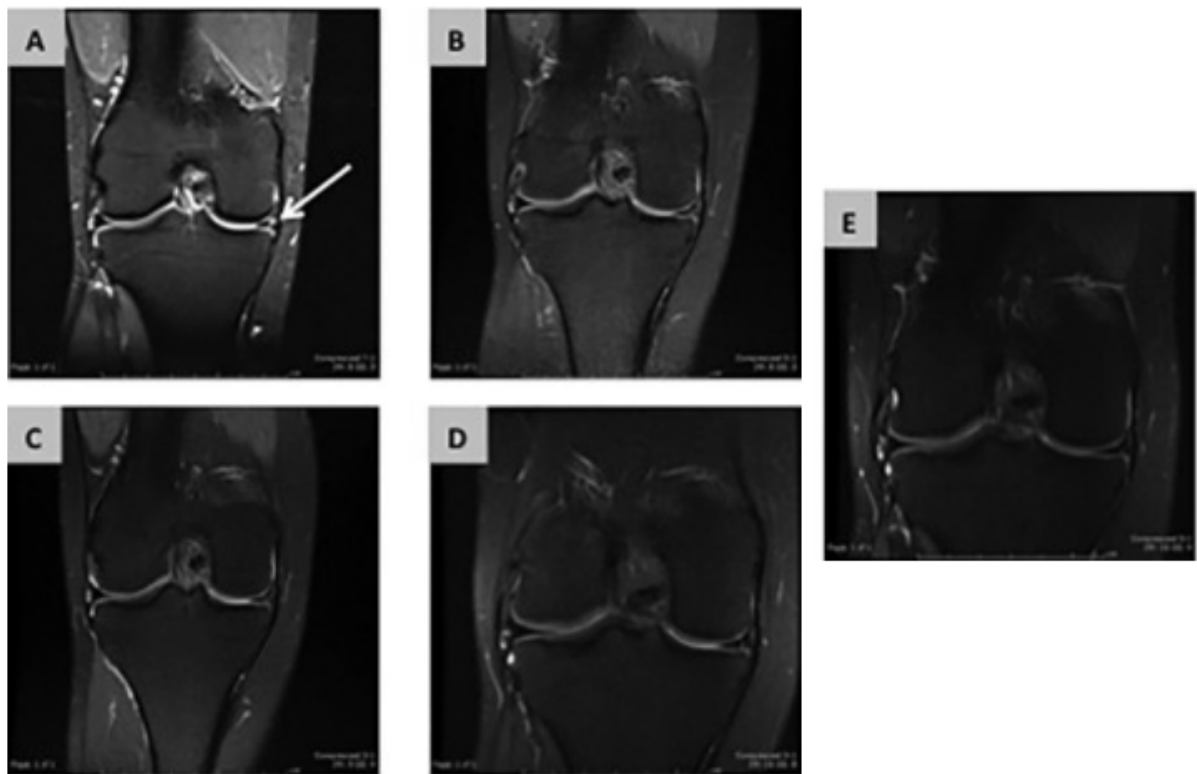


Figure 19 : IRM d'une réparation méniscale traitée par CSM sur échafaud. Image préopératoire (A), la flèche blanche indique le ménisque rompu ; image post opératoires à 3 mois (B), 6 mois (C), 12 mois (D), 24 mois (E). (Whitehouse et coll. (270))

III. Le tissu musculaire :

1. Les cellules souches du muscle :

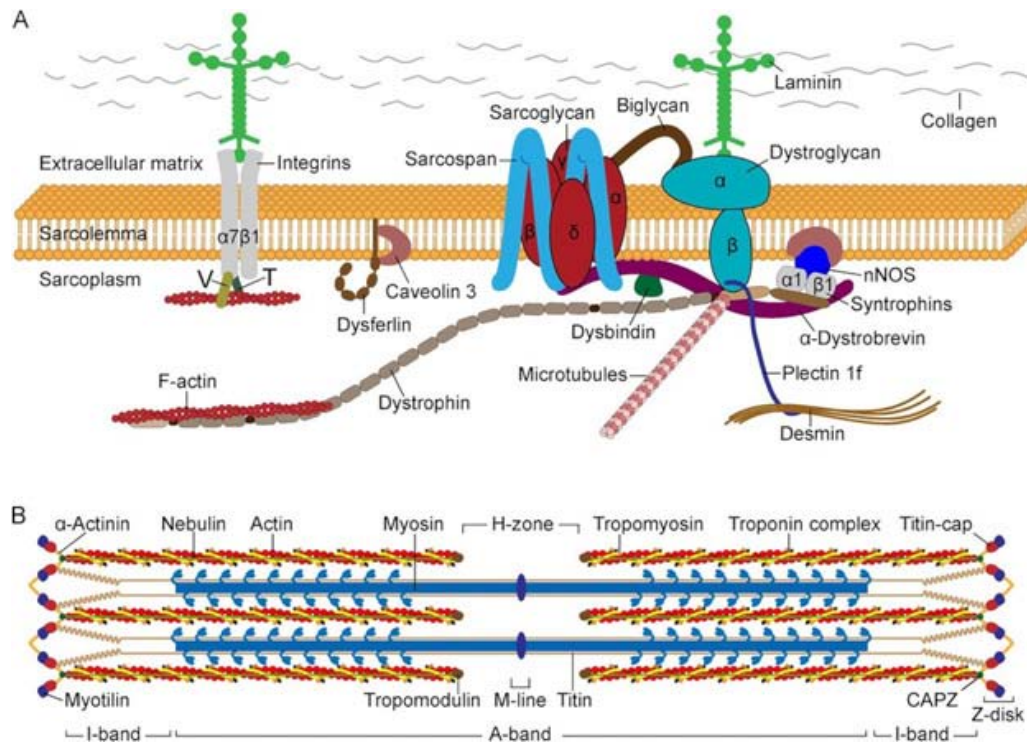


Figure 20 : La structure (A) des protéines du sarcolemme (dont la dystrophine) et de la lame basale et (B) du sarcomère (271).

Les cellules satellites sont des cellules souches résidentes du muscle, elles sont situées à côté des vaisseaux sanguins, et leur densité est plus haute autour des jonctions neuromusculaires et musculo-tendineuses (272). Elle sont impliquée dans l'activation de ces cellules en réponse à divers facteurs de stress, comme l'exercice, la blessure, ou diverses maladies(110).

Une variété de population de cellules souches ont été identifiées dans le muscle squelettique, y compris les CSM, les péricytes, les cellules dites 'side population cells', les progéniteurs fibro-adipogéniques, et les cellules souches interstitielles. Les études de transplantation et les expériences de culture in vitro ont démontré que ces populations de cellules souches peuvent influencer l'auto-renouvellement et la prolifération des cellules satellites(273).

2. Les CSM dans la réparation des tissus musculaires :

2.1. Les CSM dérivées de la MO:

L'idée de l'utilisation ces CSM dérivées de la MO pour la régénération musculaire s'est développée à travers plusieurs études in vitro et in vivo, mais ne s'est toujours pas étendue aux essais cliniques (98,274-278).

Ainsi, l'injection des CSM par voie intramusculaire a montré une amélioration de la fonction musculaire d'une façon dose-dépendante dans un modèle murin de traumatisme musculaire par écrasement(274). Leur administration par voie artérielle permet également une restauration de la fonction musculaire. Cette administration systémique des CSM n'a pas entraîné une migration ni une persistance des cellules au niveau du muscle lésé, ce qui suppose selon les auteurs de l'étude que l'amélioration rapportée est due à l'action paracrine des CSM injectées (98).

Corona et coll. (275) ont travaillé avec une population monocyttaire de la MO qui a été prélevée puis débarrassée des cellules engagées dans une lignée de différenciation pour isoler les cellules souches et les cellules progénitrices dans un modèle murin d'ischémie/reperfusion musculaire. Ils ont trouvé que les cellules injectées par voie intramusculaire ont survécu à 1 mois suivant l'implantation, mais n'ont pas amélioré la fonction musculaire. Cependant lorsque les CSM ont été injectées par voie intraveineuse, les cellules ont migré au niveau du site de la lésion et ont permis une amélioration dans la régénération et la fonction du muscle.

Les mécanismes exacts de la réparation musculaire par les CSM ne sont pas clairs et leur capacité de différenciation en myocytes est discutée. A titre d'exemple, la transplantation de CSM humaines dérivées de la MO chez des souris dystrophiques a rétabli l'expression de la dystrophine (protéine normalement présente sous la membrane cellulaire de toutes les fibres musculaires dont l'altération ou l'absence est à l'origine de myopathies). Toutefois la fonction contractile du muscle n'a pas été rétablie. Les auteurs suggèrent que la présence des dystrophines dans les myocytes des souris transplantées peut être le résultat de la fusion des CSM humaines injectées avec les myocytes résidents des souris et non une différenciation des CSM en des progéniteurs myogéniques(276).

Ceci est corroboré par une étude de De La Garza Rodea et coll. (277) qui ont transplanté des CSM humaines dérivées de la MO chez des souris dont les myocytes ont été détruits par un venin myotoxique sélectif. Ces souris ont développé de nouveaux myocytes hybrides entre les cellules résidentes et les CSM humaines administrées, les auteurs notent toutefois que les noyaux des CSM ont subi une reprogrammation.

Par ailleurs, Sassoli et coll. (279) ont suggéré l'utilisation du PRP comme milieu de culture, en le comparant aux milieux standards. Leur expérience a permis de démontrer une supériorité de la combinaison CSM dérivées de la MO et PRP sur la prolifération, la survie et la différenciation myogénique in vitro. Ces résultats n'ont pas encore été traduits in vivo.

2.2. Les cellules souches mésenchymateuses dérivées du tissu adipeux (CSA) :

Il a été rapporté que les CSA possèdent un potentiel de différenciation myogénique in vitro, en plus de pouvoir se greffer avec succès au muscle squelettique de souris dystrophiques avec la promotion de la synthèse de nouveaux myocytes (278). Certaines études avancent que les CSA ont une plus grande tendance de différenciation myogénique par rapport au CSM dérivées de la MO (278,280). Elles contribuent également de façon indirecte à la régénération musculaire, principalement par leur modulation de l'inflammation et de la fibrose comme le démontre les modèles de souris MDX (souris ayant une mutation génétique codant pour une dystrophine, utilisées comme modèle pour la myopathie de Duchenne) (281).

Vieira et coll. (282) ont essayé de transplanter des CSA humaines à un modèle canin de dystrophie sans immunosuppression. Des CSA au nombre de 1×10^7 ont été injectées dans la veine céphalique de chiens dystrophiques. Les cellules ont été implantées avec succès au niveau des muscles des chiens, avec une expression de dystrophines humaines au niveau de 6 à 9% du muscle, persistant à hauteur de 6 mois après l'injection mais indétectable à 12 mois. Il n'y pas eu d'amélioration symptomatique concluante, ni de changements à l'échelle histologique. Les auteurs suggèrent donc qu'une dose plus importante avec des injections régulières pourrait avoir un retentissement fonctionnel positif. Les chiens n'ayant pas été sacrifiés pour étude

histologique n'ont pas présenté d'effets secondaires ou de complications dans les 24 mois suivants, ce qui représente un argument précoce sur la sécurité de la méthode.

Plusieurs travaux ont donc présenté des preuves sur la contribution réelle ou potentielle des CSA à la régénération musculaire. La sécurité de la technique est suggérée par plusieurs expériences in vivo et par les données épigénétiques.

2.3. Les CSM dérivées des produits fœtaux :

Gang et coll. (283) ont démontré que les CSM dérivées du sang du cordon possèdent un potentiel de différenciation vers des cellules musculaires striées, ce qui en fait une source convenable pour la réparation du muscle squelettique.

Viera et coll. (284) ont utilisé un modèle de souris dystrophique pour évaluer l'administration systémique des cellules mésenchymateuses dérivées du CO et leur habilité à se greffer au niveau du muscle endommagé. Malgré leur migration au niveau du muscle, ces cellules ont démontré un degré de différenciation inférieur à celui des CSA.

2.4. Les CSM dérivées du muscle :

Les CSM dérivées du muscle semblent être une source évidente pour le prélèvement de cellules souches dans le but de réparer ou régénérer le tissu musculaire. Dans cette perspective, certains auteurs ont essayé d'évaluer leur apport en pathologie musculaire.

Les CSM résidentes du muscle (Sca1⁺/CD45⁻) délivrées par voie intramusculaire ont montré une augmentation de la quantité des cellules satellites, de l'hypertrophie des myocytes et de l'artériogénèse dans les muscles des pattes postérieures de souris blessés par contraction excentrique(285).

La greffe de CSM allogéniques dérivées du muscle pourraient également présenter des bénéfices aux patients souffrant de la myopathie de Duchenne, puisque ces cellules ont permis d'obtenir une amélioration de la structure musculaire chez un modèle murin de la maladie(286).

L'utilisation de ces cellules se heurte à plusieurs difficultés qui ont restreint leur utilisation en recherche préclinique. Les CSM résidentes du muscle sont rares dans le muscle

humain, et ne peuvent être obtenues en quantité suffisantes sans procédures invasives et sans expansion, en dehors de l'utilisation des pièces de résections musculaire. De plus, la multitude de types de CSM présentes au niveau du muscle ou des cellules apparentées fait qu'il n'existe pas de cohérence entre les cellules utilisées par les équipes de recherche, empêchant ainsi de tirer des conclusions sur leur efficacité, leur sécurité et leur applications potentielles(287).

2.5. Les exosomes et produits dérivés des CSM :

Les CSM présentent les inconvénients de la thérapie cellulaire, qui sont dominées par les risques de réactions immunitaires, de transmission d'agents infectieux et de développement de néoplasies. Ainsi, les exosomes s'imposent comme une alternative intéressante pour la réparation du muscle, compte tenu de leur mode d'action similaire à la fonction endocrine des CSM.

Nakamura et coll. (288) ont étudié l'apport des exosomes obtenus à partir de CSM dérivées de la MO, sur un modèle murin de blessure musculaire. Ils ont rapporté que ces vésicules favorisent la myogenèse et l'angiogénèse in vitro. Ils suggèrent que les résultats obtenus seraient dues à l'action des microARN (miARN 494) contenus dans les exosomes.

Une étude de Mitchell et coll. (289) a présenté des résultats similaires en utilisant un sécrétome (milieu où ont été cultivé des cellules, contenant les molécules secrétées par ces dernières) et des vésicules extracellulaires obtenus à partir de CSA. Ils ont réussi ainsi à démontrer un bénéfice sur la régénération musculaire in vivo et in vitro. Ils attribuent les effets relevés majoritairement à plusieurs types de microARN.

Le sécrétome et les vésicules extracellulaires obtenus à partir des CSM du liquide amniotique possèdent également des effets anti-inflammatoires et angiogéniques contribuant à la réparation musculaire selon une étude sur modèle murin de lésion musculaire(290).

2.6. Ingénierie tissulaire et échafauds dans la réparation du tissu musculaire :

Le tableau ci-dessous résume les études réalisées sur des modèles animaux en utilisant les CSM sur des échafauds pour la réparation musculaire aussi bien dans les myopathies que dans les traumatismes musculaire.

Tableau VI : Résumé des études sur modèles animaux utilisant les CSM sur des échafauds pour la réparation musculaire

Etude	Espèce	Modèle	CSM utilisées	Nombre de cellules	Echafaud	Groupe contrôle/ comparatif	Résultat
Natsu et coll. 2004(291)	Rats de Spague-Dawley	Incision de la moitié de l'épaisseur du muscle tibial antérieur	Dérivées de la MO de rats sains, allogéniques, cultivées, marquées par protéine fluorescente verte	3.5×10^5	Colle de fibrine en bloc	Colle de fibrine seule, absence de traitement	Fermeture totale du défaut chez le groupe des CSM avec une meilleure résistance à la tension. Régénération musculaire sans fusion des CSM avec les myocytes.
Merritt et coll. 2010(292)	Rats de Lewis	Incision subtotale du muscle jumeau latéral	Dérivées de la MO de rats sains, allogéniques, cultivées	1,2 à 2×10^6	Matrice extracellulaire musculaire décellularisée	MEC seule	Rétablissement de la fonction musculaire dans le groupe traitement avec augmentation de la vascularisation du tissu cicatriciel et du nombre de myocytes régénérés.
Hwang et coll. 2013(293)	Souris nude	Incision subtotale du gastrocnémien latéral	CSA humaines, cultivées	10^5	Hydrogel de polyéthylène glycol tyramine chargé de bFGF	Hydrogel seul, CSA seules	Amélioration de la régénération musculaire, du rétablissement fonctionnel, de la vascularisation et innervation et fibrose moindre dans le groupe traitement.
Andrade et coll. 2015(294)	Souris	Lacérations musculaires répétées	Dérivées de la MO de souris normales, allogéniques, cultivées	3×10^6	Gel tridimensionnel à base de membrane basale reconstituée (Matrigel)	Matrigel seul	Amélioration de la contraction isométrique et aspect histologique meilleur des myocytes chez le groupe traité

Tableau VI : Résumé des études sur modèles animaux utilisant les CSM sur des échafauds pour la réparation musculaire (suite) :

Etude	Espèce	Modèle	CSM utilisées	Nombre de cellules	Echafaud	Groupe contrôle/comparatif	Résultat
Pum-berger et coll. 2016(295)	Rats de Spague-Dawley	Traumatisme musculaire du soleus par écrasement	Dérivées de la MO, autologues, cultivées	10 ⁶	Cryogel d'alginate poreux libérant des FDC	Cryogel seul, cryogel+FDC, CSM seules	Amélioration de la fonction musculaire par remodelage du tissu cicatriciel et formation de nouvelles myofibres dans le groupe traitement.
Ruehle et coll. 2018(296)	Souris	Myopathie de Duchenne (Souris DMX, et cardiotoxine)	Dérivées de la MO de souris normales, allogéniques, cultivées	ND	Agrégats de CSM par agarose	CSM simples, sérum salé	Amélioration de la contraction isométrique et sécrétion supérieure de FDC chez le groupe agrégat
Qiu et coll. 2018(297)	Rats de Spague-Dawley	Perte musculaire volumétrique du tibia antérieur	CSM du CO humain, cultivées	ND	Matrice extracellulaire décellularisée en poudre à partir d'un cœur de porc.	MEC seule, CSM seules	Meilleure récupération fonctionnelle et régénération musculaire histologique avec effet immun modulateur majoré chez le groupe traitement.
Aurora et coll. 2018(298)	Rats nude	Perte musculaire volumétrique du tibia ant.	CSA humaines cultivées	ND	Hydrogel de polyéthylène glycol sans plaquette combinée à la MEC musculaire décellularisé	Hydrogel seul, CSA seules	Persistance des CSA 2 semaines dans le groupe traitement avec augmentation de la vascularisation, sans différence dans la régénération musculaire

BFGF : Basic fibroblast growth factor ; CSA : cellules souches mésenchymateuses dérivées du tissu adipeux ; CSM : Cellules souches mésenchymateuses ; CO : Cordon ombilical ; FDC : facteurs de croissance ; MEC : matrice extracellulaire ; MO : Moelle osseuse.

Au total :

A partir de toutes ces données, il est clair que la thérapie par CSM constitue une voie prometteuse pour la réparation musculaire, qui peut être davantage potentialisée par des techniques d'ingénierie tissulaire. Cependant, la réparation musculaire par CSM est encore limitée aux études précliniques. Si l'on se base sur les modèles animaux, il est constaté que les dystrophies musculaires, la perte volumétrique de muscle et les sections musculaires sont les pathologies qui ont le plus à gagner de cette approche thérapeutique.

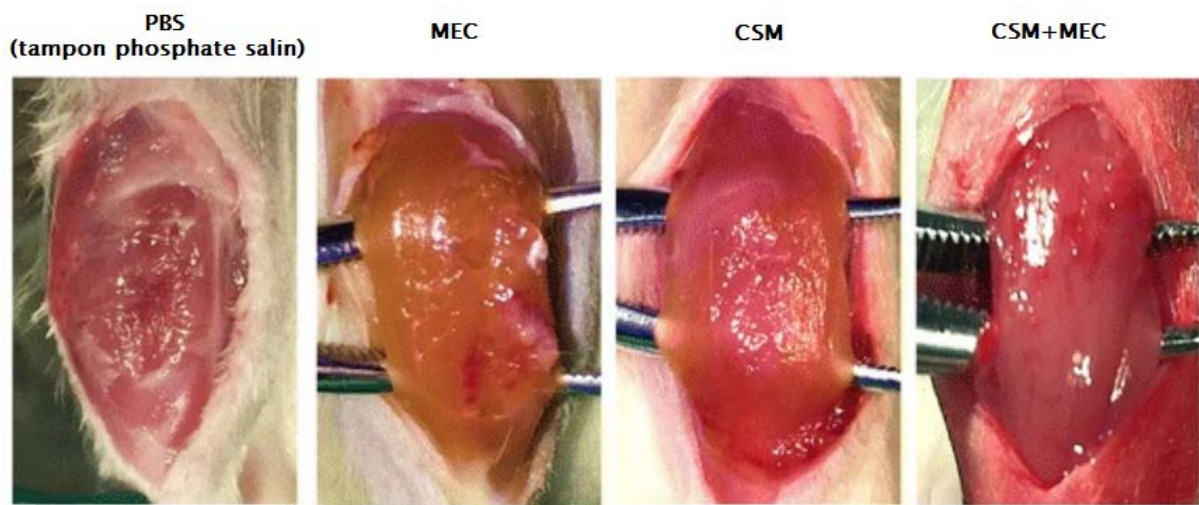


Figure 21 : Images comparant les résultats de différents traitements dans un modèle de perte musculaire volumétrique chez des rats. Le meilleur résultat semble être obtenu chez les rats ayant bénéficié d'une réparation par CSM humaines du cordon ombilical sur un échafaud de MEC décellularisé. (Qiu et coll. (297))

IV. Le tendon :

1. Les tendinopathies :

Un tendon normal est blanc et fibro-élastique. Il est composé de cellules et d'une MEC. Les ténoblastes et les ténocytes représentent la majeure partie de ces cellules (90 à 95%), suivies par les chondrocytes, les cellules synoviales, les cellules endothéliales et les cellules musculaires lisses.

Les ténoblastes sont des cellules immatures fusiformes contenant plusieurs organelles cytoplasmiques métaboliquement actives, ils changent de formes avec le temps devenant plus allongés pour se transformer en ténocytes. Ces derniers sont prédominants, avec un rapport nucléo cytoplasmique moins important et une activité métabolique relativement réduite, synthétisant le collagène et la MEC et sont impliqués dans plusieurs activités métaboliques.

Le tendon transmet la force musculaire vers l'os et est exposé à des charges mécaniques répétitives, ce qui le rend vulnérable à des transformations pathologiques connues sous le nom de tendinopathies. La tendinopathie est un terme général qui inclut tous les troubles douloureux situés au niveau et aux alentours des tendons. Il s'agit d'un groupe de troubles musculo-squelettiques fréquemment rencontrés en pratique clinique.

Les traitements conventionnels comme les AINS, les infiltrations cortisoniques, la physiothérapie et l'exercice, la thérapie par onde de choc, la sclérothérapie, les patchs d'oxyde nitrique, la chirurgie et les facteurs de croissance ont démontré des résultats inconsistants.

Avec la multiplication des preuves justifiant l'utilisation des CSM dans plusieurs branches de la médecine, les cliniciens manifestent un intérêt considérable pour le traitement des pathologies tendineuses avec les CSM(299).

Le rationnel derrière l'utilisation des CSM pour ces pathologies est d'activer et de promouvoir le processus de guérison en exploitant le potentiel régénératif de ces cellules. Ainsi, une attention particulière a été portée à l'utilisation de ces cellules multipotentes, qui correctement stimulées par des facteurs endogènes et exogènes, peuvent être activées et

différenciées en cellules spécifiques du tissu. L'activité paracrine des CSM permet également de stimuler les cellules de l'hôte et d'agir sur la MEC. Ce processus rend la régénération tendineuse possible avec l'avantage de rétablir les constituants vivant du tendon sans réactions immunitaires ni morbidité du site donneur(300).

2. La thérapie par CSM dans les tendinopathies :

2.1. Les tendinopathies de l'épaule :

L'épaule est l'articulation la plus mobile du corps humain, ce qui génère des contraintes mécaniques intenses sur les moyens de stabilisation de cette articulation, dont les tendons. La coiffe des rotateurs est une entité anatomique regroupant un ensemble de muscles et de tendons, responsable du centrage de la tête humérale, de la stabilisation de l'épaule et de sa mobilité. Les lésions à ce niveau peuvent être la cause de douleurs au mouvement , d'inflammation et de rupture tendineuse à l'origine d'un handicap pour le patient (301).

La rupture des tendons de la coiffe des rotateurs est fréquente chez les sujets de plus de 60 ans. Ces ruptures sont la conséquence de traumatismes, ou peuvent de développer graduellement par un processus mécano-inflammatoire. Ils occasionnent une douleur, une faiblesse et un handicap du membre supérieur. Dans ce contexte dégénératif et malgré l'amélioration des techniques chirurgicales, la fonction tendineuse est souvent irrécupérable. Le taux d'échec de ces chirurgies varie de 25 à 90% (302). Ces résultats peu satisfaisants ont encouragé le développement des thérapies cellulaires.

Les cellules autologues spécifiques de tissu (ténocytes et leurs précurseurs) représentent en théorie le gold standard pour la régénération tendineuse en thérapie cellulaire. Cependant, l'isolement de ces cellules est difficile en raison de leur nombre réduit, de la densité de la MEC et de leur capacité réduite de réplication en culture (303). Les CSM constituent donc une source alternative de cellules pour la réparation tendineuse.

La différenciation des CSM en ténocytes et ténoblastes a été prouvée in vitro. Il existe également plusieurs modèles animaux d'application des CSM pour la régénération et la réparation tendineuse (304) .

a. Les modèles animaux :

Chen et coll. (305) ont utilisé un modèle de blessure de la coiffe des rotateurs induite par collagénase chez des rats. Trois jours après la blessure, ils ont injecté des CSA au niveau du tendon pendant le processus de guérison, tandis qu'un groupe de contrôle a reçu du sérum salé sans aucune réparation chirurgicale. Chez les rats traités, l'arrangement des fibres et l'organisation tendineuse ont été améliorés avec une baisse significative du nombre de cellules inflammatoires. Mieux encore, la charge entraînant la rupture était considérablement plus élevée.

Dans un modèle de réparation de la coiffe des rotateurs chez des lapins, Kim et coll. (307) ont noté que les lapins traités par l'injection de CSA en intramusculaire au niveau de la jonction musculo-tendineuse avaient une meilleure réparation tendineuse par rapport au groupe de contrôle (recevant une injection de sérum salé). Cette réparation semble faire intervenir L'IGF-1 qui était surexprimé chez ces lapins.

Les CSM dérivées du sang du CO ont été également utilisées dans une étude de Park et coll. (308) qui ont réussi à réparer 7 tendons rompus sur 10 par l'injection écho-guidée de CSM chez un modèle de lapins et sans intervention chirurgicale.

Cependant, dans une autre étude de réparation de la coiffe des rotateurs chez un modèle de rat (306), l'application des CSA a échoué dans l'amélioration des propriétés biomécanique d'une enthèse en phase de guérison. Toutefois, les tendons des rats traités par CSA ont démontré une inflammation tissulaire moindre, conduisant à un tissu cicatriciel se rapprochant de celui d'un tendon normal.

Les échafauds ont également été testés in vivo sur modèles animaux. Tornero-Esteban et coll. (309) ont récemment étudié l'utilisation des CSM pour des défauts tendineux chirurgicalement induits chez des rats, en comparant l'implantation des CSM avec un échafaud

de collagène de type I aux sutures seules ou à l'implantation d'un échafaud vierge. L'implantation des CSM sur échafaud semble améliorer au fil du temps le seuil de charge maximale des tendons.

Omi et coll. (310) ont également employé un modèle de réparation du tendons du supra-épineux chez des rats pour évaluer l'utilisation d'un matériau composite formé de plusieurs couches de tranches de tendon sur lequel ont étéensemencées des CSM dérivées de la MO. Les rats traités par cette combinaison avaient des tendons plus résistants et plus rigides que les tendons traités par le matériau multicouche uniquement, à 6 semaines après l'administration.

Kim et coll. (311) ont comparé un échafaud tridimensionnelensemencé de CSM dans un modèle de lésion aigue des tendons de la coiffe chez des lapins versus le même échafaud seul. Ils ont démontré que les CSM avaient une survie prolongée sur l'échafaud, en plus d'une production de collagène de type I supérieure chez les lapins recevant l'échafaudensemencé.

b. Les études cliniques:

Une étude conduite par Ellera Gomes et coll. (312) a inclus 14 patients avec des ruptures complètes des tendons de la coiffe, qui ont été fixées par des sutures trans-osseuses. Les patients ont reçu également une injection de cellules mononucléées de la moelle osseuse en per opératoire au niveau des bords tendineux. Après un suivi d'un an, le score UCLA (University of California at Los Angeles shoulder score) a été amélioré. L'analyse IRM à un an a montré un rétablissement de l'intégrité tendineuse chez la totalité des cas. Les auteurs concluent que la transplantation des cellules mononucléées de la MO dans les sutures des tendons de la coiffe constitue une thérapie prometteuse et sans risques. Notons que les cellules mononucléées de la MO comprennent plusieurs cellules dont les CSM mais à des concentrations faibles.

Taniguchi et coll. (313) ont inclus dans leur étude un total de 111 patients atteints de ruptures chroniques de la coiffe des rotateurs. Les patients ont été répartis en un groupe ayant bénéficié d'une réparation arthroscopique avec stimulation de la moelle osseuse au niveau de la réparation par forage de l'os sous jacent (68 épaules), et un autre groupe qui a bénéficié d'une

réparation arthroscopique seule (44 épaules). Le taux de récurrence des ruptures évalué par IRM était de 23,9% dans le groupe sans stimulation contre 9.1% chez le groupe dont la moelle osseuse a été stimulée. Le taux de récurrence des ruptures de taille moyenne était comparable entre les deux groupes, tandis que les ruptures larges étaient nettement moins fréquentes chez le groupe bénéficiant de la stimulation (4,5% contre 28,6%).

Hernigou et coll. (314) ont injecté des CSM autologues dérivées de la MO comme adjuvant à la réparation arthroscopique des tendons de la coiffe à 45 patients et les ont comparés à 45 autres patients bénéficiant uniquement de la réparation arthroscopique. Les patients recevant les CSM ont tous achevé la guérison tendineuse à 6 mois, contre 67% des patients du groupe de contrôle selon les résultats de l'échographie et de l'IRM. A 10 ans de suivi, 87% des patients traités par CSM ont conservé l'intégrité des tendons contre 44% du groupe de contrôle. Les patients ayant perdu l'intégrité de leurs tendons dans le groupe traitement sont ceux ayant reçu une dose moindre de CSM.

Dans une étude de Jo et coll. (315) 57 patients sur 124 atteints d'une rupture totale de la coiffe des rotateurs ont subi une réparation arthroscopique avec une canalisation multiple (forage de la grande tubérosité pour la remontée de précurseurs de la MO), les 67 autres patients ont subi une réparation arthroscopique simple. Les auteurs ne rapportent pas de différence statistiquement significative entre les deux groupes en termes de résultats cliniques (douleur, amplitude articulaires, force musculaire, satisfaction globale des patients et scores fonctionnels). La récurrence des ruptures évaluée par IRM montre que les patients traités par canalisation multiple avaient moins de récurrences (22.2%) par rapport aux patients bénéficiant de la réparation arthroscopique seule (45,2%). Cette réduction de récurrence est due, selon les auteurs, aux recrutements des CSM de l'humérus proximal.

Dans un essai clinique randomisé à double aveugle, Lamas et coll. (316) ont évalué la sécurité et l'efficacité des CSM chargées sur un échafaud de collagène d'origine animale (orthADAPT) en traitement complémentaire de la réparation chirurgicale des ruptures totales des tendons de la coiffe des rotateurs. Parmi les 32 patients inclus dans l'étude, 13 seulement ont

été traités en raison de l'apparition d'effets secondaires majeurs qui ont conduit à l'arrêt de l'étude. Sur les 13 patients traités, 8 patients ont reçu des échafauds trempés pendant 10 minutes dans un concentré de CSM autologues dérivées de la MO après culture, les 5 autres patients ont reçu des échafauds trempés dans du sérum physiologique. Les patients du groupe intervention ont présenté une amélioration statistiquement significative du score CMS (Constant-Murley score) par rapport aux patients du groupe de contrôle. Il n'y avait pas de différence en termes de douleur selon l'EVA ou de guérison tendineuse selon l'évaluation par IRM entre les deux groupes. Les effets secondaires étaient une constitution de tissu inflammatoire en sous acromial et le développement de kystes supra claviculaires chez certains patients des deux groupes. Les réactions inflammatoires étaient similaires à celles constatées lors de la présence d'un corps étrangers. Les auteurs en concluent que l'échafaud utilisé est à l'origine des effets secondaires et recommandent d'éviter l'utilisation des échafauds pour les petites articulations et d'utiliser des échafauds non xénogéniques pour les grandes articulations.

Une étude récente de Jo et coll.(317) a concerné 19 patients atteints de ruptures partielles des tendons de la coiffe des rotateurs. 9 patients ont été subdivisés en 3 groupes de 3, recevant chacun des doses différentes de CSA autologues (entre 10^7 et 10^8 de cellules) injectées par échoguidage au niveau des tendons rompus. Un autre groupe de 10 patients ont tous reçu 10^8 de CSA. Aucun effet secondaire majeur n'a été rapporté sur une période de 2 ans de suivi. Tous les patients traités rapportent en moyenne une diminution de 90% de la douleur à 1 et 2 ans de suivi, avec une amélioration plus marquée chez les patients recevant les doses élevées de CSA. La force musculaire du supra-épineux, de l'infra-épineux et du petit rond ont significativement augmenté (de plus 50% en moyenne) chez les patients recevant les doses élevées. Les scores fonctionnels de l'épaule ont également été améliorés chez tous les patients. Les résultats structuraux évalués par IRM montrent une quasi disparition des défauts tendineux chez le groupe haute dose au bout d'un an, avec une absence de récurrence à 2 ans. Aucun des patients traités n'a présenté une aggravation sur tous les paramètres étudiés par rapport à l'état précédent l'injection. Les auteurs affirment donc que les CSA autologues constituent une thérapie sans risque dotée d'une efficacité durable et dose dépendante dans le traitement des ruptures partielles des tendons de la coiffe.

2.2. Autres tendinopathies :

La première étude traitant les tendinopathies en utilisant les CSA a été conduite par Lee et coll. (318) sur une série de 12 patients atteints d'épicondylite latérale. Les patients ont reçu des CSA autologues en injection intra-tendineuse par écho-guidage. Un suivi échographique a eu lieu à 6, 12, 26 et 52 semaines après le traitement. Les résultats ont démontré que la thérapie par les CSA était sans risque (absence d'effets secondaires majeurs) et efficace sur la douleur (évaluée par l'EVA), la fonction du coude (évaluée par l'index de performance de la Mayo Clinic) et les lésions structurales (évaluées par les défauts tendineux par échographie).

Usuelli et coll. (319) ont comparé l'injection des cellules de la FSV (fraction stromale vasculaire) du tissu adipeux à l'injection de PRP pour le traitement de la tendinopathie du tendon d'Achille. La FSV contient plusieurs précurseurs, entre autres des CSA. Les 56 patients de cette étude ont été aléatoirement répartis entre des groupes de traitement recevant le PRP ou la FSV. Les deux thérapies cellulaires ont été administrées par injection locale, les patients ont ensuite été suivis par l'examen clinique, l'IRM et par l'échographie à intervalles régulières pendant 6 mois. Les résultats ont montré que le PRP et la FSV permettent une amélioration clinique en termes de réduction de la douleur et du rétablissement de la fonction. Toutefois, les patients traités par la FSV ont démontré une amélioration plus rapide, sans qu'aucun des deux groupes n'ait eu d'amélioration significative sur les images échographiques ou par IRM.

Une série de cas de 8 patients atteints d'une tendinopathie patellaire chronique réfractaire au traitement non chirurgical a évalué l'utilisation d'injections intra-tendineuse de concentré d'aspirat de la MO (320). Les auteurs rapportent une amélioration significative de la douleur et des scores d'activité du genou. Parmi les 8 patients traités, 7 affirment être prêts à subir l'intervention à nouveau si nécessaire, tout en décrivant leurs résultats d'excellents. Le nombre de cellules utilisées dans cette intervention était de 45 000 cellules nucléées (dont un nombre de CSM).

Tableau VII : Résumé des études cliniques humaines utilisant les CSM ou produits apparentés dans les tendinopathies :

Etude	tendinopathie	Sujets (i/c)	Cellules	Nombre de cellules	administration	suivi	Imagerie	Résultat clinique	Autres résultats
Ellera Gomes 2011 (312)	Rupture totale d'un tendon de la coiffe	14	Cellules mononucléées autologues de la MO	3.81×10^8	Injection au niv. de la JOT avec suture	12 mois	IRM : intégrité tendineuse chez 13/14 des patients	Augmentation de l'UCLA de 12 à 31	ND
Pascual-Garrido 2011 (320)	Tendinopathie patellaire	8	Cellules mononucléées autologues de la MO	30×10^3	Injection intra tendineuse écho-guidée	5 ans	Echographie ; amélioration sur échographie chez 6 patients sur 8	Amélioration du KOOS, de l'IKDC, du Tegner, du Lysholm et du SF-12	7 patients sur 8 sont satisfaits du résultat et prêts à subir l'intervention à nouveau si nécessaire
Hernigou 2014 (314)	Ruptures des tendons de la coiffe des rotateurs	90 (45/45)	CSM de MO autologues à partir de concentré d'aspirat médullaire	51,000	Réparation arthroscopique, dans les 2 groupes, avec injection des CSM au niveau du site de suture et de la JOT dans le groupe Intervention	10 ans	IRM : cicatrisation tendineuse à 6 mois chez 100% du groupe i contre 67% du groupe c. Récidive à 10 ans de 13% dans le groupe i contre 66% du groupe c	ND	ND
Lee 2015 (318)	Epicondylite latérale	12	CSA allogéniques avec culture	10^6 et 10^7	Injection intra-tendineuse écho-guidée avec colle de fibrine	52 semaines	Echographie : diminution de la surface des défauts sans différence entre les doses	Diminution de l'EVA en moyenne de 6,6 à 1,4 sans différence entre les doses.	Augmentation du MEPI en moyenne de 64 à 90 sans différence entre les doses.

Tableau VII : Résumé des études cliniques humaines utilisant les CSM ou produits apparentés dans les tendinopathies (suite) :

Etude	tendinopathie	Sujets (i/c)	Cellules	Nombre de cellules	administration	suivi	Imagerie	Résultat clinique	Autres résultats
Uselli 2017 (319)	Tendinopathie d'Achille	44(21/23)	Fraction stromale vasculaire autologue du tissu adipeux	ND	Injection intra-tendineuse de la FSV chez 21 patients. Injection intra-tendineuse de PRP chez 23 patients	6 mois	IRM : Pas de réduction significative de la surface lésionnelle dans les deux groupes	Diminution de l'EVA en moyenne de 6,4 à 2.1 chez les deux groupes avec une diminution plus rapide dans le groupe SVF	Amélioration des scores fonctionnels sans différence significative entre les deux groupes
Lamas 2019 (316)	Rupture totale d'un tendon de la coiffe	13(8/5)	CSM de la MO autologues, avec culture	20x10 ⁶	Réparation tend-ineuse à ciel ouverte avec recouvrement des sutures avec un échafaud de colla-gène, avec ajout des CSM dans le groupe i	12 mois	IRM : Cicatrisation chez 3/8 patients du groupe i, et 2/5 du groupe c.	Diminution de l'EVA : -de 8,1 à 2,8 dans le groupe i -de 8,2 à 2,2 dans le groupe c.	Inflammation, récurrence et ganglions supra-claviculaires chez 4 patients.
Jo 2020 (317)	Rupture partielle d'un tendon de la coiffe des rotateurs	19	CSA autologues avec culture	1, 5 et 10x10 ⁷	Injection intra-tendineuse écho-guidée	2 ans	Diminution significative du volume des ruptures du côté bursal chez tous les patients dans le groupe haute dose.	Diminution de l'EVA de 90% en moyenne chez tous les patients, majorée chez les patients recevant 10x10 ⁷ de CSA	Augmentation de la force musculaire de 50% dans le groupe haute dose. Scores fonctionnels améliorés chez tous les patients.

CSA : Cellules souches mésenchymateuses dérivées du tissu adipeux ; CSM : Cellules souches mésenchymateuses ; EVA : échelle visuelle analogique ; i/c : intervention/contrôle ; IKDC : International Knee Documentation Committee score ; IRM : Imagerie par résonance magnétique ; JOT : jonction ostéo-tendineuse ; KOOS : Knee Injury and Osteoarthritis Outcome Score ; MO : Moelle osseuse ; SF-12 : Short Form 12 ; UCLA : University of California at Los Angeles Shoulder Score.

2.3. Au total :

Les études cliniques évaluant la sécurité et l'efficacité des CSM dans la pathologie tendineuse restent donc limitées par leur nombre et leur méthodologie. Plusieurs études sont en cours d'élaboration. Cependant, compte tenu des études mentionnées ci-dessus, l'application des CSM en pratique clinique dans les tendinopathies est encore en manque de preuves solides. Ceci dit, les CSM présentent des promesses d'efficacité comme le démontrent les modèles animaux et certaines études cliniques. La tendinopathie de la coiffe des rotateurs est l'indication la mieux étudiée et rapportant des résultats globalement positifs, mais des ECT avec des échantillons plus représentatifs sont nécessaires pour pouvoir tirer des conclusions claires qui affecterait les habitudes cliniques en vigueur.

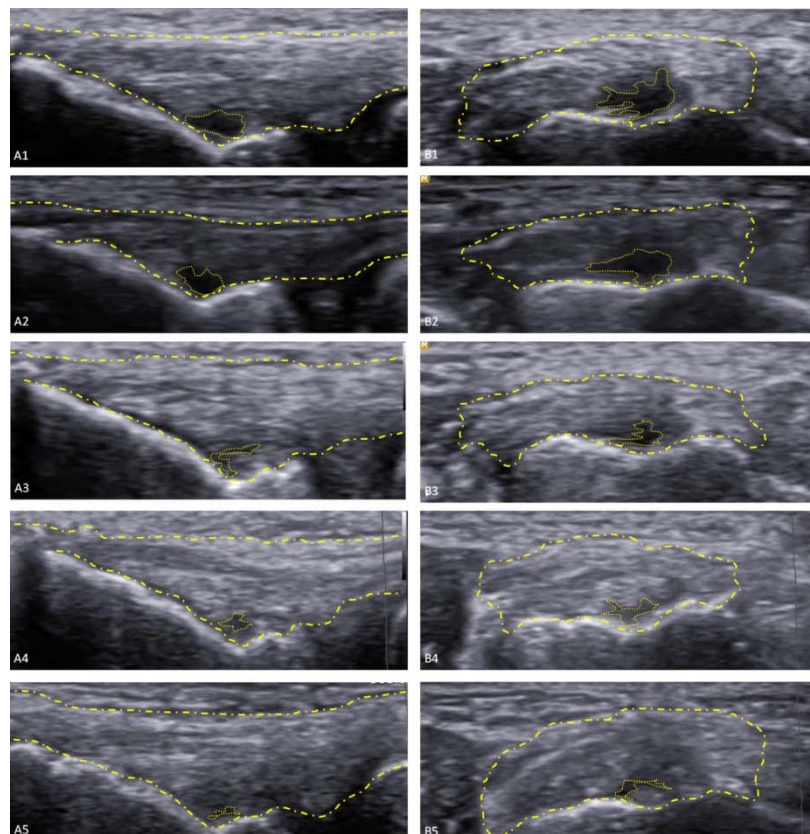


Figure 22 : Evolution d'une épicondylite latérale chez un patient traité par CSA allogéniques à l'échographie en coupes longitudinale (gauche) et axiale (droite). Les points tillés jaunes indiquent l'origine du tendon extenseur commun, la ligne continue jaune cerne le défaut tendineux. (A1/B1: jour 0, A2/B2: 6 semaines, A3/B3: 12 semaines, A4/B4: 26 semaines, and A5/B5: 52 semaines après l'injection). (Lee et coll. (318)).

V. Le ligament squelettique :

1. Les blessures ligamentaires :

Les ligaments squelettiques sont des bandes denses de tissu collagèneux qui pontent une articulation et s'amarrent aux deux extrémités de l'os aux niveaux des insertions ligamentaires. Ils disposent d'une couche superficielle appelée épiligament qui est plus vascularisée, plus cellulaire et plus innervé (par des fibres proprioceptives) et se confond avec le périoste des os adjacents. Le tissu recouvert par cette couche est organisé en fibres parallèles, qui malgré leur adhérence, agissent différemment selon les forces de tension appliqués par les mouvements de l'articulation.

A l'échelle microscopique, les ligaments sont composés de cellules appelées fibroblastes, qui sont entourées d'une matrice extracellulaire. Les fibroblastes synthétisent la matrice, et sont peu nombreux, ils ne représentent qu'un faible pourcentage du volume ligamentaire. Ces cellules semblent isolées, mais des études suggèrent la présence d'extensions cytoplasmiques en réseau tridimensionnel permettant la communication et la coordination de l'activité métabolique intercellulaire.

La fonction principale des ligaments est mécanique. Ils stabilisent passivement les articulations et les guident dans leurs amplitudes normales de mouvement. Ils participent également à l'homéostasie de l'articulation par leurs propriétés visco-élastiques. Les ligaments jouent aussi un rôle important dans la proprioception articulaire, en fournissant un feedback neurologique lors de leur étirement pour activer une contraction musculaire générant un mouvement inverse pour maintenir la stabilité et l'intégrité de l'articulation (321).

La blessure ligamentaire et les efforts de reconstruction demeurent un thème central dans la pratique orthopédique. La nature relativement avasculaire du ligament et sa faible capacité innée de guérison représentent un challenge à la chirurgie ligamentaire. Les blessures du ligament croisé antérieur du genou (LCA), sont l'une des plus fréquentes, et présentent un vrai défi lors des ruptures proximales.

2. Les CSM dans la thérapie des lésions ligamentaires :

Les CSM présentent l'avantage de promouvoir une vraie réparation ligamentaire permettant d'éviter les co-morbidités du site de prélèvement du greffon, la tunnelisation et la fixation lors des ligamentoplasties. Les efforts de recherche actuels évaluant la place des CSM dans la réparation tendineuse se concentrent essentiellement sur le LCA vu la fréquence des blessures intéressant ce ligament, ainsi que la morbidité que ces blessures engendrent pour le patient(322).

2.1. Modèles animaux

Les modèles animaux ont été utilisés à cette fin et affichent des résultats généralement positifs. Kenaya et coll. (323) rapportent que l'injection intra articulaire de CSM dérivées de la MO après une transection partielle du LCA chez des rats a permis une guérison tissulaire au niveau de la section avec une charge maximale supérieure mesurée à 4 semaines par rapport aux rats ayant subi la transection partielle sans autre traitement.

Des résultats similaires ont été rapportés par Oe et coll.(324) qui ont observé une amélioration histologique et biomécanique en administrant de l'aspirat médullaire ou des CSM cultivées en injection intra-articulaire à des rats avec une transection partielle du LCA en comparaison à des rats recevant uniquement du sérum salé.

Ju et al. (325) ont administré des cellules souches mésenchymateuses dérivées de la membrane synoviale chez des rats avec une section du tendon d'Achilles. Les auteurs ont suturé le tendon sectionné dans un tunnel osseux sur lequel ils ont administré les CSM chez la moitié des rats, avec l'autre moitié subissant la même intervention sans CSM. L'analyse histologique des deux groupes leur a permis de constater que les CSM permettent une accélération du remodelage de la jonction ostéo-ligamentaire.

2.2. Les études cliniques

La littérature évaluant l'apport des CSM dans la pathologie ligamentaire chez l'humain est rare, la plupart des études cliniques n'ont été publiées qu'à partir de 2017(326).

Le plus haut de niveau de preuve revient à l'étude de Wang et coll. (327) qui ont mené un essai clinique randomisé à double aveugle, étudiant l'injection intra-articulaire unique de 75 millions de CMP allogéniques (Cellules mésenchymateuses précurseuses immatures) en association avec un support d'acide hyaluronique (AH) pour des patients subissant une reconstruction du LCA. Ces cellules ont été prélevées à partir de la MO de donneurs sains. Les patients recevant les CMP ont démontré une amélioration significativement supérieure dans les score KOOS et SF-36 durant 24 mois de suivi par rapport au groupe recevant l'AH seul. Le groupe des CMP a également noté une diminution significative du pincement articulaire tibio-fémoral latéral. Aucun effet secondaire majeur n'a été rapporté. Les mesures spécifiques de guérison du LCA comme la classification clinique de laxité ou l'incorporation du greffon sur IRM n'ont pas été analysées dans cette étude.

Centeno et coll. (328) ont rapporté les résultats de 29 patients présentant des ruptures symptomatiques du LCA gradées 1 à 3 avec moins d'un centimètre de rétraction, traités par l'injection sous guidage fluoroscopique de 2 à 5 mL de concentré d'aspirat de MO combiné à du PRP et du lysat plaquettaire par voie percutanée au niveau du LCA et de l'espace intra-articulaire. À 8 mois de suivi en moyenne, 77% des patients traités ont présenté une amélioration significative de l'intégrité du LCA selon l'analyse par IRM, ainsi qu'une amélioration de l'EVA et du score IKDC à partir d'un mois et à hauteur de 24 mois après l'injection. Ces effets n'ont pas été rapportés à long terme, et 5 patients ont dû subir une reconstruction chirurgicale du LCA. Le degré de contribution des CSM à travers le concentré d'aspirat médullaire dans les résultats rapportés n'est pas clair.

Selon le site web de la librairie nationale de médecine (NLM) branche de l'institut national de santé américain (NIH), 3 études évaluant les CSM dans la pathologie ligamentaire sont en cours de déroulement à la date d'aout 2020.

A la date de la rédaction de ce travail, nous constatons une pauvreté relative en preuves pour l'utilisation des CSM dans la réparation et la chirurgie ligamentaire. Cependant les résultats des études animales et les quelques études cliniques appuient le potentiel réparateur et immuno-modulateur des cellules souches dans cette indication, justifiant de plus amples investigations.

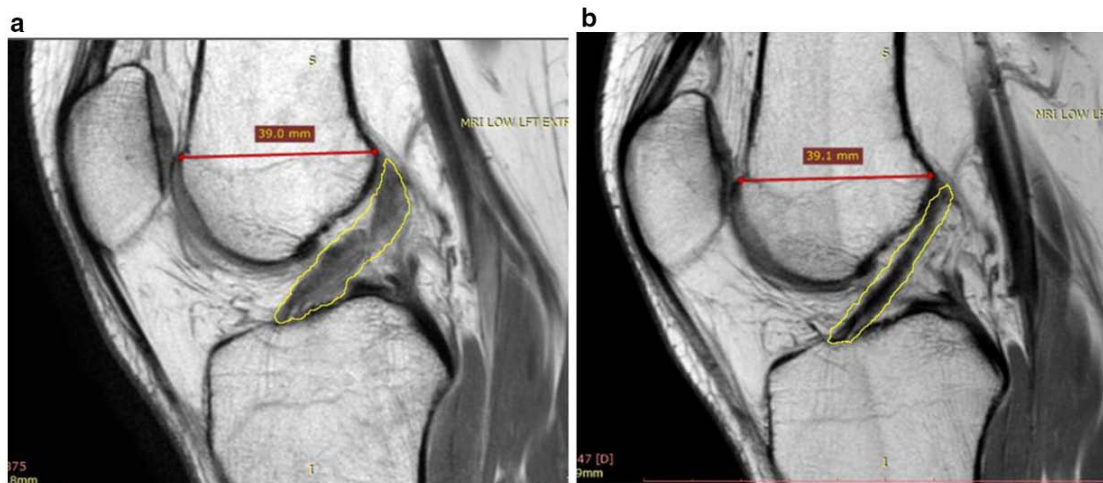


Figure 23 : IRM montrant la progression de la guérison du LCA (contourné en jaune) d'un patient traité par injection de concentré d'aspirat moelle osseuse et de lysat plaquettaire. (a) image avant l'intervention montrant le LCA blessé. (b) image à 22 mois après le traitement, montrant un ligament plus sombre et plus dense, indiquant sa guérison. (Centeno et coll. (328))



**INTÉRÊT DES CHIRURGIENS
ORTHOPÉDISTES EXERÇANT AU
MAROC POUR LA THÉRAPIE PAR
CELLULES SOUCHES
MÉSENCHYMATEUSES**



Dans le cadre de notre travail, une enquête d'opinion auprès des chirurgiens orthopédistes exerçant au Maroc semble intéressante, dans le but de recueillir leur intérêt et leur besoin en cette technique, en plus d'étudier la possibilité d'une future coopération avec les chirurgiens de la région de Marrakech-Safi, aussi bien pour le recrutement des patients, que pour la généralisation de la thérapie par CSM.

I. Matériel et méthodes :

Une fiche d'enquête d'opinion a été réalisée (voire annexe) pour avoir une idée sur l'intérêt et le besoin du chirurgien en pratique pour la thérapie par CSM, ainsi que l'intérêt de cette technique pour chaque indication. La dernière partie du questionnaire est réservée aux chirurgiens de la région Marrakech-Safi pour les interroger sur leur volonté de collaborer avec le service de traumatologie orthopédie B du CHU Mohammed VI et le centre de recherche clinique pour développer l'utilisation de cette technique.

La majorité des chirurgiens interrogés ont été abordés durant la 37^{ème} édition du congrès la Société Marocaine de Chirurgie Orthopédique et Traumatologique « SMACOT » qui s'est tenu entre le 25 et 27 avril 2019 à Marrakech. Certains chirurgiens ont été contactés au niveau de leurs lieux d'exercice. La réponse aux questionnaires a été faite en face-à-face par un enquêteur.

II. Résultats :

100 fiches ont été prévues à cet effet, 73 ont été remplies, soit un taux de réponse de 73%. Les 73 chirurgiens ayant répondu sont répartis comme suit :

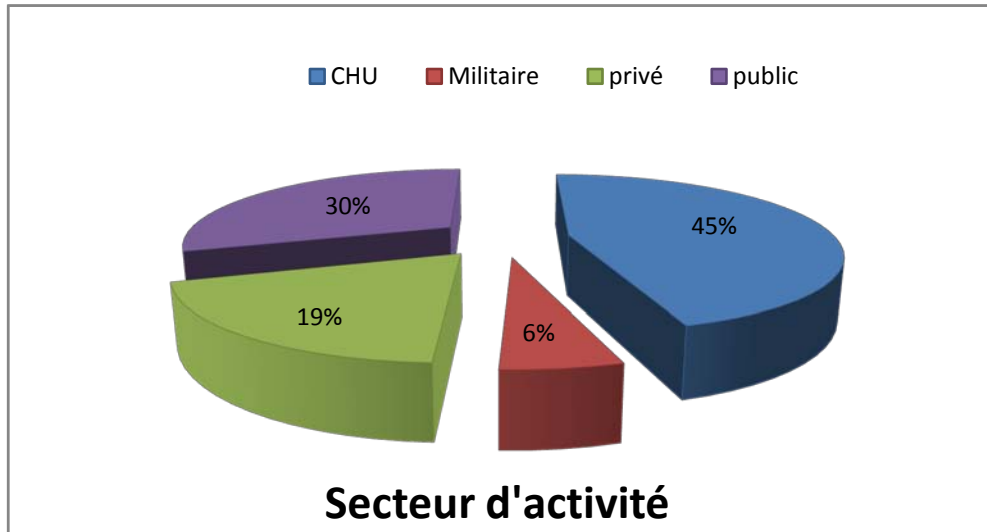


Figure 24 : Répartition des orthopédistes selon le secteur d'activité

Les chirurgiens des CHU interrogés se composent d'un professeur de l'enseignement supérieur, de 4 professeurs agrégés, d'un professeur assistant et de 31 résidents, répartis sur l'ensemble du territoire mais majoritairement issus de Marrakech (13), Casablanca (9), et de Oujda (6).

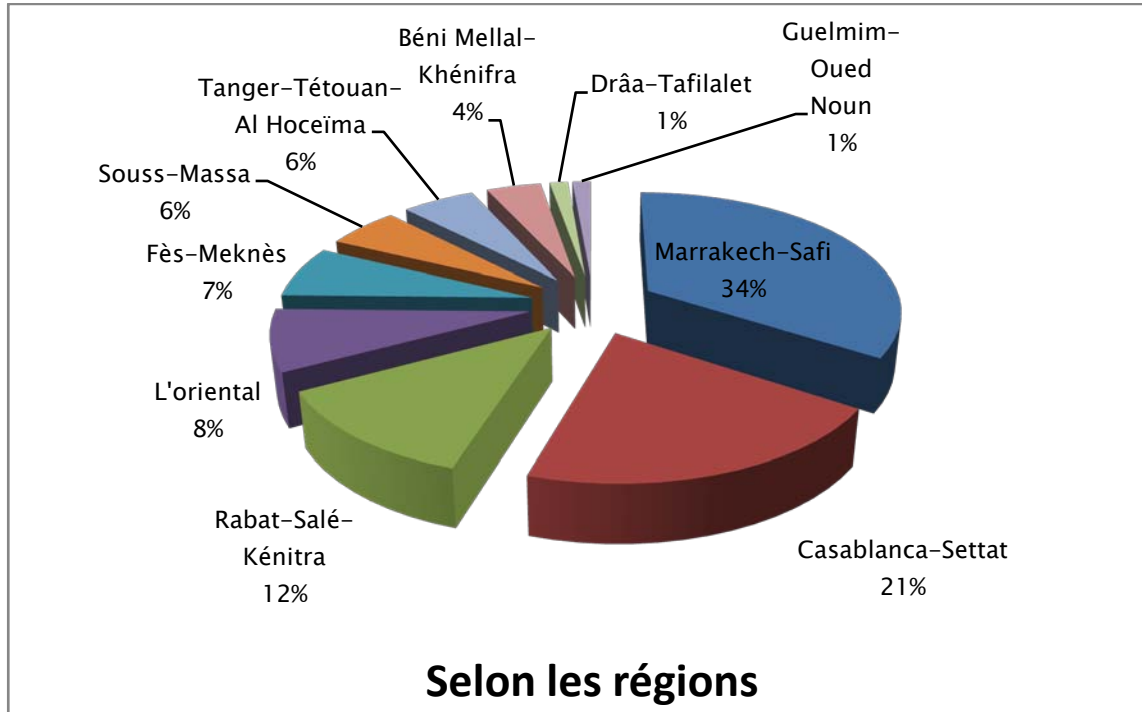


Figure 25 : Répartition des orthopédistes selon les régions.

Parmi les 73 chirurgiens interrogés, 68 se disent intéressés par l'utilisation des CSM soit 93,15%, contre 5 qui ne se disent pas intéressés.

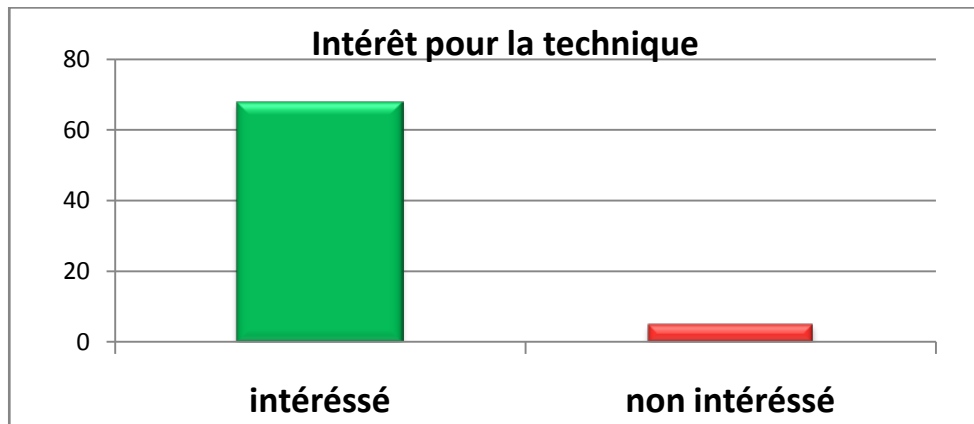


Figure 26 : intérêt des orthopédistes pour les CSM.

22 chirurgiens de la région Marrakech-Safi sur 25 se sont dits intéressés par l'utilisation des CSM soit 88%. Cependant, la question sur le besoin ressenti d'utiliser les CSM en pratique a ramené des résultats similaires à la question précédente concernant l'intérêt, avec 6 chirurgiens ne ressentant pas le besoin d'utiliser les CSM dans leur pratique soit 8,2% de l'ensemble des chirurgiens interrogés.

Les raisons pour lesquelles les cellules souches ne sont pas une thérapie intéressante pour certains chirurgiens étaient principalement « le manque de preuves d'efficacité et « la non disponibilité courante des moyens techniques et financiers ».

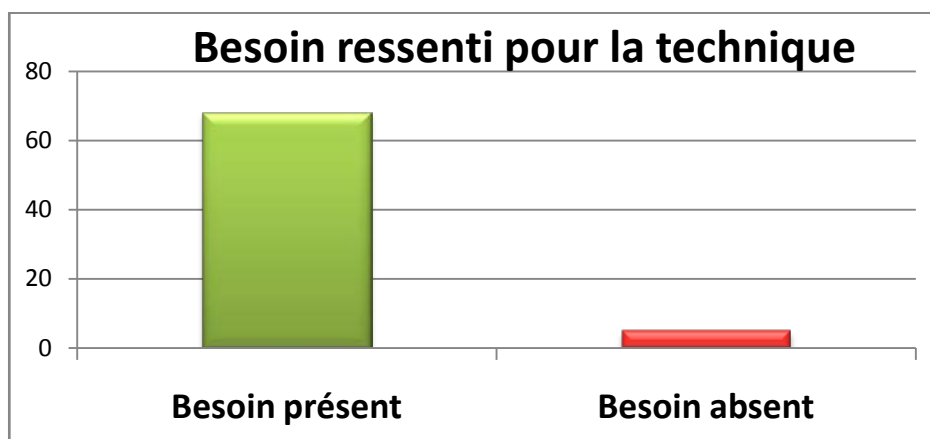


Figure 27 : Besoin des orthopédistes pour l'utilisation des CSM.

Les chirurgiens ont également été appelés à évaluer les indications dans lesquelles leur besoin d'utiliser les CSM se manifeste le plus, en leur attribuant un score de 1 à 4, où 1 représente l'absence de besoin, et 4 un besoin maximal. Ils ont eu à noter les indications suivantes : la pathologie arthrosique, la pseudarthrose, l'ostéonécrose, la pathologie musculo-tendineuse et ligamentaire.

Les moyennes des scores attribués à chaque indication étaient comme suit :

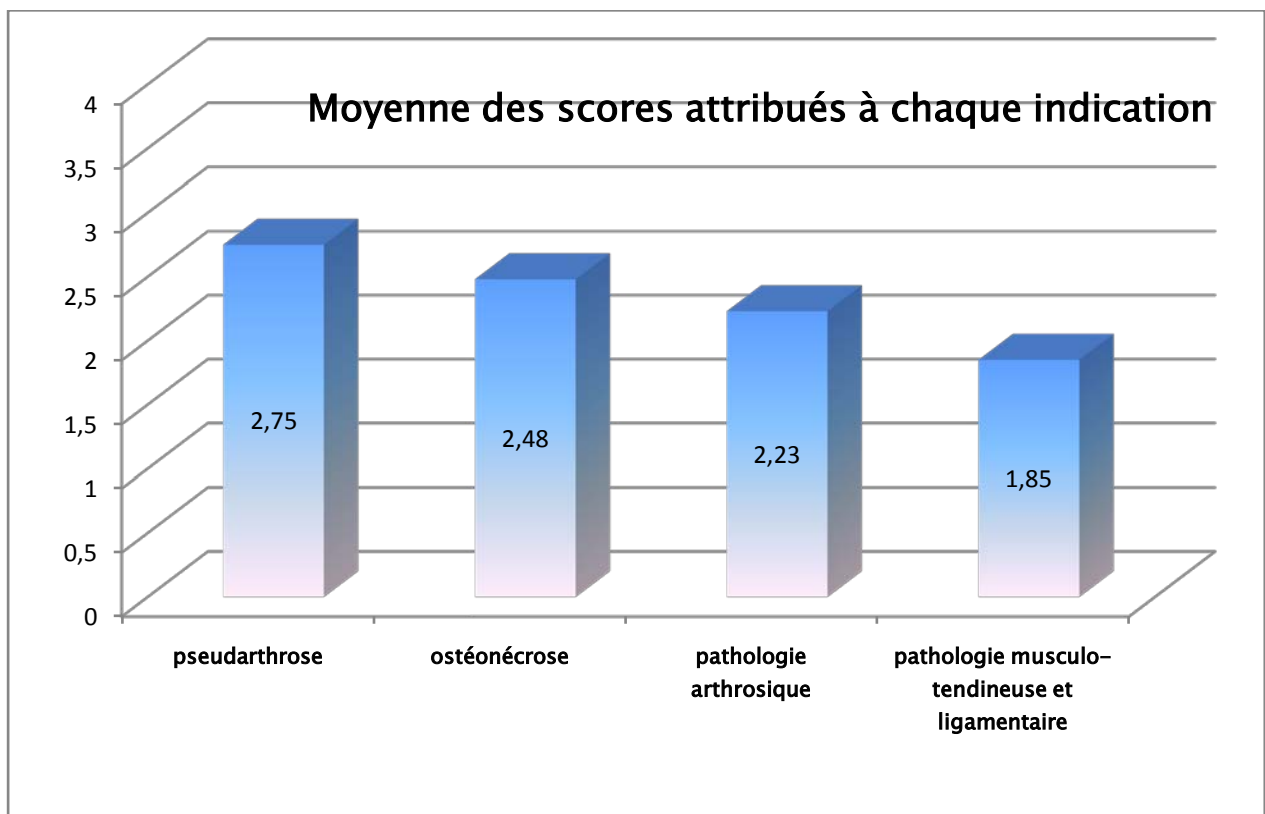


Figure 28 : Moyenne des scores attribués pour chaque indication selon le besoin ressenti

La pseudarthrose semble être l'indication où le besoin d'utiliser les CSM est le plus ressenti par les chirurgiens avec un score de 2,75 sur 4 en moyenne, tandis que la pathologie musculo-tendineuse et ligamentaire semble susciter le moins de besoin, affichant une moyenne de score de 1,85 sur 4. Notons que pour les chirurgiens ayant répondu ne pas ressentir de besoin d'utiliser les CSM en pratique, le score de 1 à été comptabilisé pour toutes les indications.

Parmi les 73 chirurgiens interrogés sur les autres applications potentielles des CSM qu'ils connaissent en dehors de celles citées dans la question précédente, 7 seulement ont répondu comme suit :

- 5 chirurgiens ont évoqué la perte de substance osseuse.
- 2 chirurgiens ont évoqué la pathologie méniscale.

Les 25 chirurgiens de la région Marrakech-Safi interrogés ont tous répondu positivement quant à leur intention de coopérer avec le service de traumatologie et orthopédie B du CHU Mohammed VI de Marrakech et le centre de recherche clinique.

III. Discussion :

Nous avons interrogé un total de 73 chirurgiens. Les secteurs public et privé comptent respectivement 350 et 291 chirurgiens orthopédistes selon la carte sanitaire du ministère de la santé à la date d'octobre 2019. Notre échantillon constitue donc 6,55% des traumatologues orthopédistes en cours d'exercice si l'on exclue les 31 résidents interrogés qui sont actuellement en cours de formation.

Dans notre série, 93,15% des chirurgiens se disent intéressés par l'utilisation des CSM. Ceci reflète la tendance internationale dans le domaine de la chirurgie orthopédique, représentée par l'évolution exponentielle du nombre de publications traitant du sujet.

Les raisons avancées par les chirurgiens se disant non intéressés relèvent de l'absence de moyens et du manque de preuves scientifiques. En effet, la manipulation des CSM nécessite un plateau technique et des compétences particulières, ce qui fait que les coûts relatifs à leur utilisation en pratique ou en recherche cliniques soient onéreux. Quant au manque de preuves d'efficacité, ceci dépend de l'indication pour laquelle les cellules souches sont utilisées. Pour certains tissus ou pathologies, les CSM ont réellement fait leurs preuves, toutefois les sociétés savantes nationales et internationales tardent à admettre leur utilité. Dans d'autres indications, les données de littérature sont rares ou contradictoires. Ceci peut expliquer la réticence de certains chirurgiens interrogés.

6 chirurgiens seulement ont répondu ne pas ressentir le besoin d'utiliser les CSM dans leur pratique chirurgicale, dont 5 ont répondu également que la thérapie par CSM n'est pas une approche intéressante. Les 67 chirurgiens ayant répondu positivement est l'indicateur qu'un besoin réel existe. Ceci peut être expliqué par l'efficacité limitée des options thérapeutiques dans certaines pathologies ou la présence de patients réfractaires aux traitements usuels.

En ce qui concerne le besoin ressenti pour chaque indication, la pseudarthrose vient en tête, avec 21 chirurgiens (28,7%) lui ayant attribué un score maximal de 4, et 28 chirurgiens un score de 3 (38,3%) Le score moyen était de 2,75. En effet, la pseudarthrose, des os longs en particulier, est une complication assez fréquente dans notre pratique traumatologique et qui peut s'avérer rebelle au traitement conventionnel de décortication-greffe. Notre revue de la littérature a recensé un bon nombre de publications explorant l'apport des CSM dans le traitement de la pseudarthrose, avec une majorité d'études rapportant des résultats positifs, sans pour autant soutenir un haut niveau de preuve.

L'ostéonécrose vient en seconde position, avec un score moyen de 2,48 sur 4. Treize chirurgiens lui ont octroyé un score de 4 (17,8%), 26 chirurgiens l'ont noté 3 (35,6%) et 13 chirurgiens ont déclaré ne pas ressentir le besoin d'utiliser les CSM dans cette indication (23,8%). Les données revues dans la littérature indiquent que les CSM sont une option thérapeutique très intéressante pour le traitement de l'ostéonécrose aseptique de la tête fémorale avant le stade d'effondrement, utilisée le plus souvent en complément du forage, et démontrant presque constamment de meilleurs résultats que le forage seul. Le besoin ressenti pour cette indication s'aligne donc avec la force des preuves rapportées dans la littérature.

La pathologie arthrosique est 3^{ème} avec un score moyen de 2,23. Huit chirurgiens lui ont attribué un score de 4 (5,5%), 21 un score de 3 (28,7%) et 20 ont jugé ne pas ressentir de besoin pour cette indication (27,3%). L'arthrose est une pathologie extrêmement fréquente, qui à ce jour n'a pas de traitement pouvant arrêter sa progression ou régénérer le cartilage. La physiopathologie de l'arthrose comporte des contraintes mécaniques sur l'articulation, pouvant être traitées par la réaxation des membres, la ligamentoplastie et la perte pondérale, des

facteurs génétiques sur lesquels on ne peut pas agir, et enfin, un vieillissement cellulaire et matriciel. La thérapie par CSM cible la correction de ces anomalies celullo-matricielle avec l'avantage d'être moins invasive et moins onéreuse que la greffe autologue de cartilage. Toutefois, les données de la littérature que nous avons revues, quoique prometteuses, ne sont pas constamment positives, et démontrent une grande hétérogénéité dans l'origine des cellules utilisées, les doses administrées, le nombre d'injections, l'association à des adjuvants comme le PRP, ainsi que l'utilisation ou non d'échafauds. Cependant, devant l'absence d'un traitement conservateur freinant ou améliorant la maladie ayant fait ses preuves sur le plan histologique, le besoin en CSM semble amplement justifié.

En dernière position nous retrouvons la pathologie musculo-tendineuse et ligamentaire, avec une moyenne de score de 1,85. Neuf chirurgiens ont noté le degré du besoin à 4 et 6 chirurgiens l'ont noté à 3. Trente cinq des chirurgiens interrogés disent ne pas ressentir de besoin dans cette indication (48%) et 13 chirurgiens (17,3%) disent ressentir un besoin minimal. Si l'on compare ces résultats aux données retrouvées dans la littérature en termes de nombre de publications et du niveau de preuve, on constate que les CSM sont le plus investiguées dans les myopathies dégénératives (de Duchenne et autres dystrophies) qui sont plus du ressort du neurologue que de l'orthopédiste. Les études cliniques humaines sur les CSM dans la pathologie tendineuse et ligamentaires sont peu nombreuses. Le manque d'intérêt des chirurgiens interrogés sur ces indications semble rejoindre la tendance des communautés scientifique et orthopédique internationales.

Les 25 chirurgiens de la région Marrakech-Safi ont répondu positivement de façon unanime quant à leur intention de coopérer avec le centre de recherche clinique et le service de traumatologie orthopédie du CHU Mohamed VI de Marrakech, y compris les 3 chirurgiens de la région ayant répondu négativement aux questions concernant l'intérêt et le besoin ressenti pour la thérapie par CSM.

❖ **Limites de notre enquête :**

Partant du fait que les questionnaires ont été majoritairement renseignés lors de la 37^{ème} édition du congrès annuel de la SMACOT, un biais de sélection peut affecter nos résultats. En effet, les chirurgiens présents au congrès pourraient avoir un penchant pour la formation continue, les nouvelles techniques et la recherche scientifique. Le refus de certains chirurgiens de répondre à notre questionnaire pourrait être également à l'origine de la sélection de profils plus coopérants.

Nous avons aussi remarqué que les résidents constituent 42,4% des chirurgiens interrogés. Si cela retentit sur l'évaluation de l'intérêt des praticiens actuels pour les CSM, il contribue à prédire l'intérêt de la communauté dans un avenir proche où la technique prendra plus d'ampleur et pourra être intégrée dans les thérapies de routine.

Le corps des enseignants est également sous-représenté dans notre échantillon avec seulement 6 professeurs interrogés, dont un professeur hors CHU.

IV. Conclusion :

En somme, il semble que la communauté marocaine des traumatologues orthopédistes rapporte un intérêt pour la thérapie par CSM et exprime un besoin pour cette technique notamment pour le traitement de l'ostéonécrose, de la pseudarthrose et de l'arthrose. Nous jugeons qu'il est primordial d'éviter la perte de cet intérêt, comme il a été le cas pour le PRP : l'exagération des vertus de cette thérapie cellulaire dans le commerce, en plus de son utilisation abusive pour des indications non adaptées ont causé une perte d'intérêt rapide pour le PRP. Dans cette logique, il serait judicieux de réserver l'utilisation des CSM à un usage expérimental rigoureux au sein de l'hôpital universitaire aussi bien sur le plan technique que méthodologique, avant leur intégration dans d'autres structures. Il est également important pour les chirurgiens orthopédiques de mieux se renseigner sur la littérature scientifique évaluant l'apport des CSM pour chaque indication en évitant les généralisations sur leur efficacité dans les deux sens.

Les chirurgiens orthopédistes de la région Marrakech-Safi semblent également prêts à coopérer pour le développement de l'utilisation des CSM dans la région. Ceci est un indicateur positif pour le service d'orthopédie et de traumatologie B du CHU Mohammed VI, du fait que la coopération des orthopédistes de la région permettra un recrutement plus efficace des patients, mais également une opportunité pour ces patients de bénéficier d'un traitement éventuellement subventionné par l'hôpital dans le respect des conditions scientifiques. Cette volonté de coopération permettra également une extension plus facile de la technique dans le futur.



La place et les indications de la thérapie par cellules souches mésenchymateuses varient considérablement selon le tissu lésé et la pathologie causale.

Sur le plan technique, nous retenons que la source d'isolement la plus utilisée est la moelle osseuse, site initial de la mise en évidence des CSM. Le tissu adipeux semble gagner du terrain durant les dernières années grâce à la facilité de prélèvement et l'abondance des cellules souches obtenues, malgré leur infériorité par rapport aux CSM issues de la moelle en termes de différenciation ostéogénique et chondrogénique et d'auto-renouvellement (79,209). L'étape d'expansion ou de mise en culture, quoique non nécessaire, s'avère très utilisée en pratique en raison de la présence de preuves affirmant que les effets thérapeutiques sont doses-dépendants. Ces doses ne sont toutefois pas clairement définies. La technique d'administration dépend étroitement du tissu visé et de l'indication thérapeutique, allant de la simple injection transcutanée à la chirurgie à ciel ouvert en passant par l'arthroscopie et la chirurgie mini-invasive. L'utilisation des échafauds biologiques est souvent couplée à la thérapie par CSM et semble potentialiser considérablement les effets régénératifs.

Selon notre revue de la littérature, l'os semble être le tissu le plus étudié, notamment en matière de traitement de l'ostéonécrose aseptique de la tête fémorale. La littérature disponible dans cette indication comporte un nombre important d'essais cliniques randomisés qui rapportent des résultats globalement positifs pour l'utilisation des CSM, sans pour autant fournir des preuves définitives permettant leur intégration dans les protocoles cliniques en vigueur (119,129,130).

L'apport des CSM a également été étudié avec des essais cliniques dans la pseudarthrose des os longs. Les études publiées dans ce sens restent peu nombreuses malgré les résultats encourageants qu'elles rapportent, et tardent donc à concrétiser des conduites thérapeutiques reproductibles (174,181).

Les CSM (+/- échafauds) dans la perte de substance osseuse restent mal étudiées dans les essais cliniques humains, un effort considérable de recherche est nécessaire afin de développer leur utilisation dans cette indication.

Le cartilage articulaire a également fait l'objet de plusieurs études précliniques et cliniques explorant les CSM notamment dans la thérapie de la gonarthrose primitive. Le niveau de preuve que fournit la littérature est assez fort, ce qui motivé l'utilisation des CSM hors cadre de recherche (239,240). Toutefois, les résultats rapportés ne correspondent pas aux vertus « miraculeuses » avancées dans les campagnes marketing des fabricants de produits cellulaires et de certaines cliniques privées spécialisées. Il est cependant certain que dans un avenir proche, et en parallèle aux thérapeutiques existantes (correction des problèmes mécaniques et des défauts d'axes, perte pondérale, ligamentoplastie...) les cellules souches pourraient apporter une solution aux problèmes biologiques et histologiques de l'arthrose.

La réparation musculaire par CSM est encore limitée aux études précliniques. Il est constaté que les dystrophies musculaires et les pertes volumétriques de muscle (toxique, traumatique...) sont les pathologies qui ont le plus à gagner de cette approche thérapeutique. Les données retrouvées dans littérature rapportent un certain degré d'efficacité (277,282,295).

Les CSM représentent également une option intéressante pour le traitement des blessures méniscales (269,270). Les résultats des études animales ainsi que quelques données cliniques appuient le potentiel régénératif méniscal de cette thérapie dont l'exploitation en pratique nécessite des investigations cliniques plus approfondies.

Aussi, Les CSM semblent présenter des promesses d'efficacité dans la pathologie tendineuse comme le démontrent les modèles animaux et certaines études cliniques (317,319). La tendinopathie de la coiffe des rotateurs est l'indication la mieux étudiée et rapporte des résultats globalement positifs. Cependant des études sont nécessaires pour pouvoir tirer des conclusions claires quant aux indications et protocoles thérapeutiques.

Les lésions ligamentaires ont profité au même titre des études utilisant les CSM. Si les modèles animaux ont démontré des preuves d'efficacité dans certains aspects de la prise en charge de cette indication, les essais cliniques se veulent rares mais optimistes (327,328), avec quelques études de plus grande envergure en cours de réalisation.

La sécurité entourant l'utilisation des CSM est maintenant établie selon les données que nous avons revues. Cette sécurité demeure cependant conditionnée par un respect strict des protocoles d'asepsie et des techniques de mise en culture afin d'éviter la transmission d'agents infectieux ou l'implantation de cellules porteuses d'aberration chromosomiques ou génétiques pouvant être à l'origine de néoplasies chez l'hôte.

La modification génétique, les cellules souches pluripotentes induites, les exosomes, l'optimisation des échafauds biologiques, et l'utilisation de combinaisons à base de PRP et de facteurs de croissance représentent des pistes de recherche qui amélioreraient les résultats espérés par la thérapie par CSM dans la pathologie squelettique dans l'avenir.

Notre enquête auprès des chirurgiens orthopédiques du Maroc a relevé un intérêt et un besoin importants pour la thérapie par CSM, avec une volonté claire de coopération avec le CHU Mohammed VI de Marrakech de la part des chirurgiens de la région Marrakech-Safi.

Les cellules souches mésenchymateuses constituent donc un nouvel outil sûr et prometteur dans certaines pathologies de l'appareil locomoteur, et qui suscite un engouement de la communauté orthopédique nationale et planétaire, mais qui nécessite des preuves plus probantes pour se faire une place parmi les autres approches thérapeutiques de la chirurgie traumatolo-orthopédique.



CONCLUSION



Dans la pratique quotidienne, les orthopédistes font souvent face à des situations d'impasses thérapeutiques notamment dans la pathologie dégénérative (Arthrose, dégénérescence méniscale, tendinopathies), les pertes de substance tissulaire (cartilage, os) et la nécrose tissulaire (l'ostéonécrose). En effet, celles-ci répondent parfois de manière insuffisante aux thérapies usuelles. Face à ces situations les CSM ont montré des résultats prometteurs voire excellents dans certaines indications.

Dans le cadre de notre revue de la littérature nous avons relevé un enthousiasme chez l'écrasante majorité des équipes travaillant sur les CSM en traumatologie orthopédie. Cet enthousiasme est partagé par la plupart chirurgiens interrogés dans notre enquête. Toutefois, il persiste un scepticisme chez certains chirurgiens et sociétés savantes (l'Association Canadienne d'Orthopédie ; la Société Royale Belge de Chirurgie Orthopédique et de Traumatologie : voir annexe) qui accusent un manque en essais cliniques d'envergure et de qualité méthodologique suffisantes, ainsi qu'une hétérogénéité dans les protocoles utilisés (les sources de CSM, leur nombre, leur méthode d'administration, les échafauds et les adjuvants utilisés...).

Cette réticence proviendrait également de l'expérience aux résultats mitigés qu'a connus la communauté avec le PRP. L'exagération des vertus de cette thérapie pour des raisons purement commerciales en plus de son utilisation abusive par certaines équipes pour des indications non adaptées ont causé une banalisation et une perte d'intérêt. Cette expérience alimente donc les craintes que le côté marketing s'immisce dans l'interprétation des résultats des études scientifiques étudiant les CSM. De ce fait, Il est nécessaire de multiplier les efforts de recherche, non seulement pour uniformiser les protocoles et tirer des conclusions claires sur la sécurité et l'efficacité des CSM dans la pathologie orthopédique, mais également pour éviter une exploitation commerciale abusive. Cela implique, du moins en début d'expérience, de réserver l'utilisation des CSM aux centres de recherche et aux centres hospitaliers universitaires pour établir des protocoles claires et codifiés, bâtis sur des preuves solides, avant d'étendre cet outil thérapeutique à la pratique de routine.



Fiche d'enquête d'opinion auprès des chirurgiens orthopédistes

Ce questionnaire s'inscrit dans travail de thèse d'obtention de doctorat en médecine intitulé : « Place de la thérapie par cellules souches mésenchymateuses dans la pathologie de l'appareil locomoteur »

Secteur d'activité : Publique Privé CHU Militaire

Nom de la formation d'activité:

. Si CHU: Résident Pr. assistant Pr. agrégé PES

Ville d'activité:

1) **Jugez-vous la thérapie par cellules souches mésenchymateuses intéressante? :**

Oui Non

2) **Si non pourquoi ?**

.....
.....
.....
.....

3) **Ressentez vous le besoin en thérapie par cellules mésenchymateuses dans votre pratique chirurgicale? :**

Oui Non

4) **Si oui : ce besoin intéresse :** (attribuez à chaque indication un score de 1 à 4, où 1 correspond à l'absence de besoin et 4 correspond à un besoin maximal)

- La pathologie arthrosique .../4
- La pseudarthrose .../4
- La pathologie musculo-tendineuse et ligamentaire .../4
- L'ostéonécrose .../4

5) **Quels sont les applications potentielles de la thérapie par cellules souches mésenchymateuses dans la pathologie de l'appareil locomoteur que vous connaissez ? :**

.....

.....

.....

.....

.....

Partie réservée aux orthopédistes traumatologues de la région Marrakech Tensift
El Haouz

6) **Seriez-vous prêt(e) à collaborer avec le centre de recherche clinique et le service de Traumatologie et Orthopédie B du CHU Mohammed VI? :**

Oui non

Merci de votre participation



The Canadian Orthopaedic Association
L'Association Canadienne d'Orthopédie



Énoncé de position de l'Association Canadienne d'Orthopédie (ACO) sur les traitements à base de cellules souches

L'arthrose est l'une des principales causes de douleur et d'incapacité au Canada. La chirurgie orthopédique peut être un mode de traitement approprié pour l'atténuation des douleurs articulaires ressenties par bon nombre de patients.

Les traitements à base de cellules souches constituent une stratégie prometteuse, mais ce n'est qu'en menant des recherches fondamentales et cliniques, puis des essais cliniques aléatoires stricts, qu'on saura si elle est véritablement avantageuse pour les patients ayant des troubles articulaires. Pour l'instant, il n'y a pas d'essais cliniques d'envergure et de qualité suffisantes pour confirmer l'efficacité de ces traitements pour les patients en orthopédie.

Les traitements à base de cellules souches sont complexes, et il peut y avoir des variations dans les cellules utilisées, leurs conditions de manipulation, leur matrice et les facteurs de croissance utilisés pour les stimuler. Il faut donc organiser et mettre en œuvre des essais comparatifs stricts.

L'International Society for Stem Cell Research (ISSCR) a publié un énoncé de position précisant que, lorsqu'il n'y a pas de consensus professionnel sur la sécurité et la valeur thérapeutique d'un traitement, il n'est pas éthique ni professionnel d'en faire la promotion directement auprès des patients. L'ACO abonde dans le même sens.

Les traitements non fondés sur des données probantes, et plus particulièrement ceux qui impliquent des coûts importants pour le patient et dont les risques sont inconnus, doivent être fermement déconseillés.



AVIS DE LA COMMISSION GENOU SUR LES CELLULES SOUCHES

En effet, en raison de l'engouement suscité chez certains et du marketing déployé autour de leur utilisation, nous avons voulu établir objectivement les réalités actuelles et les perspectives d'avenir de ces techniques.

Nous avons donc convié des chirurgiens du genou expérimentés (dont les promoteurs de l'utilisation des cellules souches) et des scientifiques à la pointe de la recherche dans la thérapie cellulaire pour tenter d'en établir les avantages et les limites.

Il apparaît, sur base de la revue de la littérature scientifique, **qu'il n'existe à ce jour aucune étude sérieuse, prospective, randomisée et comparative portant sur une cohorte de patient importante avec un recul suffisant** ; les seules études prospectives randomisées comparatives portent sur moins de 200 patients et ont un recul ne dépassant pas deux ans.

Leurs résultats ne montrent par ailleurs aucune différence de résultat par rapport aux prises en charge chirurgicales classiques.

L'avis des chercheurs et de la Commission Spécialisée en Chirurgie du Genou de la Société Royale Belge de Chirurgie Orthopédique et Traumatologique est clairement que si la recherche fondamentale est très prometteuse dans la prise en charge des déficits cartilagineux du genou par thérapie cellulaire, sa traduction clinique en pratique quotidienne est loin d'être évidente.



RÉSUMÉS



Résumé

L'utilisation des cellules souches mésenchymateuses (CSM) constitue une stratégie thérapeutique émergente dans le traitement de certaines affections de l'appareil locomoteur ; il n'en reste pas moins qu'elle partage la communauté scientifique sur son utilité. Le but de notre étude est donc de résumer les connaissances actuelles sur l'utilisation des CSM ainsi que de définir leur place dans le traitement de diverses pathologies des tissus squelettiques. Nous avons mené une revue non systématique des études précliniques et cliniques explorant l'efficacité et la sécurité de l'utilisation des CSM dans l'ostéonécrose, la pseudarthrose, la perte de substance osseuse, l'arthrose, ainsi que dans la réparation musculaire, tendineuse, méniscale et ligamentaire. Notre revue de la littérature a relevé une grande hétérogénéité dans le niveau de preuve des diverses indications pour lesquelles les CSM sont utilisées, en plus d'une divergence dans les protocoles utilisés par différentes équipes de recherche. Toutefois, Les résultats rapportés sont encourageants et justifient l'adoption des CSM comme thérapie expérimentale au niveau des centres de recherche afin d'uniformiser les protocoles thérapeutiques et consolider les preuves d'efficacité et de sécurité avant sa généralisation à grande échelle. Nous avons également évalué, par le biais d'un questionnaire d'enquête, l'intérêt des orthopédistes Marocains pour la thérapie par CSM ainsi que leur volonté de coopération avec le CHU Mohammed VI de Marrakech dans l'expérience du service de traumatologie orthopédie B et du centre de médecine régénérative avec l'utilisation thérapeutique de cette technique. Les chirurgiens interrogés ont rapporté un intérêt et un besoin importants pour la thérapie par CSM, ainsi qu'une volonté unanime de coopération, ce qui constitue un terrain propice pour l'introduction de cette approche dans la pratique orthopédique Marocaine.

Abstract

The use of mesenchymal stem cells (MSCs) is an emerging therapeutic strategy in the treatment of certain conditions of the musculoskeletal system; however, the scientific community remains divided on its utility. The aim of our study is therefore to summarize current knowledge on the use of MSCs and to define their value in the treatment of various skeletal tissue abnormalities. We conducted a non-systematic review of preclinical and clinical studies investigating the efficacy and safety of MSCs in femoral head avascular necrosis, bone nonunion, critical-sized bone defects, osteoarthritis, and also in the repair of muscles, tendons, menisci and skeletal ligaments. Our review of the literature revealed a great heterogeneity in the level of evidence provided for the various indications that MSCs were used for, as well as an inconsistency in the protocols used by different research teams. Nonetheless, the reviewed results are encouraging and justify the adoption of this technique in medical research centers for further clinical experimenting. These additional investigations are intended to standardize the therapeutic protocols involving MSCs, and to strengthen the scientific evidence of their safety and efficacy, allowing their use at a larger scale. We also evaluated through a survey, the degree of interest of Moroccan orthopedists in MSCs therapies for skeletal tissue defects and diseases. The surgeons were also asked about their will to cooperate with the orthopedics department 'B' and the regenerative medicine center of Mohamed VI University Hospital of Marrakech, in their efforts in using MSCs treatments. The surveyed surgeons showed a considerable interest and a necessity for MSCs based therapies. They also expressed a unanimous readiness for cooperation, which paves the way for a future introduction of this approach to the Moroccan orthopedic practice.

ملخص

يشكل استعمال الخلايا الجذعية اللحمية المتوسطة إستراتيجية ناشئة في علاج بعض أمراض الجهاز الحركي، غير أن الأوساط العلمية لا تزال منقسمة حول جدواها . يهدف هذا العمل إذن إلى تلخيص المعارف الحالية المتعلقة باستعمال هذه الخلايا، إضافة إلى تحديد مكانتها في علاج إصابات و أمراض مختلف الأنسجة الهيكلية . قمنا من أجل ذلك بمراجعة للدراسات ما قبل السريرية و السريرية التي تطرقت لاستعمال الخلايا الجذعية اللحمية المتوسطة في النخر العظمي، عدم الانجبار، فقدان المادة العظمية، الفصال العظمي و كذلك في إعادة تشكيل العضلة، الوتر العضلي، الغضروف الهلالي (الهلالة)، و الروابط الهيكلية . بينت مراجعتنا لهذه الدراسات وجود تفاوت مهم في مستوى الدلائل العلمية المتوفرة بين مختلف الأمراض و الإصابات التي تهم الأنسجة المذكورة، كما رصدنا اختلافات بين البروتوكولات العلاجية المعتمدة من طرف الفرق العلمية المختلفة . رغم ذلك ، تبقى النتائج التي تم نشرها مشجعة، و تبرر بذلك تبني هذه الخلايا كعلاج تجريبي في مراكز البحث، بهدف توحيد البروتوكولات العلاجية من جهة، و تعزيز الدلائل العلمية لنجاعة و سلامة هذه التقنية قبل تعميمها من جهة أخرى . قمنا كذلك بتقييم اهتمام أخصائيي جراحة و تقويم العظام و المفاصل المغاربية بهذه الخلايا الجذعية عبر استمارة، إضافة إلى تحري مدى استعدادهم للتعاون مع مصلحة جراحة العظام و المفاصل 'ب' و مركز الطب التجديدي التابعين للمركز الإستشفائي الجامعي محمد السادس بمراكش، في تجربتهما في الاستعمال العلاجي للخلايا الجذعية اللحمية المتوسطة . تبين من خلال هذا الاستطلاع أن للجراحين الذين تم سؤالهم، اهتماما و احتياجا كبيرين لهذه التقنية، كما عبروا بالإجماع عن استعدادهم للتعاون، مما يشكل أرضية مناسبة لتمهيد استعمال الخلايا الجذعية اللحمية المتوسطة في الممارسة الجراحية لتقويم العظام و المفاصل بالمغرب .



BIBLIOGRAPHIE



1. **Ullah I, Subbarao RB, Rho GJ.**
Human mesenchymal stem cells – current trends and future prospective. *Biosci Rep.* 2015;35(2):e00191..
2. **Allickson JG, Sanchez A, Yefimenko N, Borlongan CV, Sanberg PR.**
Recent Studies Assessing the Proliferative Capability of a Novel Adult Stem Cell Identified in Menstrual Blood. *Open Stem Cell J.* 2011;3(2011):4–10.
3. **Horwitz EM, Le Blanc K, Dominici M, Mueller I, Slaper–Cortenbach I, Marini FC, et al.**
Clarification of the nomenclature for MSC: the International Society for Cellular Therapy position statement. *Cytotherapy* 2005;7:393–5.
4. **Spees JL, Lee RH, Gregory CA.**
Mechanisms of mesenchymal stem/stromal cell function. *Stem Cell Res Ther.* 2016;7(1):125.
5. **Iso Y, Spees JL, Serrano C, Bakondi B, Pochampally R, Song YH, et al.**
Multipotent human stromal cells improve cardiac function after myocardial infarction in mice without long–term engraftment. *Biochem Biophys Res Commun.* 2007;354(3):700–6.
6. **Dai W, Hale SL, Martin BJ, Kuang JQ, Dow JS, Wold LE, et al.**
Allogeneic mesenchymal stem cell transplantation in postinfarcted rat myocardium: short– and long–term effects. *Circulation.* 2005;112(2):214–23.
7. **Dexter TM, Spooncer E.**
Growth and differentiation in the hemopoietic system. *Annu Rev Cell Biol.* 1987;3:423–41.
8. **Maximov A.**
Der Lymphozyt als gemeinsame Stammzelle der verschiedenen Blutelemente in der embryonalen Entwicklung und im postfetalen Leben der Säugetiere. *Cellular Therapy and Transplantation.* 1909;1(3).
9. **Jones E, Yang X, Giannoudis P, McGonagle.**
Mesenchymal Stem Cells and Skeletal Regeneration (2013). *Mesenchymal Stem Cells and Skeletal Regeneration.* 1–66.
10. **Owen M, Friedenstein AJ.**
Stromal stem cells: marrow–derived osteogenic precursors. *Ciba Found Symp.* 1988;136:42–60.
11. **Caplan AI.**
Mesenchymal stem cells. *J Orthop Res.* 1991;9:641–650.

12. **Bianco P, Robey PG.**
Skeletal stem cells. In: Lanza RP, editor. Handbook of Adult and Fetal Stem Cells. San Diego, CA: Academic Press; 2004. pp. 415–424.
13. **Pittenger MF, Mackay AM, Beck SC, Jaiswal RK, Douglas R, Mosca JD, et al.**
Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells. *Science*. 1999;284(5411):143–147.
14. **Zuk PA, Zhu M, Mizuno H, Huang J, Futrell JW, Katz AJ, et al.**
Multilineage cells from human adipose tissue: implications for cell-based therapies. *Tissue Eng*. 2001;7(2):211–228.
15. **Deans RJ, Moseley AB.**
Mesenchymal stem cells: biology and potential clinical uses. *Exp Hematol*. 2000;28(8):875–884.
16. **Caplan AI, Bruder SP.**
Mesenchymal stem cells: building blocks for molecular medicine in the 21st century. *Trends Mol Med*. 2001;7(6):259–264.
17. **Osdoby P, Caplan AI.**
First bone formation in the developing chick limb. *Dev Biol*. 1981;86(1):147–156.
18. **Hanada K, Dennis JE, Caplan AI.**
Stimulatory effects of basic fibroblast growth factor and bone morphogenetic protein–2 on osteogenic differentiation of rat bone marrow–derived mesenchymal stem cells. *J Bone Miner Res*. 1997;12(10):1606–1614.
19. **Caplan AI,**
Mesenchymal Stem Cells: Cell-Based Reconstructive Therapy in Orthopedics. *TISSUE ENGINEERING* Volume 11, Number 7/8, 2005.
20. **Bianco P.**
Stem cells and bone: a historical perspective. *Bone*. 2015;70:2–9.
21. **Lee ST, Jang JH, Cheong JW, Kim JS, Maemg HY, Hahn JS, et al.**
Treatment of high-risk acute myelogenous leukaemia by myeloablative chemoradiotherapy followed by co-infusion of T cell-depleted haematopoietic stem cells and culture-expanded marrow mesenchymal stem cells from a related donor with one fully mismatched human leucocyte antigen haplotype. *Br J Haematol*. 2002 Sep;118(4):1128–31.

22. **Zhao K, Lou R, Huang F, Peng Y, Jiang Z, Huang K, et al.**
Immunomodulation effects of mesenchymal stromal cells on acute graft-versus-host disease after hematopoietic stem cell transplantation. *Biol. Blood Marrow Transplant.* 21(1): 97-104; 2015.
23. **Jeong H, Yim HW, Park HJ, Cho Y, Hong H, Kim NJ, et al.**
Mesenchymal Stem Cell Therapy for Ischemic Heart Disease: Systematic Review and Meta-analysis. *Int J Stem Cells.* 2018;11(1):1-12..
24. **H. Yim, H. Jeong, I. Oh.**
Efficacy and safety of mesenchymal stem cell therapies for patients with multiple sclerosis: a systematic review and single arm meta-analysis. May 2019 Volume 21, Issue 5, Supplement, Page S50.
25. **Bydon M, Dietz AB, Goncalves S, Moinuddin FM, Alvi MA, Goyal A, et al.**
CELLTOP Clinical Trial: First Report From a Phase 1 Trial of Autologous Adipose Tissue-Derived Mesenchymal Stem Cells in the Treatment of Paralysis Due to Traumatic Spinal Cord Injury. *Mayo Clinic Proceedings, Volume 0, Issue 0.*
26. **Shi M, Zhang Z, Xu R, Lin H, Fu J, Zou Z, et al.**
Human mesenchymal stem cell transfusion is safe and improves liver function in acute-on-chronic liver failure patients. *Stem Cells Transl Med.* 2012 Oct;1(10):725-31.
27. **Monsel A, Zhu YG, Gennai S, Hao Q, Liu J, Lee JW.**
Cell-based therapy for acute organ injury: preclinical evidence and ongoing clinical trials using mesenchymal stem cells. *Anesthesiology.* 2014;121(5):1099-1121.
28. **Togel F.E. Westenfelder C.**
Kidney protection and regeneration following acute injury: Progress through stem cell therapy. *Am. J. Kidney Dis.* 60(6): 1012-1022; 2012.
29. **Golchin A, Seyedjafari E, Ardeshirylajimi A.**
Mesenchymal Stem Cell Therapy for COVID-19: Present or Future. *Stem Cell Rev Rep.* 2020;16(3):427-433.
30. **Liu S, Guo YL, Yang JY, Wang W, Xu J.**
Efficacy of mesenchymal stem cells on systemic lupus erythematosus:a meta-analysis. *Beijing Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban.* 2018 Dec 18;50(6):1014-1021.

31. **Cheng F, Huang Z, Li Z.**
Mesenchymal stem-cell therapy for perianal fistulas in Crohn's disease: a systematic review and meta-analysis. *Techniques in Coloproctology*. July 2019, Volume 23, Issue 7, pp 613-623.
32. **You Y, Wen DG, Gong JP, Liu ZJ.**
Research Status of Mesenchymal Stem Cells in Liver Transplantation. *Cell Transplant*. 2019;28(12):1490-1506.
33. **Wang Y, Han ZB, Song YP, Han ZC.**
Safety of mesenchymal stem cells for clinical application. *Stem Cells Int*. 2012;2012:652034.
34. **Brederlau A, Correia AS, Anisimov SV, Elmi M, Paul G, Roybon L, et al.**
Transplantation of human embryonic stem cell-derived cells to a rat model of Parkinson's disease: effect of in vitro differentiation on graft survival and teratoma formation. *Stem Cells*. 2006;24(6):1433-1440.
35. **Volarevic V, Markovic BS, Gazdic M, Volarevic A, Jovicic N, Arsenijevic N, et al.**
Ethical and Safety Issues of Stem Cell-Based Therapy. *Int J Med Sci*. 2018;15(1):36-45.
36. **Williams DF.**
The Williams Dictionary of Biomaterials. Liverpool: Liverpool Univ. Press; 1999. In.
37. **Schulze M, Tobiasch E.**
Artificial scaffolds and mesenchymal stem cells for hard tissues. *Adv Biochem Eng Biotechnol*. 2012;126:153-94.
38. **Perić Kačarević Ž, Rider P, Alkildani S, Retnasingh S, Pejakić M, Schnettler R, et al.**
An introduction to bone tissue engineering. *Int J Artif Organs*. 2020 Feb;43(2):69-86.
39. **Lee JS, Choi YS, Cho SW.**
Decellularized Tissue Matrix for Stem Cell and Tissue Engineering. *Adv Exp Med Biol*. 2018;1064:161-180.
40. **Pisetsky DS.**
DNA and the immune system. *Ann Intern Med*. 1997;126(2):169-171.
41. **Song JJ, Ott HC.**
Organ engineering based on decellularized matrix scaffolds. *Trends Mol Med*. 2011;17(8):424-432.

42. **Chen G, Lv Y.**
Decellularized Bone Matrix Scaffold for Bone Regeneration. *Methods Mol Biol.* 2018;1577:239–254.
43. **Sawkins MJ, Bowen W, Dhadda P, Markides H, Sidney LE, Taylor AJ, et al.**
Hydrogels derived from demineralized and decellularized bone extracellular matrix. *Acta Biomater.* 2013;9(8):7865–7873.
44. **Hutmacher DW, Schantz JT, Lam CX, Tan KC, Lim TC.**
State of the art and future directions of scaffold-based bone engineering from a biomaterials perspective. *J Tissue Eng Regen Med.* 2007;1(4):245–260.
45. **Mauney JR, Jaquiéry C, Volloch V, Heberer M, Martin I, Kaplan DL.**
In vitro and in vivo evaluation of differentially demineralized cancellous bone scaffolds combined with human bone marrow stromal cells for tissue engineering. *Biomaterials.* 2005;26(16):3173–3185.
46. **Nocera AD, Comín R, Salvatierra NA, Cid MP.**
Development of 3D printed fibrillar collagen scaffold for tissue engineering. *Biomed Microdevices.* 2018;20(2):26.
47. **Zippel N, Schulze M, Tobiasch E.**
Biomaterials and mesenchymal stem cells for regenerative medicine. *Recent Pat Biotech* 4:1–22.
48. **Muraglia A, Nguyen VT, Nardini M, Moggi M, Coviello D, Dozin B, et al**
Culture Medium Supplements Derived from Human Platelet and Plasma: Cell Commitment and Proliferation Support. *Front Bioeng Biotechnol.* 2017;5:66.
49. **Tarafder S, Davies NM, Bandyopadhyay A, Bose S.**
3D printed tricalcium phosphate scaffolds: Effect of SrO and MgO doping on in vivo osteogenesis in a rat distal femoral defect model. *Biomater Sci.* 2013;1(12):1250–1259.
50. **Wang J, Yu X.**
Preparation, characterization and in vitro analysis of novel structured nanofibrous scaffolds for bone tissue engineering. *Acta Biomater.* 2010;6(8):3004–3012.
51. **Kuo YC, Yeh CF.**
Effect of surface-modified collagen on the adhesion, biocompatibility and differentiation of bone marrow stromal cells in poly(lactides-coglycolide)/chitosan scaffolds. *Colloids Surf B Biointerfaces.* 2011;82(2):624–631.

52. **Guilak F, Cohen DM, Estes BT, Gimble JM, Liedtke W, Chen CS.**
Control of stem cell fate by physical interactions with the extracellular matrix. *Cell Stem Cell.* 2009;5(1):17–26.
53. **Engler AJ, Sen S, Sweeney HL et al.**
Matrix elasticity directs stem cell lineage specification. *Cell* 126:677–689.
54. **McAdams TA, Miller WM, Papoutsakis ET.**
Variations in culture pH affect the cloning efficiency and differentiation of progenitor cells in ex vivo haemopoiesis. *Br J Haematol.* 1997;97(4):889–895.
55. **Basciano L, Nemos C, Foliguet B, de Isla N, de Carvalho M, Tran N, et al.**
Long term culture of mesenchymal stem cells in hypoxia promotes a genetic program maintaining their undifferentiated and multipotent status. *BMC Cell Biol.* 2011;12:12.
56. **Tanentzapf G, Devenport D, Godt D, Brown NH..**
Integrin-dependent anchoring of a stem cell niche. *Nat Cell Biol.* 2007;9(12):1413–1418..
57. **Discher DE, Mooney DJ, Zandstra PW**
Growth factors, matrices, and forces combine and control stem cells. *Science.* 2009;324(5935):1673–1677.
58. **Gurumurthy S, Xie SZ, Alagesan B, Kim J, Yusuf RZ, Saez B, et al.**
The Lkb1 metabolic sensor maintains haematopoietic stem cell survival [published correction appears in *Nature*. 2011 Aug 4;476(7358):114]. *Nature.* 2010;468(7324):659–663.
59. **Zippel N, Limbach CA, Ratajski N, Urban C, Luparello C, Pansky A, et al.**
Purinergic receptors influence the differentiation of human mesenchymal stem cells. *Stem Cells Dev.* 2012;21(6):884–900.
60. **Williams SE, Beronja S, Pasolli HA, Fuchs E.**
Asymmetric cell divisions promote Notchdependent epidermal differentiation. *Nature.* 2011;470(7334):353–358..
61. **Rosset P, Deschaseaux F, Layrolle P.**
Cell therapy for bone repair. *Orthop Traumatol Surg Res.* 2014 Feb;100(1 Suppl):S107–12.
62. **Bain BJ.**
Bone marrow aspiration. *J Clin Pathol.* 2001;54:657–663.

63. **Stolzing A, Jones E, McGonagle D, Scutt A.**
Age-related changes in human bone marrow-derived mesenchymal stem cells: consequences for cell therapies. *Mech Ageing Dev.* 2008;129:163–173.
64. **Muschler GF, Boehm C, Easley K.**
Aspiration to obtain osteoblast progenitor cells from human bone marrow: the influence of aspiration volume. *J Bone Joint Surg Am.* 1997;79:1699–1709.
65. **Guo KT, Schaefer R, Paul A, Gerber A, Ziemer G, Wendel HP.**
A new technique for the isolation and surface immobilization of mesenchymal stem cells from whole bone marrow using high-specific DNA aptamers. *Stem Cells.* 2006;24:2220–2231.
66. **Gentry T, Foster S, Winstead L, Deibert E, Fiordalisi M, Balber A.**
Simultaneous isolation of human BM hematopoietic, endothelial and mesenchymal progenitor cells by flow sorting based on aldehyde dehydrogenase activity: implications for cell therapy. *Cytotherapy.* 2007;9:259–274.
67. **Sorrentino A, Ferracin M, Castelli G, Biffoni M, Tomaselli G, Baiocchi M, et al.**
Isolation and characterization of CD146(+) multipotent mesenchymal stromal cells. *E Exp Hematol.* 2008;36(8):1035–1046.
68. **Bieback K, Schallmoser K, Klüter H, Strunk D.**
Clinical Protocols for the Isolation and Expansion of Mesenchymal Stromal Cells. *Transfus Med Hemother.* 2008;35(4):286–294.
69. **Hernigou P, Pognard A, Zilber S, Rouard H.**
Cell therapy of hip osteonecrosis with autologous bone marrow grafting. *Indian J Orthop.* 2009;43(1):40–45.
70. **Hernigou P, Trousselier M, Roubineau F.**
Stem cell therapy for the treatment of hip osteonecrosis: a 30-year review of progress. *Clin Orthop Surg.* 2016;8(1):1–8.
71. **Moseley TA, Zhu M, Hedrick MH.**
Adipose-derived stem and progenitor cells as fillers in plastic and reconstructive surgery. *Plast Reconstr Surg.* 2006 Sep; 118(3 Suppl):121S–128S.

72. **Oedayrajsingh–Varma MJ, van Ham SM, Knippenberg M, Helder MN, Klein–Nulend J, Schouten TE, et al.**
van Milligen FJ Adipose tissue–derived mesenchymal stem cell yield and growth characteristics are affected by the tissue–harvesting procedure. *Cytotherapy*. 2006; 8(2):166–77.
73. **Dubois SG, Floyd EZ, Zvonic S, Kilroy G, Wu X, Carling S, et al.**
Gimble JM Isolation of human adipose–derived stem cells from biopsies and liposuction specimens. *Methods Mol Biol*. 2008; 449():69–79.
74. **Schipper BM, Marra KG, Zhang W, Donnenberg AD, Rubin JP.**
Regional anatomic and age effects on cell function of human adipose–derived stem cells. *Ann Plast Surg*. 2008;60(5):538–544.
75. **DiMuzio P, Tulenko T.**
Tissue engineering applications to vascular bypass graft development: the use of adipose–derived stem cells. *J Vasc Surg*. 2007 Jun; 45 Suppl A():A99–103.
76. **Bourin P, Bunnell BA, Casteilla L, Dominici M, Katz AJ, March KL, et al.**
Stromal cells from the adipose tissue–derived stromal vascular fraction and culture expanded adipose tissue–derived stromal/stem cells: a joint statement of the International Federation for Adipose Therapeutics and Science (IFATS) and the International Society for Cellular Therapy (ISCT). *Cytotherapy*. 2013;15(6):641–648.
77. **Rada T, Santos TC, Marques AP, Correlo VM, Frias AM, Castro AG et al.**
Osteogenic differentiation of two distinct subpopulations of human adipose–derived stem cells: an in vitro and in vivo study. *J Tissue Eng Regen Med*. 2012;6(1):1–11.
78. **Tsekouras A, Mantas D, Tsilimigras DI, Moris D, Kontos M, Zografos GC.**
Comparison of the Viability and Yield of Adipose–Derived Stem Cells (ASCs) from Different Donor Areas. *In Vivo*. 2017;31(6):1229–1234.
79. **Liao HT, Chen CT.**
Osteogenic potential: comparison between bone marrow and adipose–derived mesenchymal stem cells. *World J Stem Cells*. 2014;6(3):288–295.
80. **Zhang LH, Liu YJ, Lu LL, Wang AP, Xu ZS, Zhu XP.**
Mesenchymal stem cells derived from human umbilical cord inhibit activation and proliferation of allogeneic umbilical cord blood T lymphocytes. *Chin J Cancer Biother (Chin)* 2006;13:191–195.

81. **Beeravolu N, McKee C, Alamri A, Mikhael S, Brown C, Perez-Cruet M et al.**
Isolation and Characterization of Mesenchymal Stromal Cells from Human Umbilical Cord and Fetal Placenta. *J Vis Exp.* 2017;(122):55224.
82. **Kern S, Eichler H, Stoeve J, Klüter H, Bieback K.**
Comparative analysis of mesenchymal stem cells from bone marrow, umbilical cord blood, or adipose tissue. *Stem Cells.* 2006;24(5):1294–1301.
83. **Jin YZ, Lee JH.**
Mesenchymal Stem Cell Therapy for Bone Regeneration. *Clin Orthop Surg.* 2018;10(3):271–278.
84. **Caplan AI.**
Adult Mesenchymal Stem Cells: When, Where, and How. *Stem Cells Int.* 2015 ;2015:628767.
85. **Chen L, Wu J, Wu C, Xing F, Li L, He Z, et al.**
Three-dimensional co-culture of peripheral blood-derived mesenchymal stem cells and endothelial progenitor cells for bone regeneration. *J Biomed Nanotechnol.* 2019;15(2):248–260.
86. **Caterson EJ, Nesti LJ, Danielson KG, Tuan RS.**
Human marrow-derived mesenchymal progenitor cells: isolation, culture expansion, and analysis of differentiation. *Mol Biotechnol.* 2002;20(3):245–256.
87. **Asher DM.**
Bovine sera used in the manufacture of biologicals: current concerns and policies of the U.S. Food and Drug Administration regarding the transmissible spongiform encephalopathies. *Dev Biol Stand.* 1999; 99():41–4.
88. **Aucun auteur cité.**
Committee for Proprietary Medicinal Products (CPMP) on the « Note for Guidance on minimizing the risk of transmitting animal spongiform encephalopathies via medicinal products » (15 April 1997). *Adverse Drug React Toxicol Rev.* 1997;16(2):113–121.
89. **Barbash IM, Chouraqui P, Baron J, Feinberg MS, Etzion S, Tessone A, et al.**
Systemic delivery of bone marrow-derived mesenchymal stem cells to the infarcted myocardium: feasibility, cell migration, and body distribution. *Circulation.* 2003;108(7):863–868..
90. **Casiraghi F, Azzollini N, Cassis P, Imberti B, Morigi M, Cugini D, et al.**
Pretransplant infusion of mesenchymal stem cells prolongs the survival of a semiallogeneic heart transplant through the generation of regulatory T cells. *Immunol.* 2008;181(6):3933–3946.

91. **Xiang GA, Zhang GQ, Fang CH, Gao P, Chen KY.**
A preliminary study of the homing capacity of allograft mesenchymal stem cells to rat liver. *Academic j first med college PLA.* 2005;25(8):994–997.
92. **Nagaya N, Fujii T, Iwase T, Ohgushi H, Itoh T, Uematsu M, et al.**
Intravenous administration of mesenchymal stem cells improves cardiac function in rats with acute myocardial infarction through angiogenesis and myogenesis. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2004;287(6):H2670–H2676..
93. **Kurtz A.**
Mesenchymal stem cell delivery routes and fate. *Int J Stem Cells.* 2008;1(1):1–7.
94. **Galipeau J, Sensébé L.**
Mesenchymal Stromal Cells: Clinical Challenges and Therapeutic Opportunities. *Cell Stem Cell.* 2018;22(6):824–833.
95. **Glassberg MK, Minkiewicz J, Toonkel RL, Simonet ES, Rubio GA, DiFede D, et al.**
Allogeneic Human Mesenchymal Stem Cells in Patients With Idiopathic Pulmonary Fibrosis via Intravenous Delivery (AETHER): A Phase I Safety Clinical Trial. *Chest.* 2017;151(5):971–981.
96. **Watanabe M, Yavagal DR.**
Intra-arterial delivery of mesenchymal stem cells. *Brain Circ.* 2016;2(3):114–117.
97. **Assmus B, Schächinger V, Teupe C, Britten M, Lehmann R, Döbert N, Grünwald F et al.**
Transplantation of Progenitor Cells and Regeneration Enhancement in Acute Myocardial Infarction (TOPCARE-AMI). *Circulation.* 2002;106(24):3009–3017.
98. **von Roth P, Duda GN, Radojewski P, Preininger B, Strohschein K, Röhner E, et al.**
Intra-Arterial MSC Transplantation Restores Functional Capacity After Skeletal Muscle Trauma. *Open Orthop J.* 2012;6:352–356.
99. **Na Kim H, Yeol Kim D, Hee Oh S, Sook Kim H, Suk Kim K, Hyu Lee P.**
Feasibility and Efficacy of Intra-Arterial Administration of Mesenchymal Stem Cells in an Animal Model of Double Toxin-Induced Multiple System Atrophy. *Stem Cells Transl Med.* 2017;6(5):1424–1433.
100. **Vulliet PR, Greeley M, Halloran SM, MacDonald KA, Kittleson MD.**
Intra-coronary arterial injection of mesenchymal stromal cells and microinfarction in dogs. *Lancet.* 2004;363(9411):783–784.

101. **Braid LR, Wood CA, Wiese DM, Ford BN.**
Intramuscular administration potentiates extended dwell time of mesenchymal stromal cells compared to other routes. *Cytotherapy*. 2018;20(2):232–244.
102. **Caplan H, Olson SD, Kumar A, George M, Prabhakara KS, Wenzel P, et al.**
Mesenchymal Stromal Cell Therapeutic Delivery: Translational Challenges to Clinical Application. *Front Immunol*. 2019;10:1645.
103. **Falanga V, Iwamoto S, Chartier M, Yufit T, Butmarc J, Kouttab N, et al.**
Autologous bone marrow–derived cultured mesenchymal stem cells delivered in a fibrin spray accelerate healing in murine and human cutaneous wounds. *Tissue Eng*. 2007;13(6):1299–1312.
104. **Kan C, Chen L, Hu Y, Lu H, Li Y, Kessler JA, et al.**
Microenvironmental factors that regulate mesenchymal stem cells: lessons learned from the study of heterotopic ossification. *Histol Histopathol*. 2017;32(10):977–985.
105. **Gong Z, Niklason LE.**
Small–diameter human vessel wall engineered from bone marrow–derived mesenchymal stem cells (hMSCs). *FASEB J*. 2008;22(6):1635–1648.
106. **Grayson WL, Marolt D, Bhumiratana S, Fröhlich M, Guo XE, Vunjak–Novakovic G.**
Optimizing the medium perfusion rate in bone tissue engineering bioreactors. *Optimizing the medium perfusion rate in bone tissue engineering bioreactors*. *Biotechnol Bioeng*. 2011;108(5):1159–1170.
107. **Mei J, Yu Y, Li M, Xi S, Zhang S, Liu X, et al.**
The angiogenesis in decellularized scaffold–mediated the renal regeneration. *Oncotarget*. 2016;7(19):27085–27093.
108. **He J, Guo J, Jiang B, Yao R, Wu Y, Wu F.**
Directing the osteoblastic and chondrocytic differentiations of mesenchymal stem cells: matrix vs. induction media. *Regen Biomater*. 2017;4(5):269–279.
109. **Ullah M, Liu DD, Thakor AS.**
Mesenchymal Stromal Cell Homing: Mechanisms and Strategies for Improvement. *iScience*. 2019;15:421–438.
110. **Jones DL, Wagers AJ.**
No place like home: anatomy and function of the stem cell niche. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2008;9(1):11–21.

111. **Nakamura S, Matsumoto T, Sasaki J, Egusa H, Lee KY, Nakano T et al.**
Effect of calcium ion concentrations on osteogenic differentiation and hematopoietic stem cell niche-related protein expression in osteoblasts. *Tissue Eng Part A*. 2010;16(8):2467–2473..
112. **Giannoudis PV, Ahmad MA, Mineo GV, Tosounidis TI, Calori GM, Kanakaris NK.**
Subtrochanteric fracture non-unions with implant failure managed with the « Diamond » concept. *Injury*. 2013;44 Suppl 1:S76–S81.
113. **Healey JH, Zimmerman PA, McDonnell JM, Lane JM.**
Percutaneous bone marrow grafting of delayed union and nonunion in cancer patients. *Clin Orthop Relat Res*. 1990;(256):280–285..
114. **Weiss ARR, Dahlke MH.**
Immunomodulation by Mesenchymal Stem Cells (MSCs): Mechanisms of Action of Living, Apoptotic, and Dead MSCs. *Front Immunol*. 2019;10:1191.
115. **Lieberman JR, Berry DJ, Mont MA, Aaron RK, Callaghan JJ, Rajadhyaksha AD et al.**
Osteonecrosis of the hip: management in the 21st century. *Instr Course Lect*. 2003;52:337–355.
116. **Hong YC, Zhong HM, Lin T, Shi JB.**
Comparison of core decompression and conservative treatment for avascular necrosis of femoral head at early stage: a meta-analysis. *Int J Clin Exp Med*. 2015;8(4):5207–5216.
117. **Radke S, Rader C, Kenn W, Kirschner S, Walther M, Eulert J.**
Transient marrow edema syndrome of the hip: results after core decompression. *Arch Orthop Trauma Surg*. 2003;123:223–227.
118. **Mont MA, Carbone JJ, Fairbank AC.**
Core decompression versus nonoperative management for osteonecrosis of the hip. *Clin Orthop Relat Res*. 1996;324:169–178.
119. **Wang Z, Sun QM, Zhang FQ, Zhang QL, Wang LG, Wang WJ.**
Core decompression combined with autologous bone marrow stem cells versus core decompression alone for patients with osteonecrosis of the femoral head: A meta-analysis. *Int J Surg*. 2019;69:23–31.
120. **Zhao D, Cui D, Wang B, Tian F, Guo L, Yang L, et al.**
Treatment of early stage osteonecrosis of the femoral head with autologous implantation of bone marrow-derived and cultured mesenchymal stem cells. *Bone*. 2012;50:325–330.

121. **Wang BL, Sun W, Shi ZC, Zhang NF, Yue DB, Guo WS, et al.**
Treatment of nontraumatic osteonecrosis of the femoral head with the implantation of core decompression and concentrated autologous bone marrow containing mononuclear cells. *Arch Orthop Trauma Surg.* 2010;130:859–865.
122. **Li X, Xu X, Wu W.**
Comparison of bone marrow mesenchymal stem cells and core decompression in treatment of osteonecrosis of the femoral head: a meta-analysis. *Int J Clin Exp Pathol.* 2014;7(8):5024–5030.
123. **Papakostidis C, Tosounidis TH, Jones E, Giannoudis PV.**
The role of « cell therapy » in osteonecrosis of the femoral head. A systematic review of the literature and meta-analysis of 7 studies. *Acta Orthop.* 2016;87(1):72–78.
124. **Gangji V, Hauzeur JP.**
Treatment of osteonecrosis of the femoral head with implantation of autologous bone-marrow cells. Surgical technique. *J Bone Joint Surg Am.* 2005;87 Suppl 1(Pt 1):106–112.
125. **X.-W. Guo W-XW, Y.-F.**
Hong, Study of core decompression and transplant of autologous bone marrow stem cells for treatment of avascular necrosis of femoral head, *J. Bone Joint Surg. Br.* 29 (5) (2008) 19-21.
126. **Y. Sun W-HZ, Y.-M. Yao,**
Treatment of osteonecrosis of femoral head by combination of center decompression and implantation of autogenous bone and mesenchymal stem cells, *Med. J. Natl. Defend. Forces Southwest China.* 2005;18(6):800–802.
127. **Chang T, Tang K, Tao X, Cao H, Li H, Chen Q, et al.**
Treatment of early avascular necrosis of femoral head by core decompression combined with autologous bone marrow mesenchymal stem cells transplantation. *Zhongguo Xiu Fu Chong Jian Wai Ke Za Zhi.* 2010;24(6):739–743.
128. **Gangji V, De Maertelaer V, Hauzeur JP.**
Autologous bone marrow cell implantation in the treatment of non-traumatic osteonecrosis of the femoral head: Five year follow-up of a prospective controlled study. *Bone.* 2011;49(5):1005–1009.
129. **Rastogi S, Sankineani SR, Nag HL, Mohanty S, Shivanand G, Marimuthu K, et al.**
Intralesional autologous mesenchymal stem cells in management of osteonecrosis of femur: a preliminary study. *Musculoskelet Surg.* 2013;97(3):223–228.

130. **Sen RK, Tripathy SK, Aggarwal S, Marwaha N, Sharma RR, Khandelwal N.**
Early results of core decompression and autologous bone marrow mononuclear cells instillation in femoral head osteonecrosis: a randomized control study. *J Arthroplast.* 2012;27(5):679–686.
131. **Ma Y, Wang T, Liao J, Gu H, Lin X, Jiang Q, et al.**
Efficacy of autologous bone marrow buffy coat grafting combined with core decompression in patients with avascular necrosis of femoral head: a prospective, double-blinded, randomized, controlled study. *Stem Cell Res Ther.* 2014;5(5):115.
132. **Tabatabaee RM, Saberi S, Parvizi J, Mortazavi SM, Farzan M.**
Combining Concentrated Autologous Bone Marrow Stem Cells Injection With Core Decompression Improves Outcome for Patients with Early-Stage Osteonecrosis of the Femoral Head: A Comparative Study. *J Arthroplasty.* 2015;30(9 Suppl):11–15.
133. **Pepke W, Kasten P, Beckmann NA, Janicki P, Egermann M.**
Core Decompression and Autologous Bone Marrow Concentrate for Treatment of Femoral Head Osteonecrosis: A Randomized Prospective Study. *Orthop Rev (Pavia).* 2016;8(1):6162.
134. **Hauzeur JP, De Maertelaer V, Baudoux E, Malaise M, Beguin Y, Gangji V.**
Inefficacy of autologous bone marrow concentrate in stage three osteonecrosis: a randomized controlled double-blind trial. *Int Orthop.* 2017;7:1429–1435.
135. **Wyles CC, Houdek MT, Crespo-Diaz RJ, Norambuena GA, Stalboerger PG, Terzic A, et al.**
Adipose-derived Mesenchymal Stem Cells Are Phenotypically Superior for Regeneration in the Setting of Osteonecrosis of the Femoral Head. *Clin Orthop Relat Res.* 2015;473(10):3080–3090.
136. **Lee JS, Roh HL, Kim CH, Jung JS, Suh KT.**
Alterations in the differentiation ability of mesenchymal stem cells in patients with nontraumatic osteonecrosis of the femoral head: comparative analysis according to the risk factor. *J Orthop Res.* 2006;24(4):604–609.
137. **Lee HJ, Kang KS, Kang SY, Kim HS, Park SJ, Lee SY, et al.**
Immunologic properties of differentiated and undifferentiated mesenchymal stem cells derived from umbilical cord blood. *J Vet Sci.* 2015;17(3):289–297.
138. **Cai J, Wu Z, Huang L, Chen J, Wu C, Wang S, et al.**
Cotransplantation of bone marrow mononuclear cells and umbilical cord mesenchymal stem cells in avascular necrosis of the femoral head. *Transplant Proc.* 2014;46(1):151–155.

- 139. Chen C, Qu Z, Yin X, Shang C, Ao Q, Gu Y, et al.**
Efficacy of umbilical cord-derived mesenchymal stem cell-based therapy for osteonecrosis of the femoral head: A three-year follow-up study. *Mol Med Rep.* 2016;14(5):4209–4215.
- 140. Pak J.**
Autologous adipose tissue-derived stem cells induce persistent bone-like tissue in osteonecrotic femoral heads. *Pain Physician.* 2012;15(1):75–85.
- 141. Pilge H, Bittersohl B, Schneppendahl J, Hesper T, Zilkens C, Ruppert M, et al.**
Bone Marrow Aspirate Concentrate in Combination with Intravenous Iloprost Increases Bone Healing in Patients With Avascular Necrosis of the Femoral Head: A Matched Pair Analysis. *Orthop Rev (Pavia).* 2017;8(4):6902.
- 142. Gianakos AL, Moya-Angeler J, Duggal S, Zambrana L, Fields KG, Mintz DN, et al.**
The Efficacy of Bisphosphonates with Core Decompression and Mesenchymal Stem Cells Compared with Bisphosphonates Alone in the Treatment of Osteonecrosis of the Hip: a Retrospective Study. *HSS J.* 2016;12(2):137–144.
- 143. Mishima H, Sugaya H, Yoshioka T, Aoto K, Wada H, Akaogi H, et al.**
The safety and efficacy of combined autologous concentrated bone marrow grafting and low-intensity pulsed ultrasound in the treatment of osteonecrosis of the femoral head. *Eur J Orthop Surg Traumatol.* 2016;26(3):293–298.
- 144. Li R, Lin QX, Liang XZ, Liu GB, Tang H, Wang Y, et al.**
Stem cell therapy for treating osteonecrosis of the femoral head: From clinical applications to related basic research. *Stem Cell Res Ther.* 2018;9(1):291.
- 145. Aarvold A, Smith JO, Tayton ER, Jones AM, Dawson JI, Lanham S, et al.**
From bench to clinic and back: skeletal stem cells and impaction bone grafting for regeneration of bone defects. *J Tissue Eng Regen Med.* 2014;8(10):779–786.
- 146. Aoyama T, Goto K, Kakinoki R, Ikeguchi R, Ueda M, Kasai Y, et al.**
An exploratory clinical trial for idiopathic osteonecrosis of femoral head by cultured autologous multipotent mesenchymal stromal cells augmented with vascularized bone grafts. *Tissue Eng Part B Rev.* 2014;20(4):233–242.
- 147. Fu WM, Yang L, Wang BJ, Xu JK, Wang JL, Qin L, et al.**
Porous tantalum seeded with bone marrow mesenchymal stem cells attenuates steroid-associated osteonecrosis. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* 2016;20(16):3490–3499.

148. **Zhao D, Liu B, Wang B, Yang L, Xie H, Huang S et al.**
Autologous bone marrow mesenchymal stem cells associated with tantalum rod implantation and vascularized iliac grafting for the treatment of end-stage osteonecrosis of the femoral head. *Biomed Res Int.* 2015;2015:240506.
149. **Yamasaki T, Yasunaga Y, Ishikawa M, Hamaki T, Ochi M.**
Bone-marrow-derived mononuclear cells with a porous hydroxyapatite scaffold for the treatment of osteonecrosis of the femoral head: a preliminary study. *J Bone Joint Surg Br.* 2010;92(3):337-341.
150. **Liu Y, Liu S, Su X.**
Core decompression and implantation of bone marrow mononuclear cells with porous hydroxylapatite composite filler for the treatment of osteonecrosis of the femoral head. *Arch Orthop Trauma Surg.* 2013;133(1):125-133.
151. **Mao Q, Wang W, Xu T, Zhang S, Xiao L, Chen D, et al.**
Combination treatment of biomechanical support and targeted intra-arterial infusion of peripheral blood stem cells mobilized by granulocyte-colony stimulating factor for the osteonecrosis of the femoral head: a randomized controlled clinical trial. *J Bone Miner Res.* 2015;30(4):647-656.
152. **Perez-Silos V, Camacho-Morales A, Fuentes-Mera L.**
Mesenchymal Stem Cells Subpopulations: Application for Orthopedic Regenerative Medicine. *Stem Cells Int.* 2016;2016:3187491.
153. **Levi B, Wan DC, Glotzbach JP, Hyun J, Januszyk M, Montoro D, et al.**
CD105 protein depletion enhances human adipose-derived stromal cell osteogenesis through reduction of transforming growth factor beta1 (TGF-beta1) signaling. *J Biol Chem.* 2011;286(45):39497-39509.
154. **Leyva-Leyva M, Lopez-Diaz A, Barrera L, Camacho-Morales A, Hernandez-Aguilar F, Carrillo-Casas EM, et al.**
Differential expression of adhesion-related proteins and MAPK pathways lead to suitable osteoblast differentiation of human mesenchymal stem cells subpopulations. *Stem Cells Dev.* 2015;24(21):2577-2590.
155. **Leyva-Leyva M, Barrera L, Lopez-Camarillo C, Arriaga-Pizano L, Orozco-Hoyuela G, Carrillo-Casas EM, et al.**
Characterization of mesenchymal stem cell subpopulations from human amniotic membrane with dissimilar osteoblastic potential. *Stem Cells Dev.* 2013;22(8):1275-1287.

156. **Yamamoto M, Nakata H, Hao J, Chou J, Kasugai S, Kuroda S.**
Osteogenic Potential of Mouse Adipose-Derived Stem Cells Sorted for CD90 and CD105 In Vitro. *Stem Cells Int.* 2014;2014:576358.
157. **Rada T, Reis RL, Gomes ME.**
Distinct stem cells subpopulations isolated from human adipose tissue exhibit different chondrogenic and osteogenic differentiation potential. *Stem Cell Rev.* 2011;7(1):64-76.
158. **Itoh H, Nishikawa S, Haraguchi T, Arikawa Y, Eto S, Hiyama M, et al.**
Aldehyde dehydrogenase activity helps identify a subpopulation of murine adipose-derived stem cells with enhanced adipogenic and osteogenic differentiation potential. *World J Stem Cells.* 2017;9(10):179-186.
159. **Tang TT, Lu B, Yue B, Xie XH, Xie YZ, Dai KR.**
Treatment of osteonecrosis of the femoral head with hBMP-2-gene-modified tissue-engineered bone in goats. *The Journal of Bone and Joint Surgery. British volume.* 2007;89-B(1):127-129.
160. **Peng WX, Wang L.**
Adenovirus-Mediated Expression of BMP-2 and BFGF in Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells Combined with Demineralized Bone Matrix For Repair of Femoral Head Osteonecrosis in Beagle Dogs. *Cell Physiol Biochem.* 2017;43(4):1648-1662.
161. **Hang D, Wang Q, Guo C, Chen Z, Yan Z.**
Treatment of osteonecrosis of the femoral head with VEGF165 transgenic bone marrow mesenchymal stem cells in mongrel dogs. *Cells Tissues Organs.* 2012;195(6):495-506.
162. **Wen Q, Ma L, Chen YP, Yang L, Luo W, Wang XN.**
Treatment of avascular necrosis of the femoral head by hepatocyte growth factor-transgenic bone marrow stromal stem cells. *Gene Ther.* 2008;15(23):1523-1535.
163. **Pan ZM, Zhang Y, Cheng XG, Gao GC, Wang XR, Cao K.**
Treatment of Femoral Head Necrosis With Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells Expressing Inducible Hepatocyte Growth Factor. *Am J Ther.* 2016;23(6):e1602-e1e11.
164. **Guo SC, Tao SC, Yin WJ, Qi X, Sheng JG, Zhang CQ.**
Exosomes from Human Synovial-Derived Mesenchymal Stem Cells Prevent Glucocorticoid-Induced Osteonecrosis of the Femoral Head in the Rat. *Int J Biol Sci.* 2016;12(10):1262-1272.

165. **Liu X, Li Q, Niu X, Hu B, Chen S, Song W, et al.**
Exosomes Secreted from Human-Induced Pluripotent Stem Cell-Derived Mesenchymal Stem Cells Prevent Osteonecrosis of the Femoral Head by Promoting Angiogenesis. *Int J Biol Sci.* 2017;13(2):232-244.
166. **Murphy MB, Moncivais K, Caplan AI.**
Mesenchymal stem cells: environmentally responsive therapeutics for regenerative medicine. *Exp Mol Med.* 2013;45:e54.
167. **Salido-Guadarrama I, Romero-Cordoba S, Peralta-Zaragoza O, Hidalgo-Miranda A, Rodriguez-Dorantes M.**
MicroRNAs transported by exosomes in body fluids as mediators of intercellular communication in cancer. *OncoTargets Ther.* 2014;7:1327-1338.
168. **Bellingham SA, Guo BB, Coleman BM, Hill AF.**
Exosomes: vehicles for the transfer of toxic proteins associated with neurodegenerative diseases? *Front Physiol.* 2012;3:124.
169. **Einhorn TA.**
Breakout session. 1: Definitions of fracture repair. *Clin Orthop Relat Res.* 1998;(355 Suppl):S353.
170. **E. Thein, F. Chevalley, O.**
Borens. Pseudarthroses aseptiques des os longs. *Rev Med Suisse* 2013; 9 : 2390-6.
171. **Giannoudis PV, Einhorn TA, Schmidmaier G, Marsh D.**
The diamond concept - open questions. *Injury* 2008; 39:S55-8.
172. **Sen MK, Miclau T.**
Autologous iliac crest bone graft: Should it still be the gold standard for treating nonunions? *Injury* 2007;38(Suppl. 1):S75-80.
173. **Schaden W, Fischer A, Sailer A.**
Extrakorporale StosswellenTherapie (ESWT) aus Sicht der Traumatologie. *J Miner Stoffwechs* 2004;11:40-5.
174. **Labibzadeh N, Emadedin M, Fazeli R, Mohseni F, Hosseini SE, Moghadasali R et al.**
Mesenchymal Stromal Cells Implantation in Combination with Platelet Lysate Product Is Safe for Reconstruction of Human Long Bone Nonunion. *Cell J.* 2016;18(3):302-309.

175. **Emadedin M, Labibzadeh N, Fazeli R, Mohseni F, Hosseini SE, Moghadasali R, et al.**
Percutaneous Autologous Bone Marrow–Derived Mesenchymal Stromal Cell Implantation Is Safe for Reconstruction of Human Lower Limb Long Bone Atrophic Nonunion. *Cell J.* 2017;19(1):159-165.
176. **Dell'Osso G, Bugelli G, Celli F, Petrini M, Trombi L, Guido G, et al.**
Grafting of Expanded Mesenchymal Stem Cells without Associated Procedure in a Healed Case of Ulna Pseudarthrosis: A Case Report. *Surg Technol Int.* 2016;28:289–292.
177. **Giannotti S, Bottai V, Ghilardi M, Dell'osso G, Fazzi R, Trombi L, et al.**
Treatment of pseudoarthrosis of the upper limb using expanded mesenchymal stem cells: a pilot study. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences.* 2013;17(2):224–227.
178. **Ismail HD, Phedy P, Kholinne E, Djaja YP, Kusnadi Y, Merlina M, et al.**
Mesenchymal stem cell implantation in atrophic nonunion of the long bones: a translational study. *Bone & Joint Research.* 2016;5(7):287–293.
179. **Wittig O, Romano E, González C, Diaz–Solano D, Marquez ME, Tovar P, et al.**
A method of treatment for nonunion after fractures using mesenchymal stromal cells loaded on collagen microspheres and incorporated into platelet–rich plasma clots. *International Orthopaedics.* 2016;40(5):1033–1038.
180. **Gómez–Barrena E, Rosset P, Gebhard F, Hernigou P, Baldini N, Rouard H, et al.**
Feasibility and safety of treating non–unions in tibia, femur and humerus with autologous, expanded, bone marrow–derived mesenchymal stromal cells associated with biphasic calcium phosphate biomaterials in a multicentric, non–comparative trial. *Biomaterials.* 2019;196:100–108.
181. **Palombella S, Lopa S, Gianola S, Zagra L, Moretti M, Lovati AB.**
Bone Marrow–Derived Cell Therapies to Heal Long–Bone Nonunions: A Systematic Review and Meta–Analysis–Which Is the Best Available Treatment?. *Stem Cells Int.* 2019;2019:3715964.
182. **Bajada S, Harrison PE, Ashton BA, Cassar–Pullicino VN, Ashammakhi N, Richardson JB.**
Successful treatment of refractory tibial nonunion using calcium sulphate and bone marrow stromal cell implantation. *J Bone Joint Surg Br.* 2007;89(10):1382–1386.
183. **Han D, Han N, Zhang P, Jiang B.**
Local transplantation of osteogenic pre–differentiated autologous adipose–derived mesenchymal stem cells may accelerate non–union fracture healing with limited pro–metastatic potency. *Int J Clin Exp Med.* 2015;8(1):1406-1410.

184. **Shoji T, li M, Mifune Y, Matsumoto T, Kawamoto A, Kwon SM et al.**
Local transplantation of human multipotent adipose-derived stem cells accelerates fracture healing via enhanced osteogenesis and angiogenesis. *Lab Invest.* 2010;90(4):637-649.
185. **Huang Z, Gu H, Yin X, Gao L, Zhang K, Zhang Y, et al.**
Bone regeneration using injectable poly (γ -benzyl-L-glutamate) microspheres loaded with adipose-derived stem cells in a mouse femoral non-union model. *Am J Transl Res.* 2019;11(5):2641-2656.
186. **Qu Z, Fang G, Cui Z, Liu Y.**
Cell therapy for bone nonunion: a retrospective study. *Minerva Med.* 2015 Dec;106(6):315-21.
187. **Zhang ZY, Teoh SH, Chong MS, Lee ES, Tan LG, Mattar CN, et al.**
Neo-vascularization and bone formation mediated by fetal mesenchymal stem cell tissue-engineered bone grafts in critical-size femoral defects. *Biomaterials.* 2010;31(4):608-620.
188. **Burastero G, Scarfi S, Ferraris C, Fresia C, Sessarego N, Fruscione F, et al.**
The association of human mesenchymal stem cells with BMP-7 improves bone regeneration of critical-size segmental bone defects in athymic rats. *Bone.* 2010;47(1):117-126.
189. **Pytlík R, Rentsch C, Soukup T, Novotný L, Rentsch B, Kanderová V, et al.**
Efficacy and safety of human mesenchymal stromal cells in healing of critical-size bone defects in immunodeficient rats. *Physiol Res.* 2017;66(1):113-123.
190. **Ben-David D, Fishman B, Rubin G, Novak A, Laevsky I, Kadouri A, et al.**
Autologous cell-coated particles for the treatment of segmental bone defects—a new cell therapy approach. *J Orthop Surg Res.* 2019;14(1):198.
191. **Qi X, Zhang J, Yuan H, Xu Z, Li Q, Niu X, et al.**
Exosomes Secreted by Human-Induced Pluripotent Stem Cell-Derived Mesenchymal Stem Cells Repair Critical-Sized Bone Defects through Enhanced Angiogenesis and Osteogenesis in Osteoporotic Rats. *Int J Biol Sci.* 2016;12(7):836-849.
192. **Jeong W, Kim YS, Roh TS, Kang EH, Jung BK, Yun IS.**
The effect of combination therapy on critical-size bone defects using non-activated platelet-rich plasma and adipose-derived stem cells. *Childs Nerv Syst.* 2020;36(1):145-151.

193. **Shanbhag S, Pandis N, Mustafa K, Nyengaard JR, Stavropoulos A.**
Cell Cotransplantation Strategies for Vascularized Craniofacial Bone Tissue Engineering: A Systematic Review and Meta-Analysis of Preclinical In Vivo Studies. *Tissue Eng Part B Rev.* 2017;23(2):101-117.
194. **Vahabi S, Amirizadeh N, Shokrgozar MA, Mofeed R, Mashhadi A, Aghaloo M, et al.**
A comparison between the efficacy of Bio-Oss, hydroxyapatite tricalcium phosphate and combination of mesenchymal stem cells in inducing bone regeneration. *Chang Gung Med J.* 2012;35(1):28-37.
195. **Saad KA, Abu-Shahba AG, El-Drieny EA, Khedr MS.**
Evaluation of the role of autogenous bone-marrow-derived mesenchymal stem cell transplantation for the repair of mandibular bone defects in rabbits. *J Craniomaxillofac Surg.* 2015;43(7):1151-1160.
196. **Marcacci M, Kon E, Moukhachev V, Lavroukov A, Kutepov S, Quarto R, et al.**
Stem cells associated with macroporous bioceramics for long bone repair: 6- to 7-year outcome of a pilot clinical study. *Tissue Eng.* 2007;13(5):947-955.
197. **Vulcano E, Murena L, Cherubino P, Falvo DA, Rossi A, Baj A, et al.**
Treatment of severe post-traumatic bone defects with autologous stem cells loaded on allogeneic scaffolds. *Surg Technol Int.* 2012;22:291-301.
198. **Šponer P, Filip S, Kučera T, Brtková J, Urban K, Palička V, et al.**
Utilizing Autologous Multipotent Mesenchymal Stromal Cells and β -Tricalcium Phosphate Scaffold in Human Bone Defects: A Prospective, Controlled Feasibility Trial. *Biomed Res Int.* 2016;2016:2076061.
199. **Chu W, Wang X, Gan Y, Zhuang Y, Shi D, Liu F et al.**
Screen-enrich-combine circulating system to prepare MSC/ β -TCP for bone repair in fractures with depressed tibial plateau. *Regen Med.* 2019;14(6):555-569.
200. **Arden N, Nevitt MC.**
Osteoarthritis: epidemiology. *Best Pract Res Clin Rheumatol* 2006;20:3-25.
201. **Altman R, Alarcon G, Appelrouth D, Bloch D, Borenstein D, Brandt K, et al.**
The American College of Rheumatology criteria for the classification and reporting of osteoarthritis of the hip. *Arthritis Rheum* 1991;34:505-14.
202. **Giwnewer U, Rubin G, Orbach H, Rozen N.**
[TREATMENT FOR OSTEOARTHRITIS OF THE KNEE] *Harefuah.* 2016;155(7):403-406.

203. **Hussain SM, Neilly DW, Baliga S, Patil S, Meek R.**
Knee osteoarthritis: a review of management options. *Scott Med J.* 2016;61(1):7–16.
204. **Richette, P.**
Approches thérapeutiques de l'arthrose. *Thérapie.* 2011;66(5):383-390.
205. **Knutsen G, Drogset JO, Engebretsen L, Grontvedt T, Ludvigsen TC, Loken S, et al.**
A randomized multicenter trial comparing autologous chondrocyte implantation with microfracture: longterm follow-up at 14 to 15 years. *J Bone Jt Surg Am.* 2016;98(16):1332–9.
206. **Gupta PK, Das AK, Chullikana A, Majumdar AS.**
Mesenchymal stem cells for cartilage repair in osteoarthritis. *Stem Cell Res Ther.* 2012;3(4):25.
207. **Vega A, Martín-Ferrero MA, Del Canto F, Alberca M, García V, Munar A, et al.**
Treatment of knee osteoarthritis with allogeneic bone marrow mesenchymal stem cells: a randomized controlled trial. *Transplantation.* 2015;99(8):1681–1690.
208. **Murphy JM, Dixon K, Beck S, Fabian D, Feldman A, Barry F.**
Reduced chondrogenic and adipogenic activity of mesenchymal stem cells from patients with advanced osteoarthritis. *Arthritis Rheum.* 2002;46(3):704–13.
209. **Li CY, Wu XY, Tong JB, Yang XX, Zhao JL, Zheng QF, et al.**
Comparative analysis of human mesenchymal stem cells from bone marrow and adipose tissue under xeno-free conditions for cell therapy. *Stem Cell Res Ther.* 2015;6:55.
210. **Winter A, Breit S, Parsch D, Benz K, Steck E, Hauner H, et al.**
Cartilage-like gene expression in differentiated human stem cell spheroids: a comparison of bone marrow-derived and adipose tissue-derived stromal cells. *Arthritis Rheum.* 2003;48(2):418–29.
211. **Lopa S, Colombini A, Stanco D, de Girolamo L, Sansone V, Moretti M.**
Donor-matched mesenchymal stem cells from knee infrapatellar and subcutaneous adipose tissue of osteoarthritic donors display differential chondrogenic and osteogenic commitment. *Eur Cell Mater.* 2014;27:298–311.
212. **Im GI.**
Tissue Engineering in Osteoarthritis: Current Status and Prospect of Mesenchymal Stem Cell Therapy. *BioDrugs.* 2018;32(3):183-192.

213. **Afizah H, Hui JH.**
Mesenchymal stem cell therapy for osteoarthritis. *J Clin Orthop Trauma.* 2016;7(3):177-82.
214. **Jo CH, Lee YG, Shin WH, Kim H, Chai JW, Jeong EC, et al.**
Intra-articular injection of mesenchymal stem cells for the G. Im treatment of osteoarthritis of the knee: a proof-of-concept clinical trial. *Stem Cells.* 2014;32(5):1254-66.
215. **Soler R, Orozco L, Munar A, Huguet M, Lopez R, Vives J, et al.**
Final results of a phase I-II trial using ex vivo expanded autologous Mesenchymal Stromal Cells for the treatment of osteoarthritis of the knee confirming safety and suggesting cartilage regeneration. *Knee.* 2016;23(4):647-54.
216. **Kim YS, Choi YJ, Koh YG.**
Mesenchymal stem cell implantation in knee osteoarthritis: an assessment of the factors influencing clinical outcomes. *Am J Sports Med.* 2015;43(9):2293-301.
217. **Ko JY, Kim KI, Park S, Im GI.**
In vitro chondrogenesis and in vivo repair of osteochondral defect with human induced pluripotent stem cells. *Biomaterials.* 2014;35(11):3571-81.
218. **Kim YS, Kwon OR, Choi YJ, Suh DS, Heo DB, Koh YG.**
Comparative matched-pair analysis of the injection versus implantation of mesenchymal stem cells for knee osteoarthritis. *Am J Sports Med.* 2015;43(11):2738-46.
219. **Leijs MJ, van Buul GM, Lubberts E, Bos PK, Verhaar JA, Hoogduijn MJ, et al.**
Effect of arthritic synovial fluids on the expression of immunomodulatory factors by mesenchymal stem cells: an explorative in vitro study. *Front Immunol.* 2012;3:231.
220. **van Buul GM, Villafuertes E, Bos PK, Waarsing JH, Kops N, Narcisi R, et al.**
Mesenchymal stem cells secrete factors that inhibit inflammatory processes in short-term osteoarthritic synovium and cartilage explant culture. *Osteoarthr Cartil.* 2012;20:1186-1196.
221. **Manferdini C, Maumus M, Gabusi E, Piacentini A, Filardo G, Peyrafitte JA, et al.**
Adipose-derived mesenchymal stem cells exert antiinflammatory effects on chondrocytes and synoviocytes from osteoarthritis patients through prostaglandin E2. *Arthritis Rheum.* 2013;65:1271-1281.
222. **Topoluk N, Steckbeck K, Siatkowski S, Burnikel B, Tokish J, Mercuri J.**
Amniotic mesenchymal stem cells mitigate osteoarthritis progression in a synovial macrophage-mediated in vitro explant coculture model. *J Tissue Eng Regen Med.* 2017.

223. **Lopa S, Colombini A, Moretti M, de Girolamo L.**
Injective mesenchymal stem cell-based treatments for knee osteoarthritis: from mechanisms of action to current clinical evidences. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc.* 2019;27(6):2003-2020.
224. **Al-Najar M, Khalil H, Al-Ajlouni J, Al-Antary E, Hamdan M, Rahmeh R, et al.**
Intra-articular injection of expanded autologous bone marrow mesenchymal cells in moderate and severe knee osteoarthritis is safe: a phase I/II study. *J Orthop Surg Res.* 2017;12(1):190.
225. **Garay-Mendoza D, Villarreal-Martínez L, Garza-Bedolla A, Pérez-Garza DM, Acosta-Olivo C, Vilchez-Cavazos F, et al.**
The effect of intra-articular injection of autologous bone marrow stem cells on pain and knee function in patients with osteoarthritis. *Int J Rheum Dis.* 2018;21(1):140-147..
226. **Lamo-Espinosa JM, Mora G, Blanco JF, Granero-Moltó F, Núñez-Córdoba JM, López-Elío S, et al.**
Intra-articular injection of two different doses of autologous bone marrow mesenchymal stem cells versus hyaluronic acid in the treatment of knee osteoarthritis: multicenter randomized controlled clinical trial (phase I/II). *J Transl Med.* 2016;14(1):246.
227. **Pers YM, Rackwitz L, Ferreira R, Pullig O, Delfour C, Barry F, et al.**
Adipose Mesenchymal Stromal Cell-Based Therapy for Severe Osteoarthritis of the Knee: A Phase I Dose-Escalation Trial. *Stem Cells Transl Med.* 2016;5(7):847-856.
228. **Song Y, Du H, Dai C, et al.**
Human adipose-derived mesenchymal stem cells for osteoarthritis: a pilot study with long-term follow-up and repeated injections. *Regen Med.* 2018;13(3):295-307.
229. **Matas J, Orrego M, Amenabar D, Infante C, Tapia-Limonchi R, Cadiz MI, Alcayaga-Miranda F et al.**
Umbilical cord-derived mesenchymal stromal cells (MSCs) for knee osteoarthritis: repeated MSC dosing is superior to a single MSC dose and to hyaluronic acid in a controlled randomized phase I/II trial. *Stem Cells Transl Med.* 2019;8(3):215-224.
230. **Gupta PK, Chullikana A, Rengasamy M, Shetty N, Pandey V, Agarwal V et al.**
Efficacy and safety of adult human bone marrow-derived, cultured, pooled, allogeneic mesenchymal stromal cells (Stempeucel®): preclinical and clinical trial in osteoarthritis of the knee joint. *Arthritis Res Ther.* 2016;18(1):301.

231. **Bastos R, Mathias M, Andrade R, Amaral RJFC, Schott V, Balduino A et al.**
Intra-articular injection of culture-expanded mesenchymal stem cells with or without addition of platelet-rich plasma is effective in decreasing pain and symptoms in knee osteoarthritis: a controlled, double-blind clinical trial. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc.* 2020;28(6):1989-1999.
232. **Betsch M, Schnependahl J, Thuns S, Herten M, Sager M, Jungbluth P, et al.**
Bone marrow aspiration concentrate and platelet rich plasma for osteochondral repair in a porcine osteochondral defect model. *Neves NM, ed. PLoS One.* 2013;8(8):e71602.
233. **Koh YG, Kwon OR, Kim YS, Choi YJ.**
Comparative outcomes of open-wedge high tibial osteotomy with platelet-rich plasma alone or in combination with mesenchymal stem cell treatment: a prospective study. *Arthroscopy.* 2014;30(11):1453-1460.
234. **Mehranfar S, Abdi Rad I, Mostafav E, Akbarzadeh A.**
The use of stromal vascular fraction (SVF), platelet-rich plasma (PRP) and stem cells in the treatment of osteoarthritis: an overview of clinical trials. *Artif Cells Nanomed Biotechnol.* 2019;47(1):882-890.
235. **Yubo M, Yanyan L, Li L, Tao S, Bo L, Lin C.**
Clinical efficacy and safety of mesenchymal stem cell transplantation for osteoarthritis treatment: A meta-analysis. *PLoS One.* 2017;12(4):e0175449.
236. **Wong KL, Lee KBL, Tai BC, Law P, Lee EH, Hui JHP.**
Injectable cultured bone marrow-derived mesenchymal stem cells in varus knees with cartilage defects undergoing high tibial osteotomy: a prospective, randomized controlled clinical trial with 2 years' follow-up. *Arthrosc J Arthrosc Relat Surg.* 2013;29(12):2020-2028.
237. **Saw KY, Anz A, Merican S, Tay YG, Ragavanaidu K, Jee CS et al.**
Articular cartilage regeneration with autologous peripheral blood progenitor cells and hyaluronic acid after arthroscopic subchondral drilling: a report of 5 cases with histology. *Arthroscopy.* 2011;27(4):493-506.
238. **Haien Z, Jiachang W, Qiang L, Yufeng M, Zhenwei J.**
Osteochondral Autologous Transplantation Compared to Microfracture for Treating Osteochondral Defect: An Updated Meta-analysis of Randomized Controlled Trials.
239. **Borakati A, Mafi R, Mafi P, Khan WS.**
A Systematic Review And Meta-Analysis of Clinical Trials of Mesenchymal Stem Cell Therapy for Cartilage Repair. *Curr Stem Cell Res Ther.* 2018;13(3):215-225.

- 240. Ha CW, Park YB, Kim SH, Lee HJ.**
Intra-articular Mesenchymal Stem Cells in Osteoarthritis of the Knee: A Systematic Review of Clinical Outcomes and Evidence of Cartilage Repair. *Arthroscopy*. 2019;35(1):277-288.e2.
- 241. Peeters CMM, Leijts MJC, Reijman M, van Osch GJVM, Bos PK.**
Safety of intra-articular cell-therapy with culture-expanded stem cells in humans: a systematic literature review. *Osteoarthr Cartil*. 2013;21(10):1465-1473.
- 242. Pas HI, Winters M, Haisma HJ, Koenis MJ, Tol JL, Moen MH.**
Stem cell injections in knee osteoarthritis: a systematic review of the literature. *Br J Sports Med*. 2017;51(15):1125-1133.
- 243. Park YB, Ha CW, Lee CH, Yoon YC, Park YG.**
Cartilage Regeneration in Osteoarthritic Patients by a Composite of Allogeneic Umbilical Cord Blood-Derived Mesenchymal Stem Cells and Hyaluronate Hydrogel: Results from a Clinical Trial for Safety and Proof-of-Concept with 7 Years of Extended Follow-Up. *Stem Cells Transl Med*. 2017;6(2):613-621.
- 244. Wakitani S, Imoto K, Yamamoto T, Saito M, Murata N, Yoneda M.**
Human autologous culture expanded bone marrow mesenchymal cell transplantation for repair of cartilage defects in osteoarthritic knees. *Osteoarthritis Cartilage*. 2002;10(3):199-206.
- 245. Davatchi F, Abdollahi BS, Mohyeddin M, Shahram F, Nikbin B.**
Mesenchymal stem cell therapy for knee osteoarthritis. Preliminary report of four patients. *Int J Rheum Dis*. 2011;14(2):211-215.
- 246. Emadedin M, Aghdami N, Taghiyar L, Fazeli R, Moghadasali R, Jahangir S, et al.**
Intra-articular injection of autologous mesenchymal stem cells in six patients with knee osteoarthritis. *Arch Iran Med*. 2012;15(7):422-428.
- 247. Koh YG, Choi YJ.**
Infrapatellar fat pad-derived mesenchymal stem cell therapy for knee osteoarthritis. *Knee*. 2012;19(6):902-907.
- 248. Orozco L, Munar A, Soler R, Alberca M, Soler F, Huguet M, et al.**
Treatment of knee osteoarthritis with autologous mesenchymal stem cells: a pilot study. *Transplantation*. 2013;95(12):1535-1541.

249. **Bui KH-T, Duong TD, Nguyen NT, Nguyen TD, Le VT, Mai VT, et al.**
Symptomatic knee osteoarthritis treatment using autologous adipose derived stem cells and platelet-rich plasma: A clinical study. *Biomed Res Ther* 2014;1:2-8.
250. **Kim YS, Choi YJ, Suh DS, Heo DB, Kim YI, Ryu JS et al.**
Mesenchymal stem cell implantation in osteoarthritic knees: is fibrin glue effective as a scaffold?. *Am J Sports Med.* 2015;43(1):176-185.
251. **Kim YS, Kwon OR, Choi YJ, Suh DS, Heo DB, Koh YG.**
Comparative matched-pair analysis of the injection versus implantation of mesenchymal stem cells for knee osteoarthritis. *Am J Sports Med.* 2015;43(11):2738-46.
252. **Kim YS, Choi YJ, Lee SW, Kwon OR, Suh DS, Heo DB, et al.**
Assessment of clinical and MRI outcomes after mesenchymal stem cell implantation in patients with knee osteoarthritis: a prospective study. *Osteoarthritis Cartilage.* 2016;24(2):237-245.
253. **Piuzzi NS, Ng M, Chughtai M, Khlopas A, Ng K, Mont MA, et al.**
The stem-cell market for the treatment of knee osteoarthritis: a patient perspective. *J Knee Surg.* 2018;31(6):551-556.
254. **Chu CR, Rodeo S, Bhutani N, Goodrich LR, Huard J, Irrgang J, LaPrade RF, et al.**
Optimizing clinical use of biologics in orthopaedic surgery. *J Am Acad Orthop Surg.* 2019;27(2):e50-e63.
255. **Salata MJ, Gibbs AE, Sekiya JK.**
A systematic review of clinical outcomes in patients undergoing meniscectomy. *Am J Sports Med.* 2010;38(9):1907-1916.
256. **Greis PE, Bardana DD, Holmstrom MC, Burks RT.**
Meniscal injury: I. Basic science and evaluation. *J Am Acad Orthop Surg.* 2002;10(3):168-176.
257. **Makris EA, Hadidi P, Athanasiou KA.**
The knee meniscus: structure-function, pathophysiology, current repair techniques, and prospects for regeneration. *Biomaterials.* 2011;32(30):7411-7431.
258. **Stärke C, Kopf S, Petersen W, Becker R.**
Meniscal repair. *Arthroscopy.* 2009;25(9):1033-.

259. **Yu H, Adesida AB, Jomha NM.**
Meniscus repair using mesenchymal stem cells – a comprehensive review. *Stem Cell Res Ther.* 2015;6(1):86.
260. **Yamasaki T, Deie M, Shinomiya R, Izuta Y, Yasunaga Y, Yanada S, et al.**
Meniscal regeneration using tissue engineering with a scaffold derived from a rat meniscus and mesenchymal stromal cells derived from rat bone marrow. *J Biomed Mater Res A.* 2005;75(1):23–30.
261. **Yamasaki T, Deie M, Shinomiya R, Yasunaga Y, Yanada S, Ochi M.**
Transplantation of meniscus regenerated by tissue engineering with a scaffold derived from a rat meniscus and mesenchymal stromal cells derived from rat bone marrow. *Artif Organs.* 2008;32(7):519–524.
262. **Agung M, Ochi M, Yanada S, Adachi N, Izuta Y, Yamasaki T, et al.**
Mobilization of bone marrow-derived mesenchymal stem cells into the injured tissues after intraarticular injection and their contribution to tissue regeneration. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc.* 2006;14(12):1307–1314.
263. **Horie M, Choi H, Lee RH, Reger RL, Ylostalo J, Muneta T, et al.**
Intra-articular injection of human mesenchymal stem cells (MSCs) promote rat meniscal regeneration by being activated to express Indian hedgehog that enhances expression of type II collagen. *Osteoarthritis Cartilage.* 2012;20(10):1197–1207.
264. **Katagiri H, Muneta T, Tsuji K, Horie M, Koga H, Ozeki N, et al.**
Transplantation of aggregates of synovial mesenchymal stem cells regenerates meniscus more effectively in a rat massive meniscal defect. *Biochem Biophys Res Commun.* 2013;435:603–9.
265. **Abdel-Hamid M, Hussein MR, Ahmad AF, Elgezawi EM.**
Enhancement of the repair of meniscal wounds in the red-white zone (middle third) by the injection of bone marrow cells in canine animal model. *Int J Exp Pathol.* 2005;86(2):117–123.
266. **Ferris DJ, Frisbie DD, Kisiday JD, McIlwraith CW, Hague BA, Major MD, et al.**
Clinical outcome after intra-articular administration of bone marrow derived mesenchymal stem cells in 33 horses with stifle injury. *Vet Surg.* 2014;43(3):255–265.
267. **Centeno CJ, Busse D, Kisiday J, Keohan C, Freeman M, Karli D.**
Increased knee cartilage volume in degenerative joint disease using percutaneously implanted, autologous mesenchymal stem cells. *Pain Physician.* 2008;11(3):343–353.

268. **Pak J, Lee JH, Lee SH.**
Regenerative repair of damaged meniscus with autologous adipose tissue-derived stem cells. *Biomed Res Int.* 2014;2014:436029.
269. **Vangsness C, Thomas J, Farr J, Boyd J, Dellaero DT, Mills CR, et al.**
Adult Human Mesenchymal Stem Cells Delivered via Intra-Articular Injection to the Knee Following Partial Medial Meniscectomy. *J Bone Joint Surg.* 2014;96(2): 90-98.
270. **Whitehouse MR, Howells NR, Parry MC, Austin E, Kafienah W, Brady K, et al.**
Repair of Torn Avascular Meniscal Cartilage Using Undifferentiated Autologous Mesenchymal Stem Cells: From In Vitro Optimization to a First-in-Human Study. *Stem Cells Transl Med.* 2017;6(4):1237-1248.
271. **Rahimov, and Louis M.**
The cell biology of disease: cellular and molecular mechanisms underlying muscular dystrophy. *J Cell Biol.* 2013;201(4):499-510..
272. **Pannérec A, Marazzi G, Sassoon D.**
Stem cells in the hood: the skeletal muscle niche. *Trends in Molecular Medicine.* 2012;18(10):599-606.
273. **Dunn A, Talovic M, Patel K, Patel A, Marcinczyk M, Garg K.**
Biomaterial and stem cell-based strategies for skeletal muscle regeneration. *J Orthop Res.* 2019;37(6):1246-1262.
274. **Winkler T, von Roth P, Matziolis G, Mehta M, Perka C, Duda GN.**
Dose-response relationship of mesenchymal stem cell transplantation and functional regeneration after severe skeletal muscle injury in rats. *Tissue Eng Part A.* 2009;15(3):487-492.
275. **Corona BT, Rathbone CR.**
Accelerated functional recovery after skeletal muscle ischemia-reperfusion injury using freshly isolated bone marrow cells. *J Surg Res.* 2014;188(1):100-109.
276. **Gang EJ, Darabi R, Bosnakovski D, Xu Z, Kamm KE, Kyba M, et al.**
Engraftment of mesenchymal stem cells into dystrophin-deficient mice is not accompanied by functional recovery. *Exp Cell Res.* 2009;315(15):2624-2636.
277. **de la Garza-Rodea AS, van der Velde I, Boersma H, Gonçalves MA, van Bekkum DW, de Vries AA, et al.**
Long-term contribution of human bone marrow mesenchymal stromal cells to skeletal muscle regeneration in mice. *Cell Transplant.* 2011;20(2):217-231.

278. **Zhang Y, Zhu Y, Li Y, Cao J, Zhang H, Chen M, et al.**
Long-term engraftment of myogenic progenitors from adipose-derived stem cells and muscle regeneration in dystrophic mice. *Hum Mol Genet.* 2015;24(21):6029-6040.
279. **Sassoli C, Vallone L, Tani A, Chellini F, Nosi D, Zecchi-Orlandini S.**
Combined use of bone marrow-derived mesenchymal stromal cells (BM-MSCs) and platelet rich plasma (PRP) stimulates proliferation and differentiation of myoblasts in vitro: new therapeutic perspectives for skeletal muscle repair/regeneration. *Cell and Tissue Research* (2018) 372:549-570.
280. **de la Garza-Rodea AS, van der Velde-van Dijke I, Boersma H, Gonçalves MA, van Bekkum DW, de Vries AA, et al.**
Myogenic properties of human mesenchymal stem cells derived from three different sources. *Cell Transplant.* 2012;21(1):153-173.
281. **Pinheiro CH, de Queiroz JC, Guimarães-Ferreira L, Vitzel KF, Nachbar RT, de Sousa LG, et al.**
Local injections of adipose-derived mesenchymal stem cells modulate inflammation and increase angiogenesis ameliorating the dystrophic phenotype in dystrophin-deficient skeletal muscle. *Stem Cell Rev Rep.* 2012;8(2):363-374.
282. **Vieira NM, Valadares M, Zucconi E, Secco M, Bueno CR Jr, Brandalise V, et al.**
Human adipose-derived mesenchymal stromal cells injected systemically into GRMD dogs without immunosuppression are able to reach the host muscle and express human dystrophin. *Cell Transplant.* 2012;21(7):1407-1417.
283. **Gang EJ, Jeong JA, Hong SH, Hwang SH, Kim SW, Yang IH, et al.**
Skeletal myogenic differentiation of mesenchymal stem cells isolated from human umbilical cord blood. *Stem Cells.* 2004;22(4):617-624.
284. **V Vieira NM, Zucconi E, Bueno CR Jr, Secco M, Suzuki MF, Bartolini P, et al.**
Human multipotent mesenchymal stromal cells from distinct sources show different in vivo potential to differentiate into muscle cells when injected in dystrophic mice. *Stem Cell Rev.* 2010;6(4):560-566.
285. **Valero MC, Huntsman HD, Liu J, Zou K, Boppart MD.**
Eccentric exercise facilitates mesenchymal stem cell appearance in skeletal muscle. *PLoS One.* 2012;7(1):e29760.

286. **Deasy BM, Gharaibeh BM, Pollett JB, Jones MM, Lucas MA, Kanda Y, et al.**
Long-term self-renewal of postnatal muscle-derived stem cells. *Mol Biol Cell.* 2005;16(7):3323-33.
287. **Jackson WM, Nesti LJ, Tuan RS.**
Potential therapeutic applications of muscle-derived mesenchymal stem and progenitor cells. *Expert Opin Biol Ther.* 2010;10(4):505-517.
288. **Nakamura Y, Miyaki S, Ishitobi H, Matsuyama S, Nakasa T, Kamei N, et al.**
Mesenchymal-stem-cell-derived exosomes accelerate skeletal muscle regeneration. *FEBS Lett.* 2015;589(11):1257-1265.
289. **Mitchell R, Mellows B, Sheard J, Antonioli M, Kretz O, Chambers D, et al.**
Secretome of adipose-derived mesenchymal stem cells promotes skeletal muscle regeneration through synergistic action of extracellular vesicle cargo and soluble proteins. *Stem Cell Res Ther.* 2019;10(1):116. Published 2019 Apr 5.
290. **Mellows B, Mitchell R, Antonioli M, Kretz O, Chambers D, Zeuner MT, et al.**
Protein and Molecular Characterization of a Clinically Compliant Amniotic Fluid Stem Cell-Derived Extracellular Vesicle Fraction Capable of Accelerating Muscle Regeneration Through Enhancement of Angiogenesis. *Stem Cells Dev.* 2017;26(18):1316-1333.
291. **Natsu K, Ochi M, Mochizuki Y, Hachisuka H, Yanada S, Yasunaga Y.**
Allogeneic bone marrow-derived mesenchymal stromal cells promote the regeneration of injured skeletal muscle without differentiation into myofibers. *Tissue Eng.* 2004;10(7-8):1093-.
292. **Merritt EK, Cannon MV, Hammers DW, Le LN, Gokhale R, Sarathy A, et al.**
Repair of traumatic skeletal muscle injury with bone-marrow-derived mesenchymal stem cells seeded on extracellular matrix. *Tissue Eng Part A.* 2010;16(9):2871-2881.
293. **Hwang JH, Kim IG, Piao S, Jung AR, Lee JY, Park KD et al.**
Combination therapy of human adipose-derived stem cells and basic fibroblast growth factor hydrogel in muscle regeneration. *Biomaterials.* 2013;34(25):6037-6045.
294. **Andrade BM, Baldanza MR, Ribeiro KC, Porto A, Peçanha R, Fortes FS, et al.**
Bone marrow mesenchymal cells improve muscle function in a skeletal muscle re-injury model. *PLoS One.* 2015;10(6):e0127561.
295. **Pumberger M, Qazi TH, Ehrentraut MC, Textor M, Kueper J, Stoltenburg-Didinger G, et al.**
Synthetic niche to modulate regenerative potential of MSCs and enhance skeletal muscle regeneration. *Biomaterials.* 2016;99:95-108.

- 296. Ruehle MA, Stevens HY, Beedle AM, Guldberg RE, Call JA.**
Aggregate mesenchymal stem cell delivery ameliorates the regenerative niche for muscle repair. *J Tissue Eng Regen Med.* 2018;12(8):1867-1876.
- 297. Qiu X, Liu S, Zhang H, Zhu B, Su Y, Zheng C, et al.**
Mesenchymal stem cells and extracellular matrix scaffold promote muscle regeneration by synergistically regulating macrophage polarization toward the M2 phenotype. *Stem Cell Res Ther.* 2018;9(1):88.
- 298. Aurora A, Wrice N, Walters TJ, Christy RJ, Natesan S.**
A PEGylated platelet free plasma hydrogel based composite scaffold enables stable vascularization and targeted cell delivery for volumetric muscle loss. *Acta Biomater.* 2018;65:150-162.
- 299. Imam MA, Holton J, Horriat S, Negida AS, Grubhofer F, Gupta R, et al.**
A systematic review of the concept and clinical applications of bone marrow aspirate concentrate in tendon pathology. *SICOT J.* 2017;3:58.
- 300. de Albornoz PM, Aicale R, Forriol F, Maffulli N.**
Cell Therapies in Tendon, Ligament, and Musculoskeletal System Repair. *Sports Med Arthrosc Rev.* 2018;26(2):48-58..
- 301. Clement ND, Nie YX, McBirnie JM.**
Management of degenerative rotator cuff tears: a review and treatment strategy. *Sports Med Arthrosc Rehabil Ther Technol.* 2012;4:48.
- 302. Carbonel I, Martínez AA, Aldea E, Ripalda J, Herrera A.**
Outcome and structural integrity of rotator cuff after arthroscopic treatment of large and massive tears with double row technique: a 2-year followup. *Adv Orthop.* 2013;2013:914148.
- 303. Luo Q, Song G, Song Y, Xu B, Qin J, Shi Y.**
Indirect co-culture with tenocytes promotes proliferation and mRNA expression of tendon/ligament related genes in rat bone marrow mesenchymal stem cells. *Cytotechnology.* 2009;61(1-2):1-10.
- 304. Costa-Almeida R, Calejo I, Gomes ME.**
Mesenchymal Stem Cells Empowering Tendon Regenerative Therapies. *Int J Mol Sci.* 2019;20(12):3002.

305. **Chen HS, Su YT, Chan TM, Su YJ, Syu WS, Harn HJ, et al.**
Human adipose-derived stem cells accelerate the restoration of tensile strength of tendon and alleviate the progression of rotator cuff injury in a rat model. *Cell Transplant.* 2015;24(3):509–520.
306. **Valencia Mora M, Antuña Antuña S, García Arranz M, Carrascal MT, Barco R.**
Application of adipose tissue-derived stem cells in a rat rotator cuff repair model. *Injury.* 2014;45 Suppl 4:S22–S27.
307. **Kim SH, Chung SW, Oh JH.**
Expression of insulin-like growth factor type 1 receptor and myosin heavy chain in rabbit's rotator cuff muscle after injection of adipose-derived stem cell. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc.* 2014;22(11):2867–2873.
308. **Park GY, Kwon DR, Lee SC.**
Regeneration of Full-Thickness Rotator Cuff Tendon Tear After Ultrasound-Guided Injection With Umbilical Cord Blood-Derived Mesenchymal Stem Cells in a Rabbit Model. *Stem Cells Transl Med.* 2015;4(11):1344–1351.
309. **Tornero-Esteban P, Hoyas JA, Villafuertes E, Rodríguez-Bobada C, López-Gordillo Y, Rojo FJ, et al.**
Efficacy of supraspinatus tendon repair using mesenchymal stem cells along with a collagen I scaffold. *J Orthop Surg Res.* 2015;10:124.
310. **Omi R, Gingery A, Steinmann SP, Amadio PC, An KN, Zhao C.**
Rotator cuff repair augmentation in a rat model that combines a multilayer xenograft tendon scaffold with bone marrow stromal cells. *J Shoulder Elbow Surg.* 2016;25(3):469–477.
311. **Kim YS, Lee HJ, Ok JH, Park JS, Kim DW.**
Survivorship of implanted bone marrow-derived mesenchymal stem cells in acute rotator cuff tear. *J Shoulder Elbow Surg.* 2013;22(8):1037–1045.
312. **Ellera Gomes JL, da Silva RC, Silla LM, Abreu MR, Pellanda R.**
Conventional rotator cuff repair complemented by the aid of mononuclear autologous stem cells. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc.* 2012;20(2):373–377.
313. **Taniguchi N, Suenaga N, Oizumi N, Miyoshi N, Yamaguchi H, Inoue K, et al.**
Bone marrow stimulation at the footprint of arthroscopic surface-holding repair advances cuff repair integrity. *J Shoulder Elbow Surg.* 2015;24(6):860–866.

- 314. Hernigou P, Flouzat Lachaniette CH, Delambre J, Zilber S, Duffiet P, Chevallier N et al.**
Biologic augmentation of rotator cuff repair with mesenchymal stem cells during arthroscopy improves healing and prevents further tears: a case-controlled study. *Int Orthop.* 2014;38(9):1811–1818.
- 315. Jo CH, Shin JS, Park IW, Kim H, Lee SY.**
Multiple channeling improves the structural integrity of rotator cuff repair. *Am J Sports Med.* 2013;41(11):2650–2657.
- 316. Lamas JR, García-Fernández C, Tornero-Esteban P, Lópiz Y, Rodriguez-Rodriguez L, Ortega L, et al.**
Adverse effects of xenogenic scaffolding in the context of a randomized double-blind placebo-controlled study for repairing full-thickness rotator cuff tears. *Trials.* 2019;20(1):387.
- 317. Jo CH, Chai JW, Jeong EC, Oh S, Yoon KS.**
Intratendinous Injection of Mesenchymal Stem Cells for the Treatment of Rotator Cuff Disease: A 2-Year Follow-Up Study. *Arthroscopy.* 2020;36(4):971–980.
- 318. Lee SY, Kim W, Lim C, Chung SG.**
Treatment of Lateral Epicondylitis by Using Allogeneic Adipose-Derived Mesenchymal Stem Cells: A Pilot Study. *Stem Cells.* 2015;33(10):2995–3005.
- 319. Usulli FG, Grassi M, Maccario C, Vigano' M, Lanfranchi L, Alfieri Montrasio U, et al.**
Intratendinous adipose-derived stromal vascular fraction (SVF) injection provides a safe, efficacious treatment for Achilles tendinopathy: results of a randomized controlled clinical trial at a 6-month follow-up. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc.* 2018;26(7):2000–2010.
- 320. Pascual-Garrido C, Rolón A, Makino A.**
Treatment of chronic patellar tendinopathy with autologous bone marrow stem cells: a 5-year-followup. *Stem Cells Int.* 2012;2012:953510.
- 321. Frank CB.**
Ligament structure, physiology and function. *J Musculoskelet Neuronal Interact.* 2004;4(2):199–201.
- 322. Uchida R, Horibe S, Nakamura N.**
Stem cell-based therapy in anterior cruciate ligament repair. *Annals of Joint.* 2017;2:76–76.

- 323. Kanaya A, Deie M, Adachi N, Nishimori M, Yanada S, Ochi M.**
Intra-articular injection of mesenchymal stromal cells in partially torn anterior cruciate ligaments in a rat model. *Arthroscopy*. 2007;23(6):610-617.
- 324. Oe K, Kushida T, Okamoto N, Umeda M, Nakamura T, Ikehara S et al.**
New strategies for anterior cruciate ligament partial rupture using bone marrow transplantation in rats. *Stem Cells Dev*. 2011;20(4):671-679.
- 325. Ju YJ, Muneta T, Yoshimura H, Koga H, Sekiya I.**
Synovial mesenchymal stem cells accelerate early remodeling of tendon-bone healing. *Cell Tissue Res*. 2008;332(3):469-478.
- 326. Hevesi M, LaPrade M, Saris DBF, Krych AJ.**
Stem Cell Treatment for Ligament Repair and Reconstruction. *Curr Rev Musculoskelet Med*. 2019;12(4):446-450.
- 327. Wang Y, Shimmin A, Ghosh P, Marks P, Linklater J, Connell D, et al.**
Safety, tolerability, clinical, and joint structural outcomes of a single intra-articular injection of allogeneic mesenchymal precursor cells in patients following anterior cruciate ligament reconstruction: a controlled double-blind randomised trial. *Arthritis Res Ther*. 2017;19(1):180.
- 328. Centeno C, Markle J, Dodson E, Stemper I, Williams C, Hyzy M et al.**
Symptomatic anterior cruciate ligament tears treated with percutaneous injection of autologous bone marrow concentrate and platelet products: a non-controlled registry study. *J Transl Med*. 2018;16(1):246.

قسم الطب

أقسم بالله العظيم

أن أراقب الله في مهنتي.

وأن أصون حياة الإنسان في كافة أطوارها في كل الظروف
والأحوال باذلاً وسعي في استنقاذها من الهلاك والمرض
والألم والقلق.

وأن أحفظ للناس كرامتهم، وأستر عورتهم، وأكتم سرهم.
وأن أكون على الدوام من وسائل رحمة الله، باذلاً رعايتي الطبية للقريب والبعيد،
للصالح والطالح، والصديق والعدو.

وأن أثابر على طلب العلم، أسخره لنفع الإنسان .. لا لأذاه.
وأن أوقر من علمني، وأعلم من يصغرنني، وأكون أخاً لكل زميل في المهنة الطبية
متعاونين على البر والتقوى.

وأن تكون حياتي مصداق إيماني في سرّي وعلانيتي، نقيّة مما يشينها تجاه
الله ورسوله والمؤمنين.

والله على ما أقول شهيدا

مكانة الخلايا الجذعية اللممية الوسطية في علاج أمراض الجهاز الحركي

الأطروحة

قدمت ونوقشت علانية يوم 2020/11/04

من طرف

السيد صلاح الدين بجا

المزداد في 30 ماي 1993 بالجديدة

لنيل شهادة الدكتوراه في الطب

الكلمات الأساسية:

الخلايا الجذعية اللممية الوسطية - النخر العظمي - عدم الانجبار - الفصال العظمي -
الجهاز الحركي - العلاج الخلوي

اللجنة

الرئيس

ح. السعدي

السيد

أستاذ جراحة و تقويم العظام

المشرف

م. أ. بنهيمه

السيد

أستاذ جراحة و تقويم العظام

أ. بلبشير

السيد

أستاذ التشريح المرضي

الحكام

ع. عبكري

السيد

أستاذ جراحة و تقويم العظام