

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

ANNEE : 2016

THESE N : 16

**LES CELLULES SOUCHES :
ENTRE APPLICATIONS
ET DÉBAT ÉTHIQUE**

THÈSE

Présentée et soutenue publiquement.....

PAR

Mr. ERRAZAKALLAH Elmamoun
Né le 1 décembre 1989 à Errachidia

Pour l'Obtention du Doctorat en Pharmacie

MOTS CLES: cellules souches, thérapie cellulaire, applications
pharmaceutiques, débat éthique

MEMBRES DE JURY

| | |
|---|-------------------|
| Mr M. ZOUHDI Professeur de microbiologie | PRESIDENT |
| Mme S. TELLAL Professeur de biochimie | RAPPORTEUR |
| Mme S. ELHAMZAOUI Professeur de microbiologie | } JUGES |
| Mme N .MESSAOUDI Professeur d'hématologie | |
| Mr A . LAATIRIS Professeur de pharmacie galénique | |

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

سُبْحَانَكَ لَا عِلْمَ لَنَا إِلَّا مَا
عَلَّمْتَنَا إِنَّكَ أَنْتَ الْعَلِيمُ الْحَكِيمُ

سورة البقرة الآية: 32

صَلِّ عَلَى اللَّهِ الْعَظِيمِ



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

DOYENS HONORAIRES :

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

ADMINISTRATION :

Doyen : Professeur Mohamed ADNAOUI
Vice Doyen chargé des Affaires Académiques et étudiantes
Professeur Mohammed AHALLAT
Vice Doyen chargé de la Recherche et de la Coopération
Professeur Taoufiq DAKKA
Vice Doyen chargé des Affaires Spécifiques à la Pharmacie
Professeur Jamal TAOUFIK
Secrétaire Général : Mr. El Hassane AHALLAT

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

PROFESSEURS :

Mai et Octobre 1981

| | |
|--------------------------|-----------------------------|
| Pr. MAAZOUZI Ahmed Wajih | Chirurgie Cardio-Vasculaire |
| Pr. TAOBANE Hamid* | Chirurgie Thoracique |

Mai et Novembre 1982

| | |
|-------------------------|----------------------|
| Pr. BENOSMAN Abdellatif | Chirurgie Thoracique |
|-------------------------|----------------------|

Novembre 1983

| | |
|-------------------------------|--------------|
| Pr. HAJJAJ Najia ép. HASSOUNI | Rhumatologie |
|-------------------------------|--------------|

Décembre 1984

| | |
|--------------------------|---|
| Pr. MAAOUNI Abdelaziz | Médecine Interne – <i>Clinique Royale</i> |
| Pr. MAAZOUZI Ahmed Wajdi | Anesthésie -Réanimation |
| Pr. SETTAF Abdellatif | pathologie Chirurgicale |

Novembre et Décembre 1985

| | |
|-----------------------|-------------------------|
| Pr. BENJELLOUN Halima | Cardiologie |
| Pr. BENSALD Younes | Pathologie Chirurgicale |

Pr. EL ALAOUI Faris Moulay El Mostafa

Neurologie

Janvier, Février et Décembre 1987

Pr. AJANA Ali

Radiologie

Pr. CHAHED OUZZANI Houria

Gastro-Entérologie

Pr. EL YAACOUBI Moradh

Traumatologie Orthopédie

Pr. ESSAID EL FEYDI Abdellah

Gastro-Entérologie

Pr. LACHKAR Hassan

Médecine Interne

Pr. YAHYAOUI Mohamed

Neurologie

Décembre 1988

Pr. BENHAMAMOUCHE Mohamed Najib

Chirurgie Pédiatrique

Pr. DAFIRI Rachida

Radiologie

Pr. HERMAS Mohamed

Traumatologie Orthopédie

Décembre 1989

Pr. ADNAOUI Mohamed

Médecine Interne – *Doyen de la FMPR*

Pr. BOUKILI MAKHOUKHI Abdelali*

Cardiologie

Pr. CHAD Bouziane

Pathologie Chirurgicale

Pr. OUZZANI Taïbi Mohamed Réda

Neurologie

Janvier et Novembre 1990

Pr. CHKOFF Rachid

Pathologie Chirurgicale

Pr. HACHIM Mohammed*

Médecine-Interne

Pr. KHARBACH Aïcha

Gynécologie -Obstétrique

Pr. MANSOURI Fatima

Anatomie-Pathologique

Pr. TAZI Saoud Anas

Anesthésie Réanimation

Février Avril Juillet et Décembre 1991

Pr. AL HAMANY Zaïtounia

Anatomie-Pathologique

Pr. AZZOUZI Abderrahim

Anesthésie Réanimation – *Doyen de la FMPO*

Pr. BAYAHIA Rabéa

Néphrologie

Pr. BELKOUCHI Abdelkader

Chirurgie Générale

Pr. BENCHEKROUN Belabbes Abdellatif

Chirurgie Générale

Pr. BENSOUDA Yahia

Pharmacie galénique

Pr. BERRAHO Amina

Ophtalmologie

Pr. BEZZAD Rachid

Gynécologie Obstétrique

Pr. CHABRAOUI Layachi

Biochimie et Chimie

Pr. CHERRAH Yahia

Pharmacologie

Pr. CHOKAIRI Omar

Histologie Embryologie

Pr. KHATTAB Mohamed

Pédiatrie

Pr. SOULAYMANI Rachida

Pharmacologie – *Dir. du Centre National PV*

Pr. TAOUFIK Jamal

Chimie thérapeutique

Décembre 1992

Pr. AHALLAT Mohamed

Chirurgie Générale

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

Mars 1994

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

Mars 1994

Pr. ABBAR Mohamed*
Pr. ABDELHAK M'barek
Pr. BELAIDI Halima
Pr. BRAHMI Rida Slimane
Pr. BENTAHILA Abdelali
Pr. BENYAHIA Mohammed Ali
Pr. BERRADA Mohamed Saleh
Pr. CHAMI Ilham
Pr. CHERKAOUI Lalla Ouafae
Pr. EL ABBADI Najia

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

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

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

Pr. HANINE Ahmed*
Pr. JALIL Abdelouahed
Pr. LAKHDAR Amina
Pr. MOUANE Nezha

Radiologie
Chirurgie Générale
Gynécologie Obstétrique
Pédiatrie

Mars 1995

Pr. ABOUQUAL Redouane
Pr. AMRAOUI Mohamed
Pr. BAIDADA Abdelaziz
Pr. BARGACH Samir
Pr. CHAARI Jilali*
Pr. DIMOU M'barek*
Pr. DRISSI KAMILI Med Nordine*
Pr. EL MESNAOUI Abbas
Pr. ESSAKALI HOUSSYNI Leila
Pr. HDA Abdelhamid*
Pr. IBEN ATTYA ANDALOSSI Ahmed
Pr. OUAZZANI CHAHDI Bahia
Pr. SEFIANI Abdelaziz
Pr. ZEGGWAGH Amine Ali

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

Décembre 1996

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

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

Novembre 1997

Pr. ALAMI Mohamed Hassan
Pr. BEN SLIMANE Lounis
Pr. BIROUK Nazha
Pr. CHAOUIR Souad*
Pr. ERREIMI Naima
Pr. FELLAT Nadia
Pr. HAIMEUR Charki*
Pr. KADDOURI Nouredine
Pr. KOUTANI Abdellatif
Pr. LAHLOU Mohamed Khalid
Pr. MAHRAOUI CHAFIQ

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

Pr. OUAHABI Hamid*
Pr. TAOUFIQ Jallal
Pr. YOUSFI MALKI Mounia

Neurologie
Psychiatrie
Gynécologie Obstétrique

Novembre 1998

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

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

Janvier 2000

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

Pneumophtisiologie
Pédiatrie
Pédiatrie
Pneumo-ptisiologie
Chirurgie Générale
Chirurgie Générale
Pneumo-ptisiologie
Neurochirurgie
Traumatologie Orthopédie
Anesthésie-Réanimation **inspecteur SS**
Anesthésie-Réanimation
Médecine Interne

Novembre 2000

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

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

Pr. ROUIMI Abdelhadi*

Neurologie

Décembre 2000

Pr. ZOHAIR ABDELAH*

ORL

Décembre 2001

Pr. ABABOU Adil

Anesthésie-Réanimation

Pr. BALKHI Hicham*

Anesthésie-Réanimation

Pr. BENABDELJLIL Maria

Neurologie

Pr. BENAMAR Loubna

Néphrologie

Pr. BENAMOR Jouda

Pneumo-phtisiologie

Pr. BENELBARHDADI Imane

Gastro-Entérologie

Pr. BENNANI Rajae

Cardiologie

Pr. BENOUACHANE Thami

Pédiatrie

Pr. BEZZA Ahmed*

Rhumatologie

Pr. BOUCHIKHI IDRISSE Med Larbi

Anatomie

Pr. BOUMDIN El Hassane*

Radiologie

Pr. CHAT Latifa

Radiologie

Pr. DAALI Mustapha*

Chirurgie Générale

Pr. DRISSI Sidi Mourad*

Radiologie

Pr. EL HIJRI Ahmed

Anesthésie-Réanimation

Pr. EL MAAQILI Moulay Rachid

Neuro-Chirurgie

Pr. EL MADHI Tarik

Chirurgie-Pédiatrique

Pr. EL OUNANI Mohamed

Chirurgie Générale

Pr. ETTAIR Said

Pédiatrie

Pr. GAZZAZ Miloudi*

Neuro-Chirurgie

Pr. HRORA Abdelmalek

Chirurgie Générale

Pr. KABBAJ Saad

Anesthésie-Réanimation

Pr. KABIRI EL Hassane*

Chirurgie Thoracique

Pr. LAMRANI Moulay Omar

Traumatologie Orthopédie

Pr. LEKEHAL Brahim

Chirurgie Vasculaire Périphérique

Pr. MAHASSIN Fattouma*

Médecine Interne

Pr. MEDARHRI Jalil

Chirurgie Générale

Pr. MIKDAME Mohammed*

Hématologie Clinique

Pr. MOHSINE Raouf

Chirurgie Générale

Pr. NOUINI Yassine

Urologie

Pr. SABBAH Farid

Chirurgie Générale

Pr. SEFIANI Yasser

Chirurgie Vasculaire Périphérique

Pr. TAOUFIQ BENCHEKROUN Soumia

Pédiatrie

Décembre 2002

Pr. AL BOUZIDI Abderrahmane*

Anatomie Pathologique

Pr. AMEUR Ahmed *

Urologie

Pr. AMRI Rachida

Cardiologie

Pr. AOURARH Aziz*

Gastro-Entérologie

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

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

Janvier 2004

Pr. ABDELLEAH El Hassan
 Pr. AMRANI Mariam
 Pr. BENBOUZID Mohammed Anas
 Pr. BENKIRANE Ahmed*
 Pr. BOUGHALEM Mohamed*
 Pr. BOULAADAS Malik
 Pr. BOURAZZA Ahmed*
 Pr. CHAGAR Belkacem*
 Pr. CHERRADI Nadia
 Pr. EL FENNI Jamal*
 Pr. EL HANCHI ZAKI
 Pr. EL KHORASSANI Mohamed
 Pr. EL YOUNASSI Badreddine*
 Pr. HACHI Hafid

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

Pr. JABOUIRIK Fatima
Pr. KHABOUZE Samira
Pr. KHARMAZ Mohamed
Pr. LEZREK Mohammed*
Pr. MOUGHIL Said
Pr. OUBAAZ Abdelbarre*
Pr. TARIB Abdelilah*
Pr. TIJAMI Fouad
Pr. ZARZUR Jamila

Pédiatrie
Gynécologie Obstétrique
Traumatologie Orthopédie
Urologie
Chirurgie Cardio-Vasculaire
Ophtalmologie
Pharmacie Clinique
Chirurgie Générale
Cardiologie

Janvier 2005

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

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

Décembre 2005

Pr. CHANI Mohamed

Anesthésie Réanimation

Avril 2006

Pr. ACHEMLAL Lahsen*
Pr. AKJOUJ Said*
Pr. BELMEKKI Abdelkader*
Pr. BENCHEIKH Razika
Pr. BIYI Abdelhamid*
Pr. BOUHAFS Mohamed El Amine
Pr. BOULAHYA Abdellatif*

Rhumatologie
Radiologie
Hématologie
O.R.L
Biophysique
Chirurgie - Pédiatrique
Chirurgie Cardio – Vasculaire

Pr. CHENGUETI ANSARI Anas
Pr. DOGHMI Nawal
Pr. ESSAMRI Wafaa
Pr. FELLAT Ibtissam
Pr. FAROUDY Mamoun
Pr. GHADOUANE Mohammed*
Pr. HARMOUCHE Hicham
Pr. HANAFI Sidi Mohamed*
Pr. IDRIS LAHLOU Amine*
Pr. JROUNDI Laila
Pr. KARMOUNI Tariq
Pr. KILI Amina
Pr. KISRA Hassan
Pr. KISRA Mounir
Pr. LAATIRIS Abdelkader*
Pr. LMIMOUNI Badreddine*
Pr. MANSOURI Hamid*
Pr. OUANASS Abderrazzak
Pr. SAFI Soumaya*
Pr. SEKKAT Fatima Zahra
Pr. SOUALHI Mouna
Pr. TELLAL Saida*
Pr. ZAHRAOUI Rachida

Octobre 2007

Pr. ABIDI Khalid
Pr. ACHACHI Leila
Pr. ACHOUR Abdessamad*
Pr. AIT HOUSSA Mahdi*
Pr. AMHAJJI Larbi*
Pr. AMMAR Haddou*
Pr. AOUI Sarra
Pr. BAITE Abdelouahed*
Pr. BALOUCH Lhousaine*
Pr. BENZIANE Hamid*
Pr. BOUTIMZINE Nourdine
Pr. CHARKAOUI Naoual*
Pr. EHIRCHIOU Abdelkader*
Pr. ELABSI Mohamed
Pr. EL MOUSSAOUI Rachid
Pr. EL OMARI Fatima
Pr. GANA Rachid
Pr. GHARIB Nouredine
Pr. HADADI Khalid*
Pr. ICHOU Mohamed*

Gynécologie Obstétrique
Cardiologie
Gastro-entérologie
Cardiologie
Anesthésie Réanimation
Urologie
Médecine Interne
Anesthésie Réanimation
Microbiologie
Radiologie
Urologie
Pédiatrie
Psychiatrie
Chirurgie – Pédiatrique
Pharmacie Galénique
Parasitologie
Radiothérapie
Psychiatrie
Endocrinologie
Psychiatrie
Pneumo – Phtisiologie
Biochimie
Pneumo – Phtisiologie

Réanimation médicale
Pneumo phtisiologie
Chirurgie générale
Chirurgie cardio vasculaire
Traumatologie orthopédie
ORL
Parasitologie
Anesthésie réanimation **directeur ERSSM**
Biochimie-chimie
Pharmacie clinique
Ophtalmologie
Pharmacie galénique
Chirurgie générale
Chirurgie générale
Anesthésie réanimation
Psychiatrie
Neuro chirurgie
Chirurgie plastique et réparatrice
Radiothérapie
Oncologie médicale

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

Décembre 2007

Pr. DOUHAL ABDERRAHMAN

Décembre 2008

Pr ZOUBIR Mohamed*
Pr TAHIRI My El Hassan*

Mars 2009

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

Dermatologie
Radiothérapie
Anesthésie réanimation
Microbiologie
Réanimation médicale
Radiologie
Pneumo ptisiologie
Hématologie biologique
Parasitologie
Médecine préventive santé publique et hygiène
Virologie
Biochimie-chimie
Médecine interne
Radiologie
Microbiologie
Microbiologie
Radiothérapie
Chirurgie vasculaire périphérique
Ophtalmologie
Chirurgie générale
Traumatologie orthopédie
Parasitologie
Cardiologie

Ophtalmologie

Anesthésie Réanimation
Chirurgie Générale

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

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

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

PROFESSEURS AGREGES :

Octobre 2010

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

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

Pr. MOUJAHID Mountassir*
Pr. NAZIH Mouna*
Pr. ZOUAIDIA Fouad

Chirurgie générale
Hématologie
Anatomie pathologique

Mai 2012

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

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

Février 2013

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

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

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

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

Avril 2013

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

Stomatologie et Chirurgie Maxillo-faciale
Urologie
Médecine Interne

**Enseignants Militaires*

2- ENSEIGNANTS – CHERCHEURS SCIENTIFIQUES

PROFESSEURS / PRs. HABILITES

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

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

- 9 JAN 2015



Dédicaces



*A Allah
Tout puissant
Qui m'a inspiré
Qui m'a guidé dans le bon chemin
Je vous dois ce que je suis devenu
Louanges et remerciements
Pour votre clémence et miséricorde*

A ma très chère mère
ZHORHILLALI

Aucun mot, aussi expressif qu'il soit, ne saurait remercier à sa juste valeur l'être qui a consacré sa vie à parfaire notre éducation avec un dévouement inégal associé à beaucoup de sacrifice. Vous vous êtes investi à me transmettre le sens de la responsabilité, de la persévérance et de la droiture.

Merveilleuse maman j'espère que j'ai été à la hauteur de vos espérances.

Que ce modeste travail soit un début de mes récompenses envers vous.

Puisse Dieu vous garder longtemps auprès de nous et vous bénir infiniment.



A mon très cher père
LAHBIB ERRAZAKALLAH

*Aucune dédicace ne saurait exprimer le respect et l'amour
que je vous porte.*

*Vous m'aviez soutenu et encouragé tout au long
de mon parcours.*

*Pour votre amour constant, je suis et je resterai pour
toujours obéissant.*

*Que ce travail soit le gage de ma reconnaissance et de ma
gratitude.*

*Que Dieu le tout puissant puisse vous bénir, et vous accorder
une longue vie
Pleine de bonheur et de satisfaction.*



A mes très chers frères
ABDERAZZAK, ISMAIL, MOHAMMED

Vous constituez ce qui m'est le plus cher.
Vous avez été constamment ma source de joie et de ma fierté.
J'espère que ce travail sera la preuve de mon affection et de ma
gratitude.

Que ALAH accorde a chacun de vous une sante solide, de
brillantes études couronnées d'un emploi permettant de gagner le
pain quotidien et qu'il bénisse les projets.



Ma chère sœur :

ZOUBIDA

Merci ma très chère sœur

pour ton affection! Merci pour ta présence physique et morale

à chaque fois que j'en avais besoin! Je prie dieu le tout puissant

pour qu'il te donne bonheur et prospérité



A mes très chers ami(e)s

Je ne peux trouver les mots justes et sincères pour vous exprimer mon affection et mes pensées, vous êtes pour moi des frères sur qui je peux compter.

En témoignage de l'amitié qui nous unie et des souvenirs de tous les moments que nous avons passé ensemble, je vous dédie ce travail et je vous souhaite une vie pleine de santé et de bonheur.

A tous mes amis et camarades de promotion

A tous ceux qui m'ont aidé dans la réalisation de ce travail



Remerciements



A NOTRE MAITRE ET PRESIDENT DE THESE
Monsieur MIMOUN ZOUHDI
Professeur de Microbiologie
CHU IBN SINA RAABT



Nous sommes très sensibles à l'honneur que vous nous faites en acceptant la présidence de notre jury de thèse.

Vous nous avez accueillis avec beaucoup de gentillesse et d'égard.

Vos compétences, vos qualités humaines et la richesse de votre enseignement n'ont jamais cessé de susciter en nous l'admiration la plus profonde.

Veillez croire, cher maître à notre estime et notre respectueuse considération.

*A NOTRE MAITRE ET RAPPORTEUR DE THESE
Madame SAIDA TELLAL
Professeur de Biochimie
Hôpital Militaire d' instruction Mohammed V - Rabat*



Vous nous avez fait le grand honneur de nous confier cette Thèse. Votre gentillesse, votre modestie et vos qualités humaines n'ont rien d'égales que votre compétence qui mérite toute admiration.

Vous nous avez toujours reçus avec une immense sympathie. Recevez ici, l'expression de notre reconnaissance et notre profond respect.

*A NOTRE MAITRE ET JUGE DE THESE
Madame SAKINA EL HAMZAOUI
Professeur De Microbiologie
Hôpital Militaire d'instruction Mohammed V - Rabat*



*Vous nous faites l'honneur d'accepter avec une très grande
amabilité de siéger parmi notre jury de thèse.
Veuillez accepter ce travail maître, en gage de notre grand
respect et notre profonde reconnaissance.*

*A NOTRE MAÎTRE ET JUGE DE THÈSE
Madame NEZHA MESSAOUDI
Professeur d'Hématologie
Hôpital Militaire d'instruction Mohammed V - Rabat*



*Nous sommes très sensibles à l'honneur que vous nous
Faites en acceptant de juger notre travail.
Votre compétence, votre sens profond de l'humanité ainsi
Que votre modestie sont connus de tous.
Veuillez agréer, Cher Maître, l'expression de notre vive
Reconnaissance et de notre respectueuse gratitude.*

*A NOTRE MAITRE ET JUGE DE THESE
MONSIEUR Abdelkader LAATIRIS
Professeur Pharmacie Galénique*



*Nous sommes très sensibles à l'honneur que vous nous
Faites en acceptant de juger notre travail.
Votre compétence, votre sens profond de l'humanité ainsi
Que votre modestie sont connus de tous.
Veuillez agréer, Cher Maître, l'expression de notre vive
Reconnaissance et de notre respectueuse gratitude.*



ILLUSTRATIONS



LISTE DES FIGURES

| FIGURE N° | TITRE | N° |
|------------------|--|-----------|
| 1 | le développement embryonnaire | 9 |
| 2 | <i>les différentes étapes de la segmentation</i> | 11 |
| 3 | Différenciation des trois feuillets en différents tissus humains | 12 |
| 4 | a) Cellules souches embryonnaires humaines. b) Zygote (1 ^{ère} cellule totipotente). c) Cellules totipotentes (Stade 8 cellules). | 15 |
| 5 | Schéma d'un embryon au 5e jour après la fécondation (Blastocystes) | 16 |
| 6 | Schéma résumant la différenciation des cellules souches embryonnaires. | 18 |
| 7 | Culture des cellules CSE in vitro. | 19 |
| 8 | Notion de Cellules souches cancéreuses | 23 |
| 9 | Principales étapes de la différenciation des cellules ES de souris en cellules du système nerveux | 27 |
| 10 | Image par la technique PET (Positron Emission Tomography) d'un patient atteint de la maladie de Parkinson | 28 |
| 11 | Différenciation des cellules souches embryonnaires humaines en neurones striataux | 31 |
| 12 | La plasticité des cellules souches adultes | 36 |
| 13 | Les mécanismes de la plasticité cellulaire | 37 |
| 14 | Transfert nucléaire par micro-injection | 40 |
| 15 | Principe de l'induction de la pluripotence dans une cellule somatique par surexpression forcée de certains gènes. | 41 |
| 16 | Origine des lignées de cellules souches embryonnaires mutantes | 48 |
| 17 | Photo de l'intérieur du robot BioCell | 50 |
| 18 | Effets indésirables causant (a) l'arrêt du développement clinique des composés en phase I-III (b) et le retrait du marché | 51 |
| 20 | génération et utilisation des cellules souches pluripotentes en toxicologie prédictive | 55 |
| 21 | Schéma montrant le clonage thérapeutique et le clonage reproductif | 63 |

LISTE DES TABLEAUX

| <i>TABLEAU N°</i> | <i>TITRE</i> | <i>N°</i> |
|--------------------------|---|------------------|
| <i>1</i> | Les pays qui autorisent et qui interdisent la recherche sur les cellules souches. | <i>73</i> |

LISTE DES ABREVIATIONS :

- **AMM** : autorisation de mise sur le marché
- **BM** : bone marrow = moelle osseuse
- **CS** : cellules souches
- **CSE** : cellules souches embryonnaires
- **CSEh (hES)** : cellules souches embryonnaires humaines
- **CSA** : cellules souches adultes
- **CSC** : cellules souches cancéreuses
- **CSH** : cellules souches hématopoïétiques
- **CSM** : cellules souches mésenchymateuses
- **CSN** : cellules souches neuronales
- **DPI** : diagnostic préimplantatoire
- **ECVAM** : centre européen de validation alternative
- **EGF** : epidermal growth factor
- **EMA** : agence européenne de médicaments
- **FDA** : food and drug administration
- **FIV** : fécondation in vitro
- **GI** : gastro intestinal
- **IPs** : cellules souches pluripotentes induites
(induced pluripotent stem cells)
- **hIPs** : cellules souches humaines pluripotentes induites
- **IVG** : interruption volontaire de grossesse
- **MAPC** : multipotent adult progenitor cell
- **MAP2** : microtubule-associated protein 2
- **MH** : maladie de huntington
- **MSN** : neurone gabaergique moyen épineux de striatum
- **NCAM** : neural cell adhesion molecule



SOMMAIRE



| | |
|---|----|
| I- INTRODUCTION : | 2 |
| II- APERÇU SUR L'HISTOIRE DES CELLULES SOUCHES : | 4 |
| III- RAPPEL DE DEVELOPPEMENT BIOLOGIQUE CHEZ L'HOMME..... | 8 |
| IV-LES CELLULES SOUCHES EMBRYONNAIRES : | 14 |
| 1-Caractéristiques des cellules souches embryonnaires : | 14 |
| 2-Sources des cellules souches embryonnaires : | 18 |
| 3-Culture des cellules CSE au laboratoire : | 19 |
| 4-Conditions pour réussir la culture des cellules CSE : | 20 |
| 5. Les applications des cellules souches embryonnaires : | 21 |
| 5.1 Applications en recherche fondamentale : | 21 |
| 5.1.1 Compréhension des mécanismes de différenciation : | 22 |
| 5.1.2 Etude du processus tumorigène | 22 |
| 5.2 Applications en thérapie cellulaire : | 24 |
| 5.2.1 La thérapie cellulaire de l'épiderme : | 24 |
| 5.2.2 Thérapie cellulaire du système nerveux | 25 |
| 5-2-3-Les maladies caractérisées par un déficit cellulaire : | 31 |
| 5-2-4-Autres maladies ciblées : | 32 |
| V -CELLULES SOUCHES ADULTES | 32 |
| 1. Les différents types des cellules souches adultes : | 33 |
| 2. Les caractéristiques des cellules souches adultes : | 34 |
| 2.1. Auto-renouvellement et différenciation : | 34 |
| 2.2. La multipotentialité : | 35 |
| 2.3. La plasticité : | 35 |
| 2.3.1 Mécanismes de la plasticité des cellules souches | 36 |
| 3.1. La reprogrammation des cellules souches adultes : | 39 |
| 3.1.1 Transfert nucléaire : | 39 |
| 3.1.2 Induction de pluripotence (reprogrammation directe) : | 40 |

| | |
|--|----|
| 4. Conditions d'utilisation des cellules souches adultes en thérapeutique humaine : | 42 |
| 5. Applications des cellules souches adultes : | 43 |
| 5.1. Etat actuel des possibilités d'utiliser des cellules souches adultes : | 43 |
| VI. APPLICATIONS DES CS PLURIPOTENTES DANS L'INDUSTRIE PHARMACEUTIQUE | 44 |
| 1. De l'hypothèse scientifique à la cible moléculaire, la modélisation pathologique ... | 45 |
| 1.1 Modélisation pathologique des maladies génétiques | 46 |
| 1.1.1 Les cellules hES normales modifiées par génie génétique | 46 |
| 1.1.2 Les lignées de cellules ES mutantes porteuses d'anomalies génétiques | 47 |
| 1.1.3 Les cellules souches induites à la pluripotence spécifique de patients | 49 |
| 2. De la cible moléculaire à la molécule « hit », le criblage à haut débit. | 49 |
| 3. De la molécule « hit » au médicament, étude préclinique et clinique | 50 |
| 3.1 Modèles cellulaires utilisant des hépatocytes dérivés de cellules pluripotentes .. | 51 |
| 3.2 Modèles cellulaires utilisant des cardiomyocytes dérivés de cellules pluripotentes | 53 |
| 3.3 Détermination de la tératogénicité | 53 |
| 4. Du médicament pour tous au médicament personnalisé | 54 |
| VII.LIMITES PRATIQUES D'UTILISATION DES CELLULES SOUCHES : | 55 |
| VIII.DEBAT ETHIQUE : | 56 |
| 1. Les cellules souches adultes : | 56 |
| 2. Les cellules souches embryonnaires : | 57 |
| 2.1 Les arguments en faveur d'un interdit absolu : | 57 |
| 2.1.1. Le concept du continuum de la vie | 57 |
| 2.1.2 Protection de l'embryon par le principe de la dignité : | 58 |
| 2.2 Les arguments en faveur d'une autorisation encadrée des recherches : | 58 |
| 2.2.1 Le statut de l'embryon (avant et après implantation) : | 59 |
| 2.2.2 Embryologie et seuils de développement..... | 59 |
| 2.2.3 L'embryon en droit, entre « chose » et « personne » | 60 |

| | |
|--|-----------|
| 2.2.4 La recherche fait-elle prospérer l'humanité de l'embryon? | 60 |
| 2.2.5 La production de connaissances fondamentales est essentielle | 60 |
| 2.2.6 Les recherches au bénéfice de l'embryon | 61 |
| 3 Le clonage thérapeutique : faut-il l'autoriser ? | 61 |
| IX LEGISLATIONS INTERNATIONALES ET CONTEXTE RELIGIEUX | 64 |
| 1. Législations internationales | 64 |
| 1.1 .Cadre juridique permissif | 64 |
| 1.2 Cadre juridique flexible | 70 |
| 1.3 Cadre juridique restrictif | 71 |
| 2 Contexte religieux | 73 |
| 2.1 Islam | 73 |
| 2.2 Catholicisme | 74 |
| 2.3 Judaïsme | 74 |
| 2.4 Bouddhisme | 75 |
| IX-CONCLUSION & PERSPECTIVES : | 76 |
| RESUME | 78 |
| BIBLIOGRAPHIE | 79 |



INTRODUCTION



I- INTRODUCTION :

Le terme « cellules souches » a été proposé pour la première fois au 20^{ème} siècle par le scientifique russe *Alexander MAKSIMOV* en 1908, c'était le point qui a amorcé toute une révolution de la recherche biomédicale qui peut fournir des traitements pour certaines maladies graves, voire incurables ; donc elle a donné un nouveau espoir pour toute l'humanité.

Le terme « cellules souches » est générique. Il désigne des cellules indifférenciées capables d'engendrer plusieurs types cellulaires différents. En d'autres termes, une cellule souche possède un répertoire de différenciation qui la caractérise.

Donc les cellules souches sont une réserve naturelle de l'organisme, reconstituant le stock de cellules spécialisées qui ont été épuisées ou endommagées. Nous devons fabriquer en continu de nouvelles cellules pour maintenir le bon fonctionnement de notre organisme. Quelques cellules spécialisées, comme les cellules sanguines et musculaires, sont incapables de faire des copies d'elles-mêmes en se divisant. Elles sont donc produites à partir des populations de cellules souches.

Les cellules souches ont la capacité unique de produire à chaque fois qu'elles se divisent, des copies d'elles mêmes (auto-renouvellement), mais également d'autres types de cellules spécialisées (différenciation). Les cellules souches sont donc essentielles pour le maintien des tissus tels que le sang, la peau, l'intestin, qui se renouvellent en continu ainsi que le muscle qui se construit suivant le besoin du corps et qui est souvent endommagé au cours de l'effort physique.

Les cellules souches sont présentes dans l'embryon, le fœtus, le cordon ombilical, la moelle osseuse, etc. Elles sont souvent réparties en 2 groupes :

- Cellules souches embryonnaires.
- Cellules souches adultes.

Les cellules souches représentent aujourd'hui un enjeu scientifique majeur et leur utilisation dans le cadre des nouvelles thérapies semble ouvrir des perspectives nouvelles. Ainsi ces cellules ont une application très vaste ; elles peuvent être utilisées par exemple :

- Pour étudier le développement.

- Traiter et étudier les maladies.
- Une ressource pour les essais de nouveaux traitements

Cependant les recherches sur les cellules souches restent limitées, cela est dû aux problèmes éthiques et juridiques quant à la dignité et le respect de l'existence humaine.

L'objectif de ce travail est de faire un état des lieux de l'avancement des recherches portant sur les cellules souches et leur utilisation dans les domaines cliniques et thérapeutiques. Nous essayerons aussi de montrer les limites de leurs utilisations et les différents débats éthiques qu'elles relèvent.

II- APERÇU SUR L'HISTOIRE DES CELLULES SOUCHES :

Le concept de cellules souches - et même le terme - a été soulevé dans le début du 20^{ème} siècle. Des articles médicaux et scientifiques tout au long de la première moitié du siècle discutaient de l'idée que certaines cellules spéciales donnent lieu à plusieurs types de cellules, en particulier dans le sang. Mais, les preuves de l'existence des cellules souches ne sont pas rapportées avant l'années 1960. Les scientifiques canadiens Till et McCulloch ont été les premiers à rapporter la preuve directe. Ils ont conclu qu'une seule cellule de la moelle osseuse pourrait générer des copies d'elle même et de multiples types de cellules du sang : C'est la définition moderne de ' Cellules Souches ' [1]. Au cours de leur expérimentation, Till et McCulloch (1961), ont voulu voir ce qui se passe quand des souris sont irradiées, à quelle dose elles seraient mortes, et pourquoi. Ils ont constaté que plus ils injectaient des cellules de moelle osseuse, plus les souris avaient des chances de survivre. Pendant l'analyse de cette observation, ils ont remarqué que des masses s'étaient formées dans la rate des souris, cela les a amenés à formuler et à postuler que ces masses sont souvent des colonies de cellules nouvellement formées. En procédant à des calculs, les deux chercheurs ont découvert que la quantité de masses était directement proportionnelle à la quantité de cellules injectées.

En adoptant une méthodologie, basée sur le rôle des cellules et sur leur quantification plutôt que sur la simple observation de leur apparence, ces deux chercheurs ont révélé l'existence d'une cellule capable de s'auto-renouveler et de produire des descendants acquérant les caractéristiques propres des cellules spécialisées du sang : une cellule mère [2].

Quinze ans après, Friedenstein *et al.* ont identifié pour la première fois des cellules souches appelées : Les cellules stromales mésenchymateuses (CSM). Ils ont isolé les cellules de la moelle osseuse par leur adhésion étanche à la plaque de culture de tissus [3]. Certaines de ces cellules semblent avoir la morphologie fusiforme et ont été capables de former des colonies uniques dérivées des cellules, qui ont été définies par Friedenstein *et al.* comme « unités formant des colonies fibroblastiques ». Toutefois, il est essentiel de noter que toutes les cellules adhérentes récoltées à partir de la moelle osseuse contiennent des fibroblastes et des cellules endothéliales, entre autres. Les CSM ont également été décrites comme "des cellules stromales de la moelle osseuse" en raison de leur rôle dans la création de niche de la

moelle osseuse, le maintien des fonctions des cellules souches hématopoïétiques (CSH) et leur utilisation comme des couches nourricières pour les CSH [4].

Ensuite, en 1981 à Cambridge, l'expérience d'Evans et Kaufman a été basée sur la recherche à propos des cellules souches embryonnaires humaines, Ces chercheurs ont prélevé les cellules de la masse cellulaire interne d'embryons de souris au stade blastocyste et les ont déposées sur une fine pellicule de cellules issues de fœtus de souris. Ils ont alors observé que certaines cellules de l'embryon étaient capables de se multiplier (auto-renouvellement) en donnant deux cellules filles strictement identiques, tout en restant totipotentes, c'est-à-dire capables de se différencier en tout type cellulaire. Ces travaux ont débouché quelques années après sur l'obtention d'animaux transgéniques par d'autres équipes.

Au début des années 1990, Samuel Weiss, neurobiologiste de l'Université de Calgary, détecte la présence de cellules souches dans le cerveau d'une souris. Celles-ci ont la capacité de se différencier pour donner les principaux types de cellules du système nerveux : Les neurones qui produisent et échangent de l'information sous forme d'influx nerveux.

Cette importante découverte, prouvait que le cerveau et le système nerveux pouvait poursuivre leur développement tout au long de la vie d'un être humain. Elle a également conduit à de nouvelles approches pour le traitement des maladies neurodégénératives, telles que le Parkinson et l'Alzheimer, et des lésions du cerveau ou de la moelle épinière, toutes des situations qui entraînent la destruction des cellules du système nerveux, bloque ainsi la transmission de l'information entre le cerveau et le reste du corps.

Pour parvenir à développer des traitements utilisant les cellules souches du système nerveux, les chercheurs tentent actuellement de comprendre, entre autres, comment induire à ces cellules qu'elles doivent entamer leur processus de différenciation pour remplacer les cellules endommagées ou détruites.

En 1994, et dans le domaine hématopoïétique, il a été observé que seule une sous population rare de cellules humaines, isolée de la moelle osseuse ou de sang périphérique de patients atteints de leucémie myéloïde aigüe, était capable, lorsqu'elle était injectée à des souris immunodéficientes de reproduire beaucoup d'aspects de la leucémie observée chez le patient. Cette entité cellulaire pouvait se définir comme une cellule initiatrice de leucémie (*leukemia- ou cancer-initiating cell*). J.Dick [5], démontre que cette cellule initiatrice de

leucémie possède des caractéristiques de cellule souche en ce qu'elle reconstitue une hiérarchie de progénitures et précurseurs dans plusieurs lignées myéloïdes, et a la capacité de s'auto-renouveler.

En 1998, L'équipe de James Thomson, à l'université du Wisconsin, a obtenu des cellules souches embryonnaires humaines à partir d'embryons humains surnuméraires, un événement qui a véritablement lancé les recherches sur les applications thérapeutiques de ces cellules.

L'Expérience de Bjornson *et al.* (1999), parle des cellules souches de cerveau d'une race de souris A, porteuses de marqueurs génétiques facilement identifiables, qui ont été injectées à des souris d'une race B auparavant irradiées. L'irradiation des animaux récepteurs a pour objet de tuer chez eux certaines populations cellulaires, en particulier les cellules-souches hématopoïétiques. Les cellules-souches nerveuses injectées ont été capables de recoloniser aussi la moelle osseuse des souris irradiées et de générer les trois types de cellules sanguines [6].

Jackson *et al.* ont montré que des cellules-souches musculaires de souris adultes peuvent donner naissance en six à douze semaines à toutes les cellules des trois lignées sanguines après avoir été injectées à des souris préalablement irradiées [7].

En juin 2000, l'équipe de Clarke *et al.* a travaillé sur des cellules souches nerveuses de souris *in vitro* (culture en présence de matériel embryonnaire) et *in vivo* (injection de ces cellules dans la cavité amniotique d'embryons de poulet avant la gastrulation ou dans des blastocystes de souris, réalisant ainsi des animaux chimériques). *In vitro*, les cellules-souches nerveuses se différencient en cellules musculaires. *In vivo*, le répertoire de différenciation est plus large. L'exemple le plus frappant est la formation de cœurs normaux, constitués en majorité à partir de cellules souches nerveuses [8]. Il s'agit à ce jour de l'expérience la plus impressionnante.

En 2001, une équipe de l'*UCLA (University of California Los Angeles) School of Medicine* rapportait avoir réussi à obtenir des cellules osseuses, musculaires, cartilagineuses et graisseuses en mettant en culture des cellules-souches graisseuses obtenues par liposuccion [9].

En 2001, une équipe américaine a montré que les cellules souches de la moelle osseuse de souris adultes peuvent s'auto-renouveler et se différencier *in vivo* en cellules épithéliales du foie, du poumon, du tube digestif et de la peau [10].

Une équipe de chercheurs conduite par Hwang Woo-suk de l'université nationale de Séoul a réussi en 2006 à cloner des cellules souches embryonnaires humaines, compatibles avec des personnes malades, tous souffrant de traumatisme de la moelle épinière, de diabète ou encore de maladie génétique du système immunitaire. Les chercheurs ont recueilli des œufs provenant de 18 volontaires auxquelles ils ont retiré le noyau. Celui-ci a ensuite été remplacé par de l'ADN provenant de cellules cutanées de 11 personnes présentant les maladies.

Nicolas Gaspard, de l'université libre de Bruxelles a pu transformer les cellules souches embryonnaires en neurones du cortex cérébral selon un mécanisme spontané, récapitulant l'essentiel de la complexité du cortex cérébral mais au sein de boîtes de culture cellulaire. Afsaneh Gaillard, a ensuite greffé ces neurones dans des cerveaux de souris. Les neurones ainsi greffés sont capables de se connecter avec le cerveau hôte pour former des circuits neuronaux spécifiques du cortex.

Une autre découverte a été réalisée par deux équipes de chercheurs de l'université Pierre et Marie Curie, qui viennent d'identifier un nouveau type de population de cellules souches situées dans les muscles. Ces cellules, nommées les PICs, et inconnues jusqu'alors, peuvent se multiplier et régénérer les tissus musculaires endommagés, ainsi que générer des cellules satellites, essentielles pour la croissance musculaire, mais limitées dans leur capacité de renouvellement.

En 2011, des chercheurs américains ont découvert des cellules souches pulmonaires jouant un rôle clé dans la régénérescence des tissus du poumon. Cette recherche a mis au jour pour la première fois une véritable cellule souche pulmonaire qui offre potentiellement à ceux qui souffrent de maladies chroniques du poumon une option de traitement totalement nouvelle en régénérant ou réparant les parties endommagées de cet organe. Ces cellules pulmonaires sont capables de se régénérer et de former, puis d'intégrer des structures biologiques multiples du poumon dont des bronchioles, des alvéoles et des vaisseaux du poumon.

En 2013, une équipe polonaise a proposé l'utilisation de milieu de culture conditionné dérivé des CSM, qui est riche en facteurs de croissance, cytokines et agents trophiques, afin de développer des nouvelles approches de traitement de cystite interstitielle[11].

Et récemment, une équipe suisse a montré que la transplantation des CSM encapsulées pour 2 modèles de souris , a permis de diminuer la fibrose hépatique , mais le mécanisme d'action reste encore non élucidé.

III- RAPPEL DE DEVELOPPEMENT BIOLOGIQUE CHEZ L'HOMME.

L'embryologie constitue l'étude du développement embryonnaire de la cellule œuf à un individu autonome.

Le développement embryonnaire comprend les différentes grandes étapes qui peuvent être caractérisées par la différenciation et la spécialisation de la plupart des cellules qui composent l'embryon. [12]

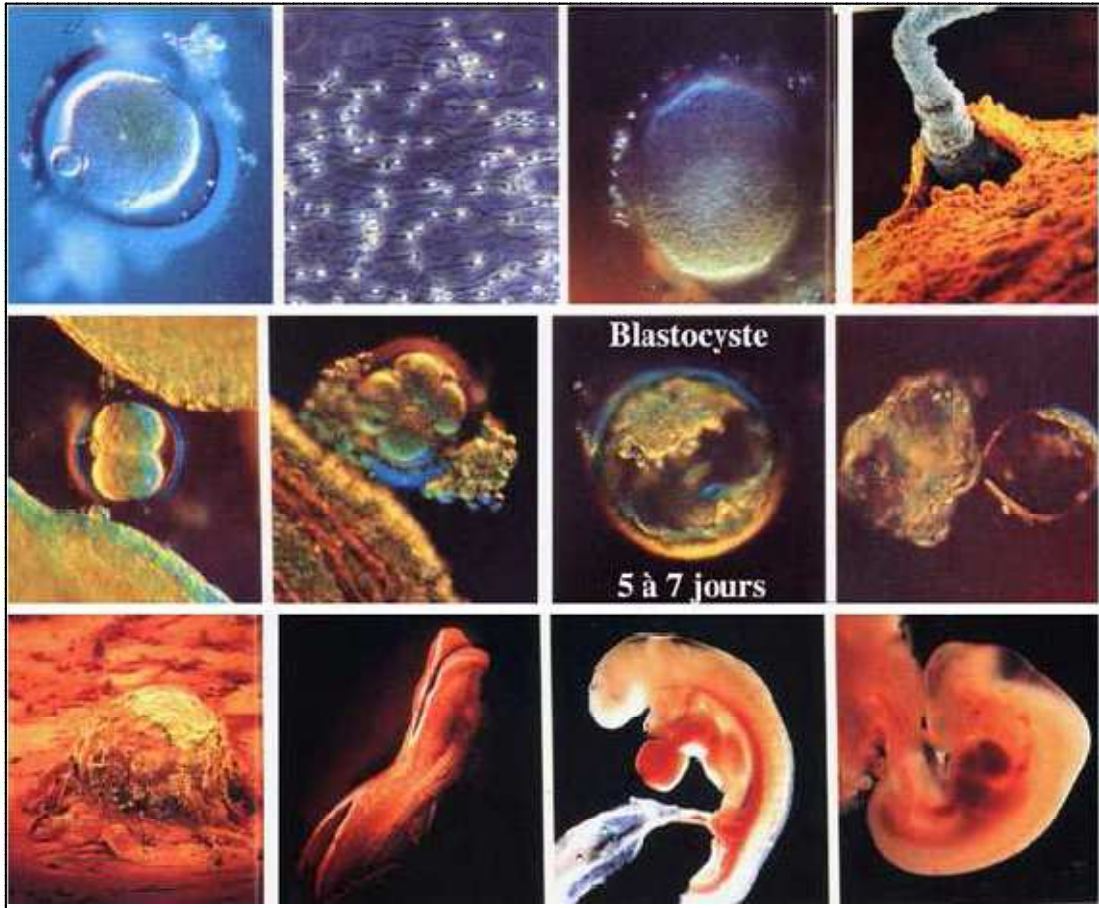


Figure1 : le développement embryonnaire [12]

La fécondation :

12 heures après l’ovulation, l’ovocyte, quand il est fécondé se transforme en zygote; Le processus de la fécondation s’effectue dans le tiers distal de la trompe utérine, il dure environ 24 heures. La date de la fécondation est Comptée comme le premier jour de l’ontogenèse humaine ou le développement embryonnaire.

La fécondation désigne la fusion de deux gamètes de sexes différents en une cellule œuf à l’origine d’un nouvel individu. La cellule œuf est donc totipotente.

La fécondation présente trois séries d’événements fondamentaux que l’on retrouve chez tous les organismes :

1. la reconnaissance spécifique des gamètes qui assure la spécificité de la fécondation.

2. l'activation de l'ovule par le spermatozoïde qui déclenche un ensemble d'événements métaboliques programmés.

3. la fusion des génomes parentaux, prélude à la division de l'œuf et au développement d'un nouvel être diploïde. [12, 13]

La cellule œuf va alors se diviser, c'est le phénomène de **segmentation**.

La segmentation :

24 heures après la fécondation, le zygote commence à subir une segmentation c'est-à-dire une série de mitoses aboutissant à la formation de 2, 4, 8 cellules filles ou blastomères (**Figure 2**).

La première division est verticale, on obtient alors deux blastomères, la deuxième division est également verticale mais dans un plan perpendiculaire à la première. A ce stade, l'embryon est composé de 4 cellules, si on isole chacune de ces cellules et qu'on les réimplante dans un utérus, on peut obtenir un individu entier ; ces cellules sont totipotentes.

La troisième division se fait dans un plan horizontal, on obtient ainsi 8 cellules.

Cette division sépare le pôle animal qui donnera l'embryon en lui-même et le pôle végétatif qui donne les annexes embryonnaires. Les cellules, à partir de cette division deviennent pluripotentes.

Les cycles cellulaires vont se dérouler rapidement et sont synchrones au début puis deviendront asynchrones par la suite : on obtient alors une morula.

Chez l'homme le stade morula est atteint 4 jours après la fécondation. A ce stade, les cellules sont pluripotentes, elles sont donc capables de se différencier en tout type cellulaire qui compose l'organisme, mais elles ne peuvent plus donner les annexes embryonnaires. L'embryon, durant toute cette phase, garde le même diamètre et la même taille, seul le nombre de cellules augmente.

Au stade blastula (16 à 64 cellules), une cavité apparaît : c'est le blastocœle.

Les cellules de la masse interne de la blastula sont toujours pluripotentes.

Elles ont toujours la capacité de se différencier en cellules composant les trois feuillets embryonnaires. [12, 13, 15]

L'embryon entre ensuite dans une étape qui a pour but de mettre en place les trois feuillets : c'est l'étape de **gastrulation**.

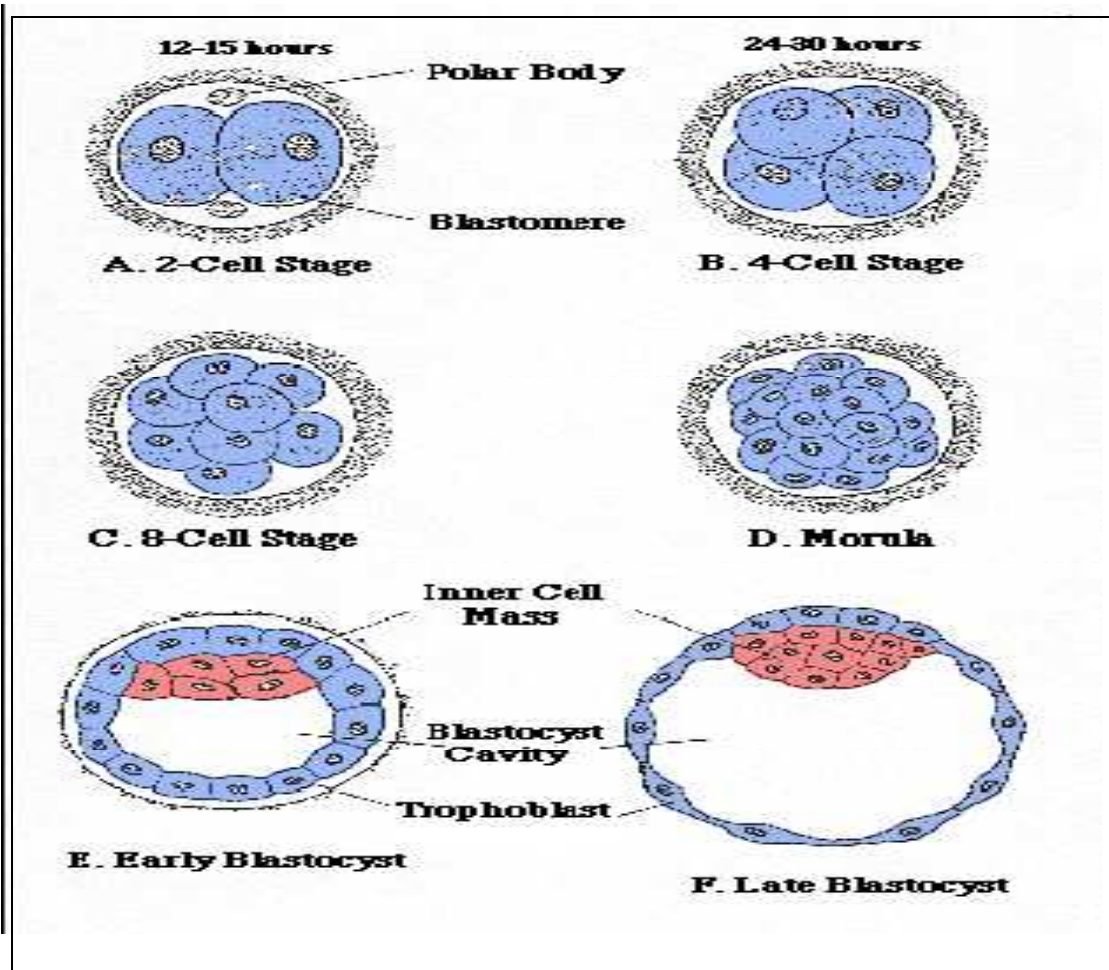


Figure 2 : Les différentes étapes de la segmentation [16]

La gastrulation :

La gastrulation est une phase dynamique. Au cours de cette seconde phase du développement embryonnaire, un ensemble de mouvements cellulaires coordonnés : les mouvements morphogènes, remanient la disposition des blastomères de la blastula et les répartit en trois feuillets chez l'homme : un feuillet externe : **l'ectoblaste**, un feuillet moyen : **le mésoblaste** et un feuillet interne : **l'endoblaste**, à partir desquels s'édifient les organes de l'embryon puis de l'adulte ; (**Figure 3**) [12].

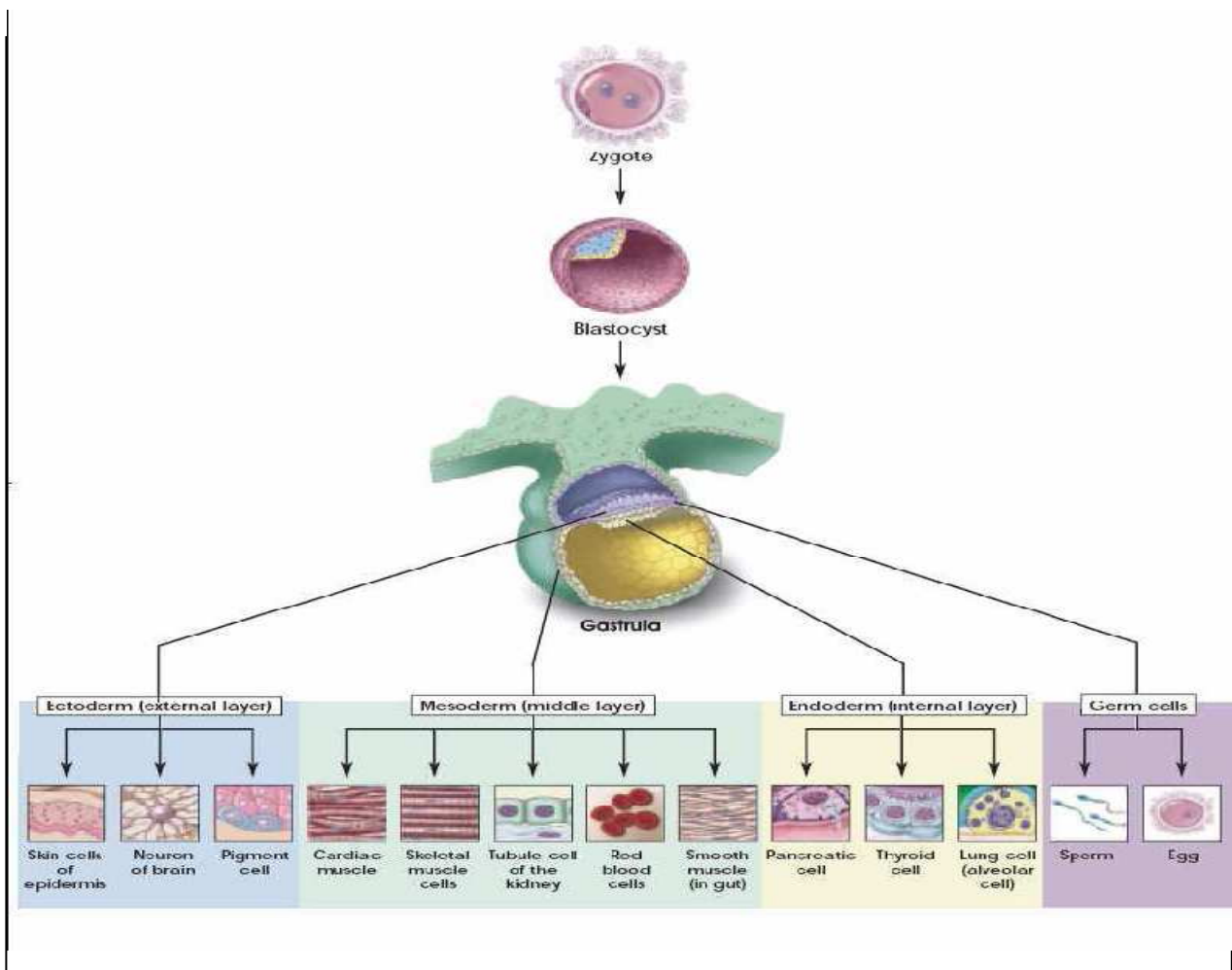


Figure 3 : Différenciation des trois feuillets en différents tissus humains [16]

A ce stade, les cellules sont multipotentes, elles se sont engagées dans un feuillet. C'est au cours de la gastrulation que l'on assiste à la mise en place du blastopore qui est une ouverture dans la blastula. C'est à partir de ce blastopore, qui est un centre organisateur, que les mouvements morphogéniques vont se mettre en place.

Les mouvements morphogènes mettent en jeu trois types de mécanismes :

1. L'invagination de territoires superficiels à l'intérieur de l'embryon.
2. L'enroulement de territoires superficiels qui se réfléchissent sur eux-mêmes en glissant sur un réseau de molécules.
3. L'extension d'un territoire superficiel qui s'étale en nappe à la surface de l'embryon impliquant une multiplication cellulaire, un réarrangement cellulaire d'une couche pluristratifiée qui devient unistratifiée. [16]

Au cours de ces différentes phases, les cellules perdent de leur potentialité de différenciation, cela se fait par le processus de **détermination**.

La détermination :

Plus ou moins tôt au cours du développement, un certain nombre de caractéristiques de l'embryon et de l'adulte sont acquises définitivement et vont jouer un rôle important dans la suite de l'organogenèse. Il s'agit essentiellement des repères spatiaux et de la destinée des cellules. Cette étape de détermination n'est pas une étape clairement définie au cours de l'embryogenèse puisqu'elle débute après la fécondation et continue durant tout le développement embryonnaire.

Sur le plan cellulaire, la détermination ne se traduit par aucune modification morphologique visible qui préparerait leur différenciation ultérieure. Elles subissent simplement une restriction de leurs potentialités de différenciation qui deviennent limitées à une seule voie dans laquelle elles sont désormais engagées. [17]

Tous ces mécanismes conduisent à l'établissement de nouvelles interactions cellulaires qui préparent l'embryon à la phase **d'organogenèse**.

L'organogenèse :

La formation des organes se fait progressivement au cours du développement de l'embryon. Elle nécessite une parfaite coordination dans la différenciation et l'ordonnement des tissus qui participent à leur construction. Cette coordination est assurée par une série d'interactions entre des groupes cellulaires : un groupe de cellules émet un signal qui provoque l'expression de certains gènes dans un autre groupe de cellules et permet leur différenciation dans une voie particulière.

La détermination cellulaire des territoires présomptifs va engendrer la formation des organes et leur différenciation cellulaire. La majorité des cellules durant cette étape perdent leur potentialité ; elles deviennent unipotentes, c'est-à-dire qu'elles ne peuvent se différencier qu'en un seul type cellulaire.

Cependant, certaines cellules, tout comme chez l'adulte, demeurent des cellules indifférenciées, c'est le cas des cellules embryonnaires germinales qui sont des cellules pluripotentes.

Durant cette étape, les annexes embryonnaires se mettent en place ; elles permettent le développement de l'embryon, elles donneront le futur placenta et le cordon ombilical. Des cellules souches sont présentes dans ces deux structures, elles sont pluripotentes ou multipotentes.

L'organogenèse est liée à la morphogenèse c'est-à-dire le modelage du corps de l'embryon. [18]

A six semaines, tous les organes sont formés, ils doivent maintenant se développer pour devenir véritablement fonctionnels, on ne parle plus alors d'embryon mais de fœtus.

IV-LES CELLULES SOUCHES EMBRYONNAIRES :

1-Caractéristiques des cellules souches embryonnaires :

Les cellules souches embryonnaires (CSE), (**Figure 4.a**), sont les cellules issues des premières divisions du zygote. Elles sont totipotentes jusqu'à huit cellules. Les cellules souches embryonnaires du zygote (au-delà de 8 cellules) sont pluripotentes.

La totipotence en biologie est la propriété d'une cellule de se différencier en n'importe quelle cellule spécialisée et de structurer en formant un être vivant multicellulaire. Donc l'œuf et les cellules issues des premières divisions (jusqu'au 4^{ème} jour après la fécondation, stade 8 cellules) (**Figure 4.b, c**) sont considérés comme des cellules totipotentes parce qu'elles donnent par différenciation un organisme entier.



Figure 4 : a) Cellules souches embryonnaires humaines. b) Zygote (1ère cellule totipotente). c) Cellules totipotentes (Stade 8 cellules). [19-21]

La pluripotence est la faculté de certaines cellules à se différencier en tout type cellulaire d'un organisme: cellules d'un des trois feuillets embryonnaires (ectoderme, mésoderme et endoderme), cellules du trophoctoderme ou cellules germinales. Les cellules souches pluripotentes proviennent en effet de la masse cellulaire interne du blastocyste (stade 40 cellules) alors que le placenta est produite par la couche cellulaire externe (trophectoderme).

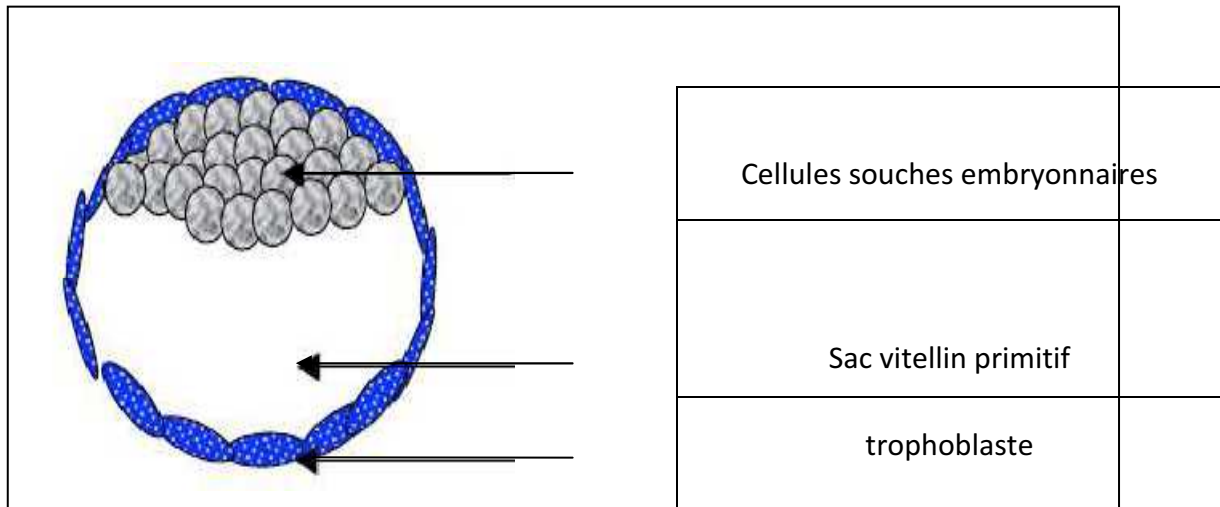


Figure 5 : Schéma d'un embryon au 5e jour après la fécondation (Blastocyste). [22].

La pluripotence des CS se définit chez la souris par leur capacité, lorsqu'elles sont injectées dans un blastocyste, à développer un embryon chimérique. Si préalablement à l'injection de CS embryonnaires, une électrofusion provoque la transformation d'un blastomère à deux cellules en blastomère tétraploïde conduisant ainsi à la formation des annexes extra-embryonnaires, l'embryon obtenu dérive entièrement des CS (la même démonstration a été faite avec les iPS). Pour des raisons techniques et surtout éthiques les mêmes démonstrations sont impossibles avec des lignées de CS embryonnaires humaines et le critère de pluripotence retenu est leur capacité d'induire la formation de tératomes (formés de façon anarchique par les dérivés des trois tissus embryonnaires) lorsqu'elles sont injectées à des souris immunodéficientes. Au plan biologique, la pluripotence est donc la capacité des CS embryonnaires (et des iPS) à se différencier en n'importe quel phénotype cellulaire ; cet état de pluripotence dépend de l'expression de différents facteurs de transcription (OCT4, SOX2, NANOG, SALL4....), d'une conformation de la chromatine, « ouverte » et non « fermée » comme chez l'adulte, et permettant ainsi l'expression des gènes de la pluripotence, de facteurs épigénétiques (modifications biochimiques telles que l'acétylation ou la méthylation des

histones, la méthylation des ADN...), mais l'ensemble de ces conditions biologiques est encore loin d'avoir été identifié [23].

Chaque cellule CSE est une cellule non spécialisée, la différenciation est le mécanisme par lequel ces dernières se spécialisent en de nombreux types cellulaires composant le corps comme les myocytes, les cellules hépatiques ou encore les neurones (**figure 6**). Pendant la différenciation, certains gènes sont exprimés alors que d'autres sont réprimés. Ce processus est intrinsèquement régulé grâce notamment au matériel épigénétique des cellules. Ainsi la cellule différenciée va développer des structures spécifiques et acquérir certaines fonctions. Pour les cellules souches embryonnaires, leur différenciation reste toujours mal connue. En effet au cours de leur développement, les cellules CSE sont confrontées à des choix, et doivent se décider à produire un certain type de cellules. Malheureusement, les biologistes ne savent pas encore ce qui régit ce processus de décision, donc ce point la reste l'intérêt actuel des recherches fondamentales sur les cellules CSE, et la découverte de ce mécanisme serait une étape décisive dans la compréhension de la vie en soi.

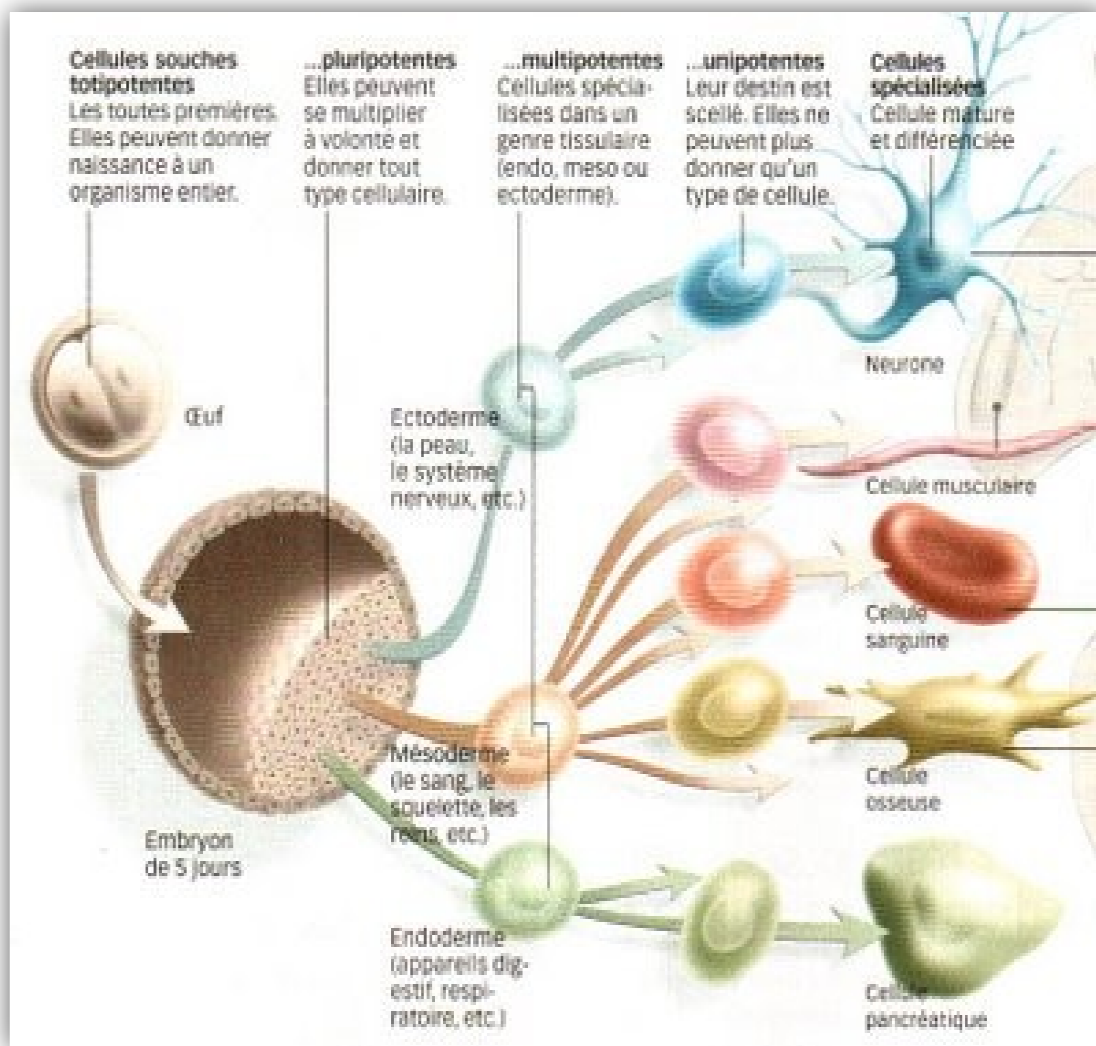


Figure 6 : Schéma résumant la différenciation des cellules souches embryonnaires [24].

2-Sources des cellules souches embryonnaires :

L'origine des CSE soulève aujourd'hui dans le monde des problèmes tant éthiques que scientifiques. Théoriquement, il existe 4 sources permettant d'obtenir des cellules souches embryonnaires :

- À partir d'embryons excédentaires obtenus lors d'une tentative de fécondation *in vitro* : ce sont des embryons dont les caractéristiques ne sont pas compatibles avec une congélation (mauvaise qualité morphologique).
- À partir d'embryons congelés pour lesquels il n'y a plus de projet parental.
- À partir d'embryons créés par clonage thérapeutique d'une cellule somatique: ce sont des embryons obtenus par fusion entre le noyau d'une des cellules somatiques et un ovocyte énucléé
- Lignées de cellules souches embryonnaires existantes.
-

3-Culture des cellules CSE au laboratoire :

Les cellules CSE sont obtenues à partir de la masse cellulaire interne de blastocyste. Elles sont extraites à l'aide d'une micropipette et sont ensuite cultivées sur une couche de cellules nourricières qui leur permet de proliférer sans se différencier. En subissant plusieurs passages, elles peuvent former spontanément des lignées de cellules « immortelle » (**Figure 7**). Plusieurs critères sont utilisés pour identifier des cellules CSE :

- Elles doivent être capables de croître en culture pour plusieurs générations sans se différencier et peuvent former des corps embryoides en culture.
- Elles expriment des marqueurs protéiques de surface typiques des cellules CSE et des facteurs de transcription spécifiques tels que Nanog et Oct4.

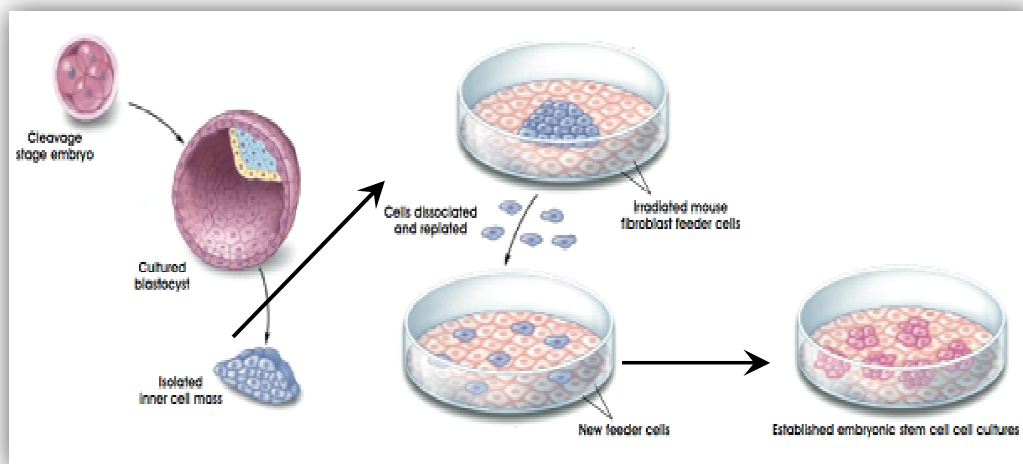


Figure 7 : Culture des cellules CSE *in vitro*. [25].

4-Conditions pour réussir la culture des cellules CSE :

La culture des cellules CSE se heurte à plusieurs enjeux pratiques notamment :

- ***La Régularisation et la caractérisation des milieux de culture*** : Un des enjeux est la mise au point des conditions de culture capables de favoriser la prolifération cellulaire tout en évitant de provoquer des mutations. L'un des premiers défis réside dans la biosécurité. Il faut aussi éviter tout risque de toxicité, non seulement celui éventuellement présenté par la greffe de cellules, mais aussi d'autres, liés à l'apparition de nouvelles maladies, pas encore nécessairement connues et qui pourraient se développer dans les cellules greffées. La régularisation des milieux de cultures est essentielle pour pouvoir passer à l'industrialisation. Or, le milieu de culture influe sur le processus de différenciation et de stabilisation des lignées.

- ***La maîtrise de la prolifération in vitro*** : Si le mécanisme moléculaire de prolifération *in vitro* est contrôlé sur les cellules souches embryonnaires de souris, il ne l'est pas encore totalement sur les cellules souches embryonnaires humaines. De plus, ces dernières ont une capacité inférieure à la prolifération *in vitro* que celles de souris. Il est donc plus difficile d'en obtenir de grandes quantités. Les cellules souches adultes, quant à elles, ont une capacité d'auto-renouvellement *in vitro* plus faible que les cellules souches embryonnaires, ce qui augmente la difficulté d'obtenir les quantités requises pour les thérapies cellulaires. Il faut éviter tout risque de transformation et de développement tumoral car il existe, dans le génome, des micro-régions instables, présentant d'importants risques de duplication.

- ***Assurance de la stabilité génétique des cellules CSE*** : *In vitro*, les cellules souches embryonnaires ont tendance à rassembler des mutations et des anomalies chromosomiques lors de leur prolifération. Elles deviennent tératogènes (caractéristique génétique qui engendre des malformations) une fois injectées à un patient, et sont donc dangereuses. Donc, il faut que la fiabilité des cellules utilisées soit garantie, et que leur phénotype demeure durablement stable, non seulement *in vitro* mais *in situ*, avant d'envisager leur utilisation en clinique.

- ***Le contrôle des processus de différenciation des cellules souches in vitro*** : Pour l'utilisation clinique, il est nécessaire d'obtenir de façon reproductible la cellule différenciée

souhaitée pour le traitement visé. Il faut connaître, pour chaque cellule spécialisée, les facteurs biochimiques, micro-environnementaux et épigénétiques capables d'orienter de façon reproductible la différenciation vers une cellule spécialisée d'un tissu plutôt que d'un autre. Il faut ensuite identifier, maîtriser et sécuriser la fenêtre critique au cours de laquelle la différenciation de la cellule est idéale pour coloniser le tissu ciblé sans générer de tumeur. Des cellules souches utilisées à des stades trop précoces de différenciation sont tératogènes après injection chez l'animal [26].

5. Les applications des cellules souches embryonnaires :

Les cellules CSE pluripotentes ont des propriétés de prolifération et de différenciation qui font d'elles un outil prometteur pour les recherches fondamentales et pour la médecine régénérative. Cette dernière englobe les thérapies médicales qui permettent de réparer, remplacer, restaurer et régénérer les organes, tissus et cellules lésés ou malades.

5.1 Applications en recherche fondamentale :

Etant capables de se reproduire indéfiniment et de donner naissance à tous les types de cellules existants, les cellules CSE représentent un précieux outil de recherche fondamentale. Grâce à elles, les travaux de recherche sur l'embryogenèse et l'oncogenèse trouveront des opportunités nouvelles d'analyse et d'observation. De nouveaux médicaments seront testés sur différents types cellulaires. Des cellules souches embryonnaires humaines pourraient être utilisées dans l'étude de l'embryogenèse précoce et permettre de mieux comprendre des phénomènes qui ont pour conséquence des défauts congénitaux et des anomalies placentaires pouvant conduire à des avortements spontanés.

En étudiant des cellules souches embryonnaires humaines *in vitro*, il pourrait être possible d'identifier les événements génétiques, moléculaires et cellulaires qui aboutissent à ces anomalies et de développer des méthodes pour les prévenir. De telles cellules pourraient aussi être utilisées pour explorer les effets des anomalies chromosomiques au stade précoce du développement. Cela pourrait inclure la capacité d'observer le développement des tumeurs pédiatriques précoces dont plusieurs sont d'origine embryonnaire.

5.1.1 Compréhension des mécanismes de différenciation :

La compréhension des mécanismes responsables du développement cellulaire et tissulaire est certainement l'un des défis les plus importants que les biologistes cellulaires ont à relever, tant les mécanismes moléculaires qui permettent la différenciation de cellules souches ou de progéniteurs vers un type de cellules spécialisées est complexe. De plus, l'étude des étapes précoces du développement humain est compliquée par l'accès à des ressources biologiques qui se limite, lorsque ces recherches sont autorisées, à des études anatomiques et biochimiques réalisées par dissection d'embryons malades après avortement.

Cependant, la quantité d'informations accumulées en biologie du développement a été possible grâce à l'utilisation d'animaux modèles (xénope, drosophile, zebrafish, *Caenorhabditis elegans*), en particulier la souris dont les caractéristiques génétiques sont bien définies. Bien que ces études aient fait indiscutablement progresser notre connaissance de la biologie du développement, il existe des différences majeures en termes de taille, de croissance et d'anatomie entre la souris et l'Homme entraînant des différences dans l'expression de certains gènes et dans le métabolisme. En complément de l'usage des modèles animaux, l'utilisation de lignées cellulaires humaines et en particulier les CSEH, apparaît comme un outil performant pour l'étude des processus physiopathologiques impliqués dans les mécanismes développementaux [27].

5.1.2 Etude du processus tumorigène

Il existe deux hypothèses pour expliquer la progression tumorale. La première hypothèse est dite stochastique, qui propose que toutes les cellules dans une tumeur aient la capacité de former et de maintenir une masse tumorale. La seconde hypothèse est dite hiérarchique. Elle suggère l'existence d'un groupe de cellules avec un phénotype souches (les cellules souches cancéreuses, CSC) qui, comme dans les tissus normaux, entretiennent un pool de cellules tumorales grâce à une production en continu de ces cellules elles-mêmes et de leurs progénies [28].

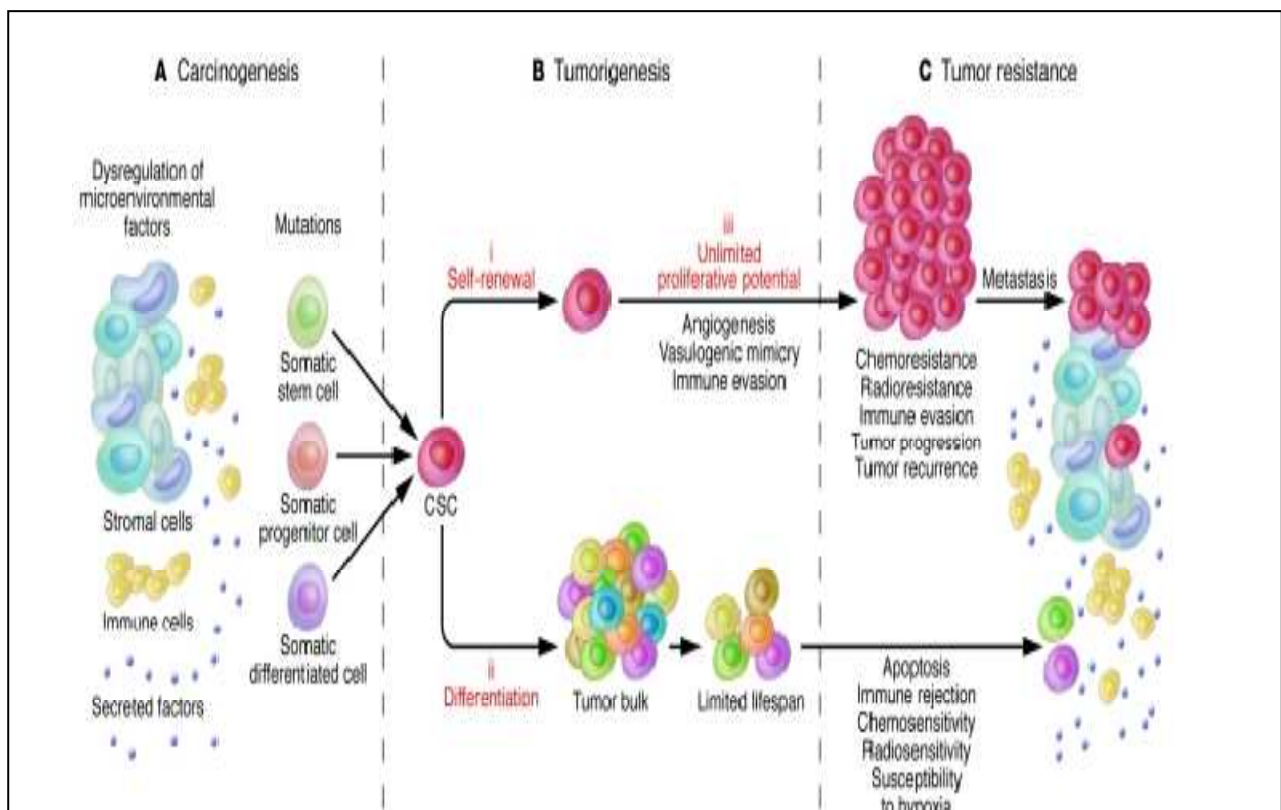


Figure 8 : Notion de Cellules souches cancéreuses. (A) Carcinogénèse. Des tumeurs peuvent se développer suite à la mutation de gènes. Une dérégulation du microenvironnement pourrait également contribuer au processus de carcinogénèse. Ces évènements pourraient affecter des cellules somatiques qui deviendraient alors des cellules cancéreuses initiales (CSCs). (B) Tumorigénèse. Les CSCs contribueraient à la tumorigénicité par (i) leur capacité d’auto-renouvellement illimitée, (ii) par la génération, du fait de leur potentiel de différenciation, de cellules tumorales qui ne présentent plus la propriété « souche » et (iii) par une contribution, dans certains cas, à l’angiogenèse et à la dissémination. (C) Résistance. Les CSCs présenteraient une résistance aux traitements par chimio/radiothérapie. Ces thérapies interfèreraient donc peu ou pas avec la capacité des CSCs à initier la progression tumorale, les métastases ainsi que les récives (29).

Pour autant, on ne sait pas, parmi les CSC et les progéniteurs partiellement engagés qui en dérivent lesquelles sont l’origine de l’initiation de la tumeur (cellules initiatrices de tumeur). Chez l’Homme, des CSC ont été identifiées dans de nombreux cancers (ex : leucémie, mélanome, carcinome colique, cancer de la vessie, du poumon, du système nerveux central, des ovaires, du foie, du pancréas...) sans qu’il soit possible d’affirmer à l’heure actuelle qu’elles soient présentes dans toutes les tumeurs malignes. Il est intéressant de

constater que, dans certains cancers, leur abondance relative a pu être corrélée à la progression de la maladie des patients. L'étude approfondie de la biologie de ces cellules souches cancéreuses mais aussi les études utilisant d'autres modèles cellulaires souches (dont les cellules souches pluripotentes) seront probablement nécessaires pour mieux comprendre les mécanismes à la base de la transformation cellulaire ainsi que les mécanismes biologiques qui gouvernent l'auto renouvellement de ces cellules. Les applications de ces connaissances permettront probablement de mettre au point des thérapeutiques ciblées visant à l'éradication de ces CSC [30], en particulier en comprenant leurs mécanismes de résistance aux molécules xénobiotiques.

5.2 Applications en thérapie cellulaire :

5.2.1 La thérapie cellulaire de l'épiderme :

Elle est actuellement utilisée avec succès, en particulier chez les grands brûlés [31]. L'accès rapide à une source illimitée de cellules épidermiques se fait à partir de cellules souches embryonnaires qui peuvent reconstituer en laboratoire et à l'avance un épiderme, parfaitement contrôlé. Dans ce contexte, il serait intéressant d'envisager la mise au point d'épiderme pluristratifié utilisant des kératinocytes dérivés de cellules CSE humaines (CSEh). L'engagement des CSEh dans le lignage épidermique a été rendu possible en combinant à la fois une co-culture de cellules nourricières et un traitement pharmacologique de plus de 40 jours [32]. Dans un premier temps, la perte des capacités pluripotentes des cellules souches embryonnaires a été démontrée par la diminution d'expression d'un facteur de transcription OCT4 (une protéine qui régule l'expression des gènes, reconnu pour son rôle dans la maintenance de la pluripotence des cellules souches embryonnaires). Ces cellules acquièrent par la suite un phénotype de cellules d'épithélium simple avant de s'engager définitivement dans le lignage kératinocytaire, vérifié par l'expression de la kératine 14. À la fin des 40 jours de différenciation, une population de cellules présentant l'ensemble des marqueurs caractéristiques des kératinocytes basaux adultes a alors été isolée et amplifiée.

La capacité de ces cellules à générer un épiderme pluristratifié a, dans un deuxième temps, été mise en évidence *in vitro*. Pour cela, les cellules ont étéensemencées sur une matrice artificielle, puis placées à l'interface air/liquide pendant 10 jours. Dans ces conditions, les

cellules se sont différenciées pour former un épiderme pluristratifié qui présente l'ensemble des couches de l'épiderme humain [33].

Ces résultats, très encourageants, offrent des perspectives d'applications nouvelles. Ces cellules peuvent être proposées comme pansement biologique pour traiter les victimes de brûlures, mais aussi de traiter d'autres affections cutanées : les troubles génétiques de la peau telles que l'épidermolyse bulleuse (maladie monogénique caractérisée par un détachement de l'épiderme provoquant de grandes zones cicatricielles) ou les ulcères chroniques de la jambe (diabète, drépanocytose).

5.2.2 Thérapie cellulaire du système nerveux

Parce qu'elles représentent une réserve cellulaire quasi illimitée par leur propriété d'autorenouvellement et possèdent la capacité de se différencier dans tous les lignages cellulaires *in vitro*, les cellules souches embryonnaires, constituent un outil de choix pour le développement de nouvelles approches thérapeutiques fondées sur le remplacement cellulaire. Chez la souris, l'analyse de la différenciation des CSE dans les lignées gliales et neuronales a été particulièrement bien étudiée, compte tenu de l'enjeu thérapeutique éventuel chez l'homme, mais aussi en raison de la propension naturelle de ces cellules à adopter ce destin cellulaire, et de la flexibilité de leur capacité de différenciation en fonction des conditions expérimentales. L'évaluation du devenir de ces cellules après leur implantation *in vivo* dans le cerveau de souris mimant des maladies neurodégénératives suggère un certain bénéfice thérapeutique, mais révèle également les difficultés et les risques (notamment tumoral) associés à ces stratégies.

5.2.2.1 La différenciation neuronale et gliale des CSEh

Comme dans le cas des cellules ES de souris, la formation des corps embryoides (**figure 9**) ou l'épuisement du milieu de culture provoque la différenciation spontanée des CSEh en cellules exprimant majoritairement des marqueurs de cellules neuro-épithéliales. Ces cellules peuvent être alors amplifiées en présence des facteurs FGF2 et EGF (epidermal growth factor), et former des amas exprimant le neurofilament nestine et la molécule d'adhérence NCAM (neural cell adhesion molecule), amas semblables aux neurosphères produites dans

des cultures primaires de cellules souches neurales de cerveau adulte [34, 35]. La culture de ces neurosphères sur un substrat d'adhérence induit une différenciation terminale majoritairement en neurones et en astrocytes, la différenciation en oligodendrocytes restant marginale [34]. L'induction de la différenciation neuronale par l'acide rétinoïque permet l'obtention de populations mixtes de neurones GABAergiques, dopaminergiques, glycinergiques et glutamatergiques caractérisés par des critères immunohistochimiques, ainsi que d'astrocytes. Les neurones ainsi obtenus ont un degré de maturation fonctionnelle significatif. Des analyses en imagerie calcique (visualisation de la réponse calcique) ont mis en évidence la réponse de ces neurones à divers neurotransmetteurs (GABA, acétylcholine). L'analyse des propriétés de membranes montre que les neurones ainsi obtenus expriment des canaux sodiques et potassiques dépendants du voltage et sont capables d'engendrer des potentiels d'action [36]. Les CSEh semblent donc capables de se différencier in vitro en neurones exprimant des caractéristiques fondamentales des neurones matures.

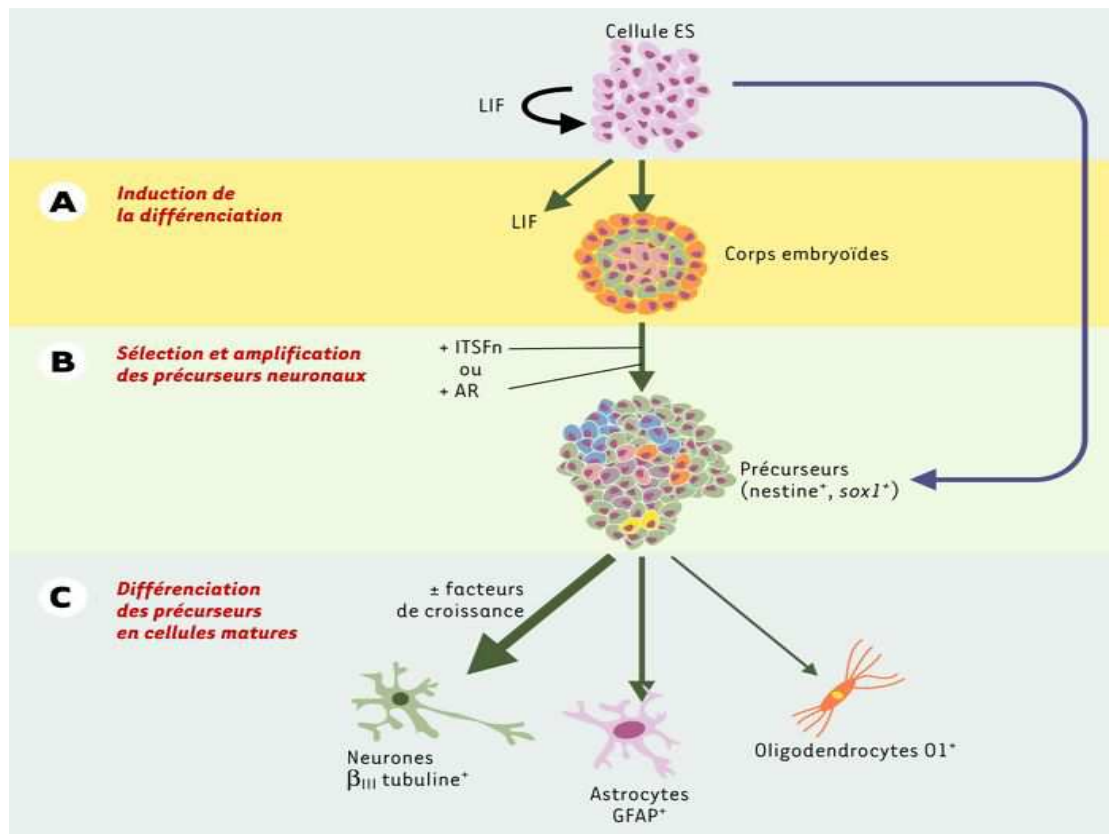


Figure 9 : Principales étapes de la différenciation des cellules ES de souris en cellules du système nerveux. **A.** La différenciation est d'abord induite par la formation de corps embryoides. Ceux-ci sont obtenus en cultivant les cellules ES en suspension pendant 4 à 7 jours. Les corps embryoides sont constitués d'une mosaïque de cellules engagées dans la voie de l'ectoderme, du mésoderme et de l'endoderme. **B.** Dans un deuxième temps, la différenciation dans la voie neuro-épithéliale est stimulée en cultivant les corps embryoides dans un milieu composé d'insuline, de transferrine, de sélénite de sodium, de fibronectine (ITSFn) pendant 7 jours, ou en présence d'acide rétinoïque (AR) pendant 4 jours. Il en résulte la formation d'une population de cellules neuro-épithéliales majoritairement caractérisées par l'expression du neurofilament nestine ou du gène pan-neural sox-1. Ces cellules présentent des caractéristiques génétiques de précurseurs neuronaux, c'est-à-dire de cellules multipotentes capables de se différencier en cellules neuronales et gliales (astrocytes et oligodendrocytes). **C.** La différenciation terminale est induite par la privation, ou au contraire l'ajout de facteurs de croissance ou d'hormones. Cette différenciation terminale résulte en la production de neurones exprimant le marqueur β_{III} -tubuline, d'astrocytes exprimant le marqueur GFAP (glial fibrillary acidic protein), et d'oligodendrocytes exprimant le marqueur O1. Les proportions relatives de ces trois catégories cellulaires dépendent de la nature des facteurs ajoutés. La voie des corps embryoides peut, dans certaines conditions, être court-circuitée (flèche bleue en haut à droite).(37)

5.2.2.2 Application sur la maladie de parkinson

-La maladie de Parkinson : Elle a été la première à faire l'objet d'essais cliniques en thérapie cellulaire (**Figure 10**). La raison en est simple. Cette pathologie est caractérisée par la perte en grand nombre de neurones dopaminergiques (qui produisent et utilisent la dopamine pour transmettre leurs informations aux autres neurones). Ces neurones dopaminergiques sont très nombreux dans le *locus niger* (zone qui sépare les couches supérieures et inférieures de substance blanche, à ce niveau est constituée de neurones qui interviennent dans la régulation des mouvements automatiques) et par leurs prolongements ont une fonction majeure de coordination.

La greffe aura pour but de restaurer les taux de dopamine présents au niveau des neurones dopaminergiques et aussi rétablir les connections perdues.

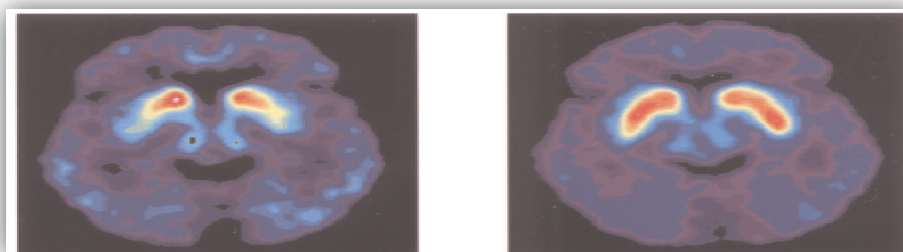


Figure 10 : Image par la technique PET (*Positron Emission Tomography*) d'un patient atteint de la maladie de Parkinson. La couleur rouge correspond à la forme radioactive de la dopamine. A gauche : Image avant transplantation des cellules souches. A droite : Après traitement, le même patient montre une augmentation des neurones dopaminergiques. (38)

La possibilité de produire des neurones dopaminergiques à partir de CSEh constitue une première étape qui rend maintenant possible la mesure du potentiel thérapeutique de ces cellules dans des modèles animaux de la maladie de Parkinson. La première étape doit d'abord permettre de valider *in vivo* la qualité du greffon issu des CSEh. Plusieurs propriétés importantes du greffon nécessitent en particulier d'être confirmées: [39] :

- ✓ une absence totale de formation de tumeur doit être observée, démontrant l'absence de contamination par des CSE non différenciées, fortement tumorigènes.
- ✓ les cellules greffées doivent survivre et maintenir, ou même développer durablement, leur phénotype neuronal et dopaminergique *in situ* après la transplantation.

- ✓ enfin, les neurones du greffon doivent s'intégrer fonctionnellement dans le cerveau hôte, en commençant par réinnervier le striatum de la manière la plus complète possible. [39, 40].

5.2.2.3 Application sur la maladie de Huntington

La maladie de Huntington(MH) : est une maladie neurodegenerative d'origine génétique. Elle se caractérise par une atteinte préférentielle des neurones GABAergiques moyens épineux (MSN) du striatum, une structure cérébrale impliquée dans la régulation des fonctions motrices, cognitives et comportementales. La MH se déclare généralement entre 30 et 50 ans et conduit inéluctablement à la mort des patients en 10 à 20 ans. S'il n'existe encore à ce jour aucun traitement curatif de cette pathologie, une stratégie de thérapie cellulaire qui repose sur la transplantation intracérébrale de neuroblastes fœtaux issus du télencéphale ventral (région du cerveau en développement à l'origine du striatum) a permis, depuis une dizaine d'années, d'obtenir des améliorations cliniques notables lors d'essais cliniques impliquant à ce jour plusieurs dizaines de patients [41,42]. Malgré des résultats encourageants, l'extension de cette thérapie substitutive se heurte à des obstacles aujourd'hui incontournables car inhérents à l'accès même aux cellules chez des donneurs que l'on ne peut atteindre qu'au prix d'une logistique très lourde, rétive à la standardisation et limitante en ce qui concerne les possibilités de contrôle de la qualité des produits. La mise en œuvre à grande échelle de la thérapie cellulaire de la maladie de Huntington nécessite donc l'identification d'une nouvelle source cellulaire permettant de s'affranchir de ces problèmes liés aux tissus fœtaux, tout en procurant des résultats au moins aussi efficaces que ces derniers. Comme pour plusieurs autres indications dans des maladies dégénératives touchant des organes divers, les cellules souches embryonnaires humaines (CSEh) apparaissent ici comme des candidates particulièrement intéressantes du fait de leurs deux propriétés cardinales, l'autorenouvellement - qui assure l'obtention d'une biomasse suffisante, quelle qu'elle soit - et la pluripotence, qui donne accès par différenciation in vitro à n'importe quel phénotype cellulaire. La maîtrise de ces deux propriétés est l'enjeu de toutes les recherches entreprises aujourd'hui pour amener les CSEh aux patients, et cette récente étude [43] démontre que cela

est envisageable dans le contexte d'une approche de thérapie substitutive expérimentale de la MH.

- **Différenciation des CSEh en neurones du striatum in vitro**

La première étape en vue de cette utilisation thérapeutique des CSEh est l'élaboration d'un protocole permettant d'orienter la différenciation de ces cellules vers un phénotype pertinent, dans ce cas, c'est celui des neurones striataux. Le protocole de différenciation striatale in vitro des CSEh repose sur la réplication d'une succession de trois étapes essentielles de l'ontogenèse : d'abord l'induction neurale, ensuite l'expansion et la spécification des précurseurs neuraux vers le phénotype striatal, et enfin la différenciation terminale de ces progéniteurs en neurones striataux. La première étape est fondée sur la culture des CSEh avec des cellules stromales de moelle osseuse. Cette méthode d'induction neurale permet la production en une vingtaine de jours de cellules neuroepithéliales organisées en structures circulaires caractéristiques, appelées rosettes neurales (**Figure 11A**). Ces cellules expriment des marqueurs neuraux tels que la protéine associée aux filaments intermédiaires Nestine, ou encore les facteurs de transcription Pax6 et Sox1. Elles sont également caractérisées par l'expression du facteur de transcription BF1, spécifique du télencéphale. La deuxième étape vise à diriger le phénotype de ces cellules neuroepithéliales vers celui de populations cellulaires du télencéphale ventral, ce qui était réalisé grâce à deux cytokines, SHH (sonic hedgehog) et DKK1 (dickkopf 1, un inhibiteur de la voie de signalisation Wnt). Au cours de la neurogenèse chez la souris, la voie Shh et la voie Wnt ont des actions antagonistes qui participent respectivement à la ventralisation et à la dorsalisation du télencéphale [44, 45]. L'ajout de Shh et Dkk1 a, de plus, permis la production, à partir de cellules ES de souris, de populations cellulaires enrichies en cellules du télencéphale ventral [46]. Sous l'action combinée des molécules SHH et DKK1, une augmentation significative de l'expression des facteurs de transcription spécifiques du télencéphale ventral (GSH2 et DLX2) a été observée, traduisant l'enrichissement des populations neurales dérivées de CSEh en progéniteurs striataux. La troisième étape, qui aboutit à la différenciation terminale de ces populations cellulaires «enrichies» en progéniteurs striataux, a été obtenue en diminuant la densité cellulaire des cultures en présence de BDNF (brain-derived neurotrophic factor), d'AMPC et d'acide valproïque. Cela permet d'engendrer de très nombreux neurones post-

mitotiques qui possèdent des caractéristiques phénotypiques de MSN. Après environ 60 jours de culture plus de la moitié des neurones matures (positifs pour protéine MAP2, microtubule-associated protein 2) expriment la protéine DARPP-32 (dopamine- and cAMP-regulated phosphoprotein MR = 32 000), une protéine fortement et spécifiquement exprimée par les MSN (**Figure 11B**) et plus d'un tiers produisent du GABA (acide gamma-aminobutyrique).

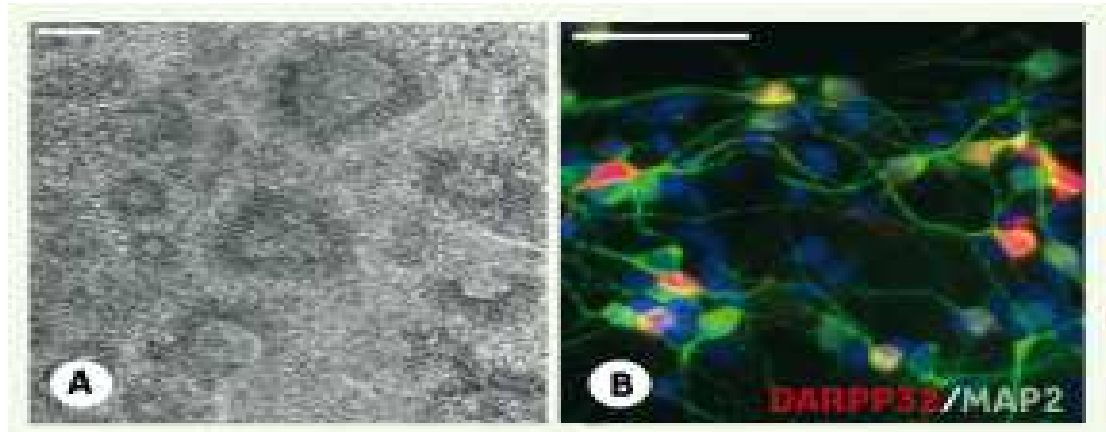


Figure 11 : Différenciation des cellules souches embryonnaires humaines en neurones striataux. A. Photo en microscopie à contraste de phase d'une colonie de cellules neurales organisées en rosettes après 23 jours de culture sur une monocouche de cellules stromales MS5. B. Après environ 62 jours de différenciation, près de 53% des neurones MAP2+ (en vert) expriment la protéine striatale DARPP32 (en rouge). Barres d'échelle : 100 µm. (47)

5-2-3-Les maladies caractérisées par un déficit cellulaire :

- **Le diabète :** C'est une maladie chronique due à une carence ou à un défaut d'utilisation de l'insuline. Cette carence ou ce défaut entraînent une augmentation du taux de glucose dans le sang (hyperglycémie), dont découlent une multitude de conséquences néfastes pour l'organisme. Les transplantations d'organes reins-pancréas, donnent maintenant des résultats plus qu'honorables. La mise au point d'une thérapie cellulaire intéresserait essentiellement les diabétiques jeunes, chez qui elle permettrait d'éviter les multiples complications et l'astreinte du traitement insulinique. En revanche, elle ne concerne pas le diabète de type II. [48].

Trois voies de recherche sont actuellement explorées pour obtenir des cellules pancréatiques à insuline de façon efficace pour des applications médicales : une voie vise à identifier les molécules qui stimulent la réplication naturelle de ces cellules, une autre voie vise à contrôler toutes les étapes intervenant dans le processus de différenciation depuis la cellule souche jusqu'à la cellule pancréatique, la dernière voie est la « reprogrammation directe » qui vise à transformer une cellule pancréatique sans passer par le stade embryonnaire [49].

5-2-4-Autres maladies ciblées :

De nombreuses autres maladies sont candidates à la thérapie cellulaire. L'arthrose, les maladies auto-immunes, les maladies génétiques sont aussi une des cibles, telle la mucoviscidose, maladie génétique incurable et mortelle due à un défaut portant sur un seul gène. Il n'existe pas de traitement spécifique de cette maladie génétique excepté la greffe de poumon ou la thérapie cellulaire. D'autres pathologies notamment les maladies génétiques orphelines sont concernées.

V -CELLULES SOUCHES ADULTES

Les cellules souches adultes (CSA) sont déterminées à remplir plusieurs fonctions spécifiques : certaines possèdent un potentiel régénérateur, certaines permettent de développer et de préserver l'organisme jusqu'à la mort. Ces cellules régénératrices sont appelées les cellules souches adultes, elles existent en faible proportion et servent à conserver et à réparer les cellules des tissus lésés.

Toute la question aujourd'hui est de déterminer si dans le cerveau, le muscle, ou le cœur, l'on peut les activer à des fins de réparation tissulaire. L'absence de risque et leur possible utilisation en situation autologue font de ces cellules souches adultes un produit thérapeutique attractif, mais les obstacles à surmonter sont considérables : nombre limité, faible expansion, perte de potentiel avec l'âge entre autres [50].

1. Les différents types des cellules souches adultes :

Les principaux types de ces cellules souches sont :

- **Les cellules souches mésenchymateuses (CSM):** Les CSM sont multipotentiellles et sont capables de se différencier en cellules stromales, en adipocytes, ostéoblastes, ténocytes, chondrocytes et myocytes. Certains auteurs ont suggéré une différenciation en cellules endothéliales, cellules neuronales et peut être en cellules hépatocytaires. Elles ont été isolées à partir des cellules mononuclées de la moelle osseuse, elles peuvent être isolées aussi à partir du placenta, des tissus adipeux, des poumons, et du cordon ombilical. Les CSM sont particulièrement intéressantes pour le traitement clinique, non seulement en raison de leur capacité à se différencier en différents types cellulaires, mais aussi pour leurs propriétés immunosuppressives. Elles peuvent être isolées par le bénéficiaire.

- **Cellules souches adultes adipeuses:** les cellules souches adipeuses ont été isolées à partir de la graisse humaine, le plus souvent par la liposuccion. Cette population de cellules semble être similaire à des cellules souches mésenchymateuses dérivées de moelle osseuse. Les cellules souches dérivées du tissu adipeux se différencient *in vitro* en cellules adipeuses, mais aussi en cellules musculaires, osseuses et même en cellules nerveuses, ce qui rend ces cellules, une source possible pour de futures applications à la clinique, et elles ont été utilisées avec succès pour réparer des grandes malformations crâniennes chez des patients humains. Il n'y a pas de barrières immunologiques pour ces types de cellules puisqu'elles peuvent être isolées du bénéficiaire.

- **Les cellules souches dérivées de la pulpe dentaire:** Elles ont montré qu'elles ont les mêmes marqueurs cellulaires et des aptitudes différentes des cellules souches mésenchymateuses. Elles ne sont pas associées à une barrière immunologique, car elles peuvent être isolées directement du bénéficiaire.

- **Les cellules souches hématopoïétiques (CSH):** Les CSH se retrouvent uniquement dans la moelle osseuse et en particulier chez l'adulte dans l'os sternal, les os iliaques et la tête du fémur. Une CSH donne une nouvelle cellule souche hématopoïétique grâce à sa capacité d'autorenouvellement et une cellule déjà engagée dans une voie de différenciation qui pourra, à terme, donner des globules rouges, des globules blancs et des plaquettes. Allogreffe ou

autogreffe de routine sont réalisées avec ces cellules souches adultes pour le traitement des tumeurs de la moelle osseuse ou de certains syndromes graves immunodéficients.

- **Les cellules souches mammaires:** les cellules souches mammaires fournissent la source des cellules pour la croissance de la glande mammaire. Elles ont été isolées à partir des tissus humains et de souris ainsi que des lignées cellulaires dérivées de la glande mammaire. Ces cellules individuelles peuvent donner lieu à deux types de cellules de la glande (les cellules luminales et les cellules myoépithéliales).

- **Les cellules souches neurales (CSN):** L'existence des cellules souches dans le cerveau du fœtus ou des adultes a été postulée suite à la découverte de processus de la neurogenèse. La naissance de nouveaux neurones, continue à l'âge adulte. Les cellules souches neurales sont souvent isolées et cultivées *in vitro*. Elles peuvent être propagées pendant de longues périodes de temps et se différencient en deux astrocytes et des neurones.

- **Les cellules souches adultes olfactives:** Les cellules souches olfactives ont pu être récoltées avec une facilité à partir de la muqueuse nasale, et elles sont impliquées dans le sens de l'odorat. Ces cellules ont la capacité de se développer en différents et nombreux types cellulaires, de la même façon que les cellules souches embryonnaires.

Il reste encore d'autres types de cellules souches adultes comme les cellules souches musculaires, épidermiques, les cellules souches des cheveux, etc.

2. Les caractéristiques des cellules souches adultes :

2.1. Auto-renouvellement et différenciation :

Les cellules souches adultes ont deux propriétés biologiques essentielles :

- La capacité de proliférer avec des propriétés d'auto-renouvellement. Cette propriété est également fonctionnellement définie comme la capacité d'une cellule fille à garder la capacité de régénérer l'ensemble du système cellulaire concerné. Cette propriété permet au compartiment des cellules souches de garder ces possibilités de régénérer un système cellulaire à long terme.

- La capacité à l'échelon unicellulaire de produire un très grand nombre de cellules différenciés. Un tissu étant généralement composé de plusieurs types cellulaires, les cellules souches sont habituellement capables d'assurer cette diversité cellulaire [51].

2.2. La multipotentialité :

Différentes formes des CSA conservent des possibilités diverses de se différencier en tissus spécialisés. Les cellules souches multipotentes, c'est-à-dire des cellules qui peuvent être multipliées et maintenues en culture mais n'ont pas un potentiel de renouvellement illimité, peuvent être prélevées sur des fœtus et sont présentes tout au long de la vie, mais leur nombre diminue progressivement chez les adultes. La recherche a tenté de déterminer si les cellules souches multipotentes d'un type donnée (comme les cellules neurales) pouvaient se différencier en un autre type de cellules souches. Bien que des recherches récentes aient montré que des cellules neurales injectées dans le sang de souris pouvaient donner naissances à des cellules sanguines, ces résultats restent à confirmer [52].

2.3. La plasticité :

Certain expériences *in vivo* ont montré que certaines cellules souches, y compris les cellules souches humaines, auraient des propriétés de différenciation qui dépassent largement celui de leur tissu d'origine. Cette propriété à été dénommée « Plasticité », (**Figure 12**). Ce terme signifie théoriquement que des cellules souches adultes engagées dans une voie tissulaire sont capables de changer de potentiel par transdifférenciation, ou par reprogrammation après dédifférenciation [53].

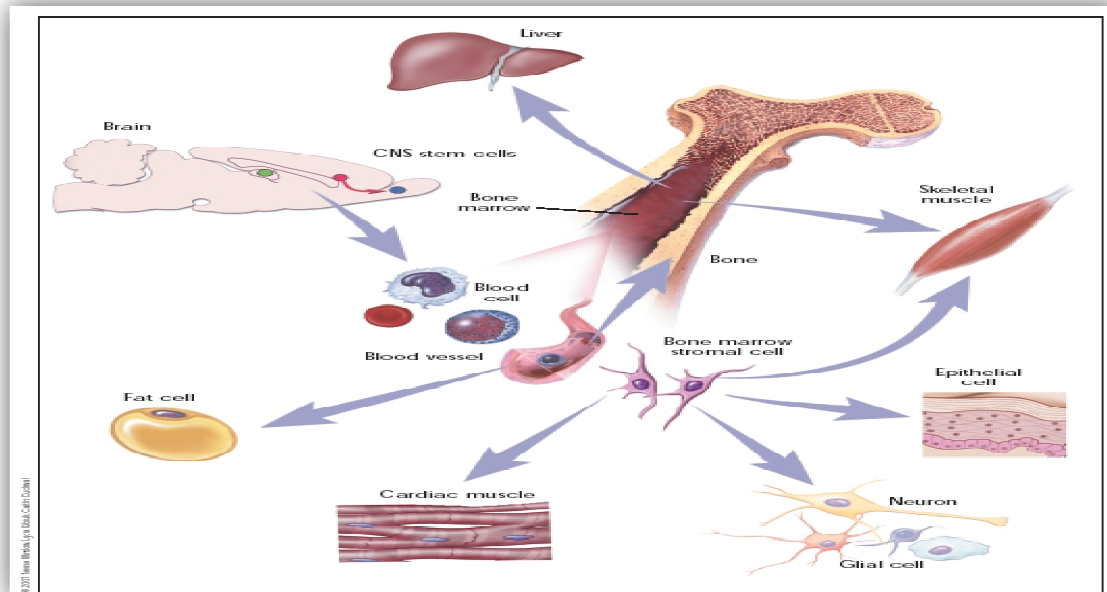


Figure 12 : La plasticité des cellules souches adultes. (16)

La plasticité des cellules souches adultes a été démontrée chez l'animal en premier lieu au niveau des cellules de la lignée hématopoïétique. Ces cellules peuvent en effet se comporter comme des cellules musculaires ou des hépatocytes lorsqu'elles sont injectées dans les organes correspondants, mais elles peuvent aussi se différencier en divers types de cellules épithéliales, notamment du tube digestif, du poumon ou de la peau. De même, des cellules souches nerveuses peuvent se transformer en précurseurs hématopoïétiques ou en myocytes [54].

2.3.1 Mécanismes de la plasticité des cellules souches

À la lumière des expériences de greffe, les 2 mécanismes évoqués sont l'existence de cellules souches « pluripotentes » capables de donner naissance à des cellules de phénotype différent lorsqu'elles sont placées dans un environnement différent, ou à l'inverse, d'un mécanisme de « transdifférenciation », supposant une réelle plasticité d'une cellule différenciée (**Fig.13**). Une troisième possibilité est un phénomène de « dédifférenciation » d'une cellule différenciée, avec acquisition d'un phénotype plus « souche » suivi de l'induction d'un autre programme de différenciation (**Fig.13**).

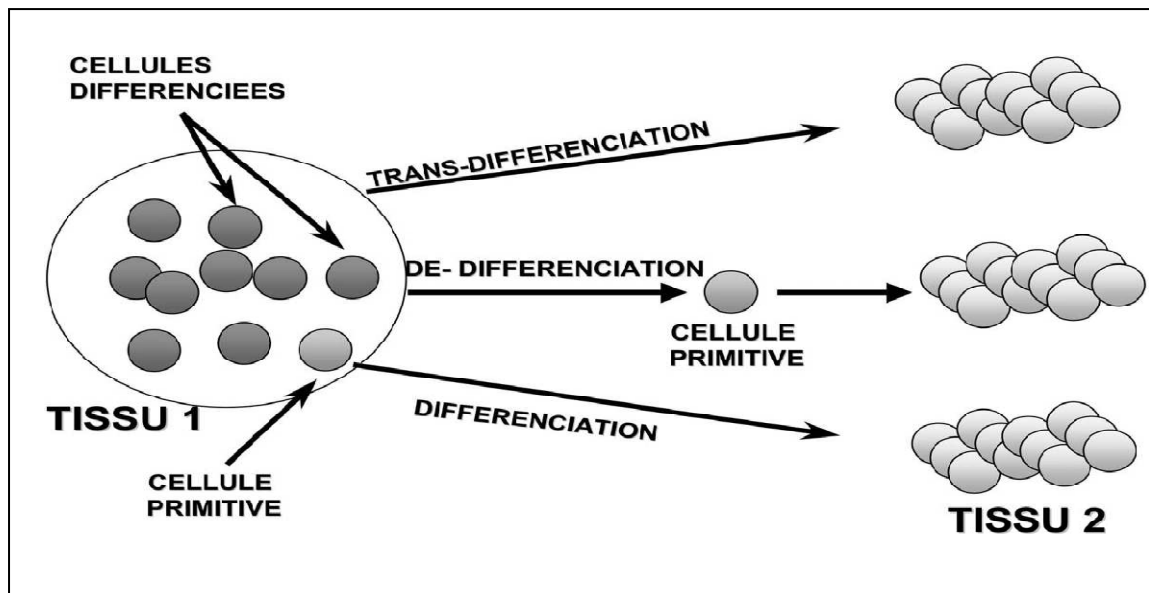


Fig. 13 . Les mécanismes de la plasticité cellulaire. L’engagement d’une cellule souche « somatique » primitive vers une voie de différenciation distincte à la suite d’une greffe est l’hypothèse la plus probable in vivo. Cependant, il existe des arguments expérimentaux in vitro, de « transdifférenciation » d’une cellule mature vers un autre programme de différenciation. De même, la dédifférenciation d’une cellule mature a pu être décrite dans certaines conditions expérimentales (55)

2.3.1.1 Cellules souches « programmables »

Les greffes de moelle ayant été à l’origine de la génération de la plupart de ces phénomènes de « conversion » tissulaires, il est logique de penser que les cellules souches médullaires possèdent cette capacité de « plasticité » : les populations candidates ayant ce potentiel étaient donc en premier lieu, les cellules souches hématopoïétiques, éventuellement capables de changer de programme de différenciation en fonction des stimuli externes solubles ou de contacts avec le microenvironnement. Les expériences de greffe avec des cellules de moelle osseuse de phénotype « hématopoïétique » ont pu donner naissance à des cellules de phénotype hépatique [56] mais ces expériences ont été controversées dans d’autres modèles [57]. Les cellules souches mésenchymateuses représentent une autre population candidate, mais le potentiel de différenciation de ces cellules a été trouvé relativement limité [58].

Des cellules souches très primitives de type embryonnaire qui correspondent à la définition d'une cellule souche « somatique » désignée sous le terme de *multipotent adult progenitor cell* (MAPC) ont été découvertes dans plusieurs tissus chez la souris [59,60] et dans la moelle osseuse humaine [61]. Ces cellules sont purifiées par des techniques de tri (CD45⁻, GPA⁻ chez l'homme et Ter119⁻ chez la souris) suivies d'une culture de plusieurs semaines, les cellules générées sont capables d'un potentiel d'amplification majeure avec la possibilité de réaliser 120 doublements et de générer ainsi théoriquement, 1036 cellules.

Lorsqu'elles sont analysées après plusieurs doublements, ces cellules possèdent des télomères longs et surtout expriment des quantités faibles de Rex1 et d'Oct4, facteurs de transcription caractéristiques des cellules souches embryonnaires. De manière impressionnante, les cellules amplifiées de cette manière peuvent ensuite être orientées vers d'autres phénotypes tissulaires chez la souris, notamment vers la génération de neurones, de cellules hépatiques qui sont fonctionnelles ainsi que des cellules hématopoïétiques [62].

La totipotence qui caractérise les cellules de type MAPC pourrait-elle expliquer l'ensemble des données expérimentales ? Il est actuellement difficile de déterminer si les MAPC sont fonctionnelles *in vivo* à l'état « basal » car elles sont obtenues par des techniques de cultures longues et complexes. Pour déterminer si ces cellules sont à l'origine des phénomènes de plasticité observés après la greffe de moelle, il faudra attendre des expériences de greffe par des cellules mésodermes isolées en une seule étape des tissus comme la moelle osseuse ou le muscle.

2.3.1.2 Transdifférenciation ou « dédifférenciation »

À l'inverse, le phénomène de « plasticité » pourrait être dû à une transdifférenciation d'une cellule déjà engagée dans la différenciation vers un autre type cellulaire (**Fig.13**). Si la survenue de ce phénomène *in vivo* est parue peu probable, de nombreux exemples de « transdifférenciation » existent dans les conditions expérimentales : on sait par exemple, que la surexpression du facteur de transcription *Msx1* dans les myotubes différenciés, entraîne, l'apparition en culture, de cellules mononuclées qui peuvent par la suite être orientées vers une différenciation ostéoblastique, chondrocytaire ou même musculaire [63]. De même, les cellules précurseurs des oligodendrocytes dans le système nerveux central peuvent être dans

les conditions expérimentales, orientées vers une « dédifférenciation » pour générer des cellules souches « neurales » qui sont ensuite capables de donner naissance à des oligodendrocytes, astrocytes et des neurones [64]. On sait par ailleurs que des cellules épithéliales adultes injectées dans des blastocystes murins peuvent contribuer à la génération de plusieurs tissus, témoignant probablement de la capacité de ces cellules de changer de phénotype [65]. Enfin, un des mécanismes évoqué de plasticité est la « fusion » cellulaire entre 2 cellules adultes, un phénomène décrit dans les conditions expérimentales entre les cellules souches embryonnaires (ES) et les cellule adultes : dans ces conditions, les cellules fusionnées peuvent acquérir des propriétés de multipotentialité qu'elles ne possédaient pas auparavant mais elles sont tétraploïdes, donc anormales sur le plan génétique .Cependant, la fréquence extrêmement faible de ce phénomène de fusion *in vitro* (1/100 000 cellules) ne semble pas pouvoir expliquer l'ensemble des phénomènes de plasticité observées après greffe *in vivo*, mais souligne la nécessité d'une étude caryotypique des cellules générées [66].

3.1. La reprogrammation des cellules souches adultes :

La reprogrammation nucléaire d'une cellule somatique consiste à modifier l'organisation de la chromatine – et donc des gènes activés – de telle façon que la cellule puisse adopter un état différent de celui dans lequel elle se trouve dans l'organisme. Par exemple, faire en sorte qu'un fibroblaste, ou un lymphocyte, exprime un potentiel pluripotent voire totipotent. Ce processus abolit en quelque sorte l'évolution inéluctable qui prévaut *in vivo* de la naissance à la mort et redonne à une cellule « âgée » un potentiel équivalent à celui d'une cellule souche embryonnaire voire d'un zygote. Ce processus de reprogrammation ne peut pas se produire spontanément, mais il peut être induit *in vitro* par diverses stratégies, notamment par : le transfert nucléaire et l'induction de pluripotence.

3.1.1 Transfert nucléaire :

Dans les années 50, les équipes des professeurs Briggs et King établir les bases de la technique du transfert nucléaire (autrement dit la technique du clonage) en montrant le potentiel « développemental » des noyaux de cellules issues d'embryons et de têtards en les implantant dans des oocytes énuclés (King and Briggs 1955). En 1958, la technique du

transfert nucléaire somatique fut finalement expérimentée par l'équipe du Professeur John Gurdon sur le modèle *Xenopus* (Gurdon, Elsdale et al. 1958). En 1996, avec la naissance du très médiatique mouton « Dolly », le Professeur Ian Wilmut démontra pour la première fois que ce procédé fonctionnait aussi chez le mammifère [67].

Dans cette technique, après collection des oocytes, leurs noyaux sont retirés et remplacés par celui d'une cellule somatique différenciée. Le noyau somatique avec 2N chromosomes est reprogrammé et se comporte alors comme un zygote qui s'engage dans un programme développemental en progressant vers le stade blastocyste.

Donc, le transfert nucléaire est le passage du noyau d'une cellule à une autre cellule, préalablement vidée du sien. Il peut se faire manuellement, avec une pipette très fine (micro-injection), ou à l'aide d'un bref choc électrique qui entraîne la fusion des deux cellules (électrofusion) : la cellule receveuse est alors un ovocyte «énucléé» (**Figure 14**)

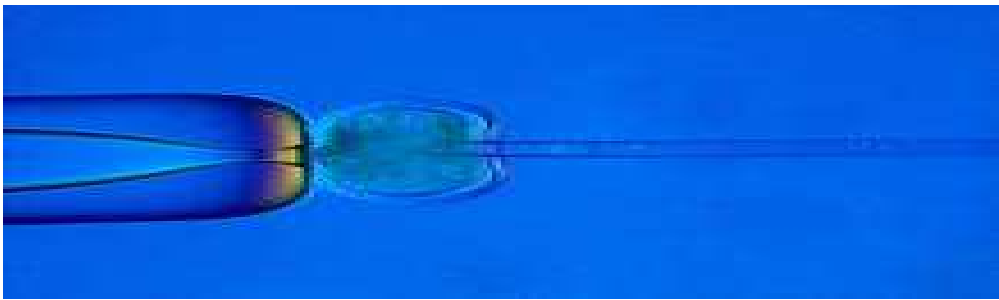


Figure 14 : Transfert nucléaire par micro-injection. (68)

3.1.2 Induction de pluripotence (reprogrammation directe) :

Dans son éditorial de « Science » du 19 décembre 2008, Bruce Alberts présentait la sélection des 10 découvertes scientifiques majeures récentes. Était classée en tête, la reprogrammation de cellules adultes spécialisées en cellules pluripotentes (iPS, induced Pluripotent Stem cells) ayant des potentialités très proches, sinon identiques, aux cellules ES. Pour la première fois des cellules embryonnaires étaient produites en laboratoire en l'absence d'embryons ou d'ovocytes. Tout avait commencé 2 ans plus tôt, le 25 août 2006, par une publication dans la revue « Cell » de chercheurs de l'Université de Kyoto (Takahashi and Yamanaka 2006). La reprogrammation est obtenue par

l'infection de fibroblastes murins par des rétrovirus permettant la surexpression de 4 gènes : Oct4, Sox2, Klf4 et c-Myc qui codent pour des facteurs de transcription choisis parmi une liste de 24 gènes connus pour jouer un rôle dans la pluripotence des cellules ES.

Donc une autre stratégie beaucoup plus simple et efficace permet de reprogrammer toute cellule adulte (humaine et animale) en une cellule pluripotente dite iPS (induced pluripotent stem cells) [69] : elle est fondée aussi sur le concept de la reprogrammation du noyau, mais il n'y a pas de transfert de noyau dans un ovocyte et donc pas d'« embryon ». La structure du noyau est modifiée « sur place » dans la cellule d'origine par des protéines que l'on y introduit de force (pour l'instant via des rétrovirus) comme le montre la **Figure 15**. Protéines choisies parce qu'elles sont indispensables au développement embryonnaire initial, et à la pérennisation de l'état pluripotent des lignées de CSE *in vivo*, et qu'elles participent à la reprogrammation du noyau par l'ovocyte lors du transfert nucléaire. Une fois le processus de reprogrammation enclenché, il s'autonomise et les protéines exogènes « starter » sont remplacées par les propres protéines pluripotentes de la cellule dont la synthèse est enclenchée, pérennisant un état pluripotent stable [70].

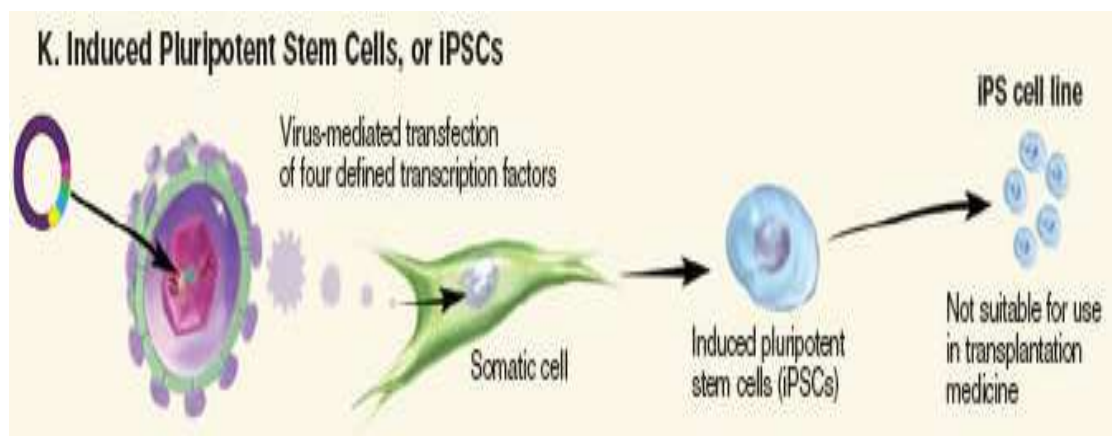


Figure 15 : : Principe de l'induction de la pluripotence dans une cellule somatique par surexpression forcée de certains gènes. (71)

4. Conditions d'utilisation des cellules souches adultes en thérapeutique humaine :

A l'exception des cellules souches de la peau et du tissu hématopoïétique déjà utilisés avec succès en thérapeutique réparatrice, l'utilisation d'autres cellules souches tissulaires adultes, est encore purement spéculative et ne repose que sur les résultats décrits chez des modèles animaux [72,73]. La rareté des données actuellement publiées chez l'homme, si elle écarte l'hypothèse d'une utilisation à court-terme (< 5 ans) de cellules souches adultes en thérapeutique, rend indispensable en revanche leur étude sur un plan fondamental qui seule documentera leur potentiel intérêt thérapeutique. De ce qui précède, il apparaît que les principaux objectifs à atteindre dans une optique thérapeutique sont de deux ordres :

- ***Sur un plan fondamental , il est essentiel :***

- D'obtenir la preuve que chez l'homme comme chez l'animal, la moelle osseuse, et éventuellement d'autres tissus adultes (dont le muscle) contiennent plusieurs types de cellules souches tissulaires,

-De déterminer le degré de “ *pluripotence*” de cellules souches adultes, musculaires, nerveuses, ou hématopoïétiques: sont-elles capables de s'orienter vers la fabrication de plusieurs tissus, au choix de l'expérimentateur?

- ***Dans l'hypothèse d'une application pratique future, il est essentiel :***

- De déterminer les conditions d'obtention d'un nombre de cellules souches adultes (ou de cellules spécialisées obtenues en culture à partir de la différenciation de cellules souches) suffisant et compatible avec la réparation tissulaire *in vivo* chez le patient. Cela implique les opérations suivantes :

- Définir les facteurs nutritifs dont ces cellules ont besoin pour se multiplier, tout en gardant intacte leur capacité de produire des cellules spécialisées réparant le tissu *in vivo* et caractériser la nature des gènes permettant cette multiplication importante, identifier les signaux spécifiques d'un environnement tissulaire donné qui dictent la différenciation des cellules souches pour former ce tissu, et caractériser la nature des gènes activés lors de cette induction [74].

- Evaluer la fonction des cellules ainsi traitées hors de l'organisme, il faut définir des modèles animaux aussi proches que possibles de la physiologie humaine, et y vérifier la réalité de l'utilisation de cellules souches adultes.

5. Applications des cellules souches adultes :

5.1. Etat actuel des possibilités d'utiliser des cellules souches adultes :

Actuellement, deux possibilités existent pour réparer un organe ou un tissu lésé : soit on le remplace en totalité (transplantation d'organe), soit on y implante des cellules capables de pallier, partiellement ou totalement, le dysfonctionnement. Le choix dépend du type d'organe, de sa complexité, de sa capacité de réparation spontanée (à partir de ses propres cellules souches), de l'étendue et de la nature des lésions.

Parmi les tissus dont le remplacement peut être assuré par l'utilisation de cellules souches adultes en thérapeutique :

+**Les cellules sanguines** : Le receveur malade reçoit, à partir d'un donneur sain, la moelle osseuse contenant les cellules souches hématopoïétiques qui vont produire, chez le receveur, des cellules sanguines normales pendant la vie de l'individu transplanté [75].

+**La peau** : le patient malade est greffé avec une “ *peau artificielle* ” obtenue par la multiplication en culture de cellules souches épidermiques prélevées sur une portion de peau saine du malade. Il y a dans ces conditions réparation de l'épiderme et du derme superficiel [76].

+**L'os** : Dans les grands dégâts osseux, la réparation osseuse est accélérée par l'implantation de matériaux artificiels et de cellules souches mésenchymateuses, isolées à partir de la moelle osseuse du patient, cellules capables de produire des cellules osseuses (ostéoblastes) [77].

+**Le cerveau** : Dans certaines maladies dégénératives (Maladies de Parkinson ou de Huntington) il est actuellement possible d'implanter dans le cerveau malade des neurones fœtaux et d'améliorer la symptomatologie des malades [78].

Le cœur : La thérapie cellulaire pour le cœur pourrait s'adresser aux insuffisants cardiaques (l'artère coronaire, qui nourrit le cœur se bouche. Une partie de l'organe n'est alors plus irriguée et meurt, d'où l'insuffisance cardiaque). Comme les cellules cardiaques n'ont aucune capacité de régénération, les chercheurs ont eu l'idée de prélever des cellules d'un autre muscle de l'organisme et de les réimplanter dans le cœur. Cette opération a été réalisée grâce à des cellules souches de la cuisse du patient, les myoblastes, qui mises en culture afin d'en obtenir plusieurs milliards en quelques semaines, ont été réimplantées dans le cœur du patient.

Le même essai a eu lieu grâce à des cellules souches de la moelle osseuse : L'injection de cellules de moelle osseuse CD34+ et CD133+ a provoqué une amélioration concernant la perfusion de la zone lésée et sa contractilité, mais, il manque toujours la caractérisation histologique. Dans certains cas, des réponses délétères ont été observées : des resténoses vasculaires liées à une endothélialisation des gros vaisseaux sanguins proches ou plus éloignés, se sont produites. L'administration des cellules par injection intracoronarienne semble favoriser des micro-embolies causant de nouveaux accidents ischémiques. Toutes les cellules injectées n'ont pas la même capacité de différenciation en cardiomyocytes. Les cellules CD34+ qui présentent le meilleur potentiel cardiomyogénique et angiogénique sont peu présentes par rapport aux autres types cellulaires injectés. [79 ,80]

VI. APPLICATIONS DES CS PLURIPOTENTES DANS L'INDUSTRIE PHARMACEUTIQUE

Le marché des produits de la santé est l'un des plus importants à travers le monde. Dans un contexte très concurrentiel, le processus de recherche conduisant à la mise sur le marché d'un médicament est lent, extrêmement coûteux (de l'ordre de 900 millions de dollars sur 10 à 15 ans) et subit un taux d'échec très important [81]. L'une des raisons principales de ces problèmes vient du fait que les modèles utilisés, aussi bien dans les phases de découverte de nouveaux composés potentiellement thérapeutiques que dans les phases d'évaluation de leurs propriétés pharmacologiques ou toxicologiques, sont parfois peu représentatifs du malade et conduisent à des erreurs souvent révélées tardivement.

Actuellement, l'industrie pharmaceutique réfléchit à de nouveaux modèles plus pertinents pour mener efficacement leur recherche. Les cellules souches pluripotentes font partie de ces options et pourraient faire partie des stratégies utilisables tout au long du cycle de développement d'un médicament.

1. De l'hypothèse scientifique à la cible moléculaire, la modélisation pathologique

Afin de modéliser une maladie humaine dans le but de l'étudier et de comprendre les mécanismes physiopathologiques impliqués, les scientifiques ont recouru à des modèles qui sont censés être le plus représentatifs de la pathologie étudiée dans lesquels ils peuvent tester leurs hypothèses et rechercher une cible moléculaire altérée (ex. modèles animaux, coupe organotypique, modèles cellulaires). Par exemple, les cellules de patients affectées par la dite maladie constituent un modèle pertinent. Malheureusement, cette ressource biologique est trop souvent rare du fait même de la maladie (maladie génétique) ou à cause de la difficulté d'accès à une ressource particulière par exemple une biopsie nécessitant une opération chirurgicale parfois risquée pour le patient (foie, cerveau, rein...). De plus, les expérimentations sur ces prélèvements peuvent être limitées par leur hétérogénéité (les biopsies sont des mélanges cellulaires), par le statut post-mitotique de certaines cellules (neurones) que l'on obtient en très faible quantité et que l'on ne peut pas amplifier ni conserver ou encore par la perte de leur phénotype en culture (hépatocyte). Pour pallier le problème de la quantité cellulaire, des lignées cellulaires cancéreuses ou rendues immortalisées par manipulation génétique sont utilisées. Ces cellules, bien qu'utiles, sont des modèles assez éloignés de la maladie, d'autant que leurs voies de signalisation et leurs métabolismes sont eux-mêmes perturbés. Ainsi, les résultats biologiques générés sur ces modèles peuvent conduire à des conclusions erronées sur les mécanismes physiopathologiques. Les cellules souches pluripotentes (hES ou hiPS) peuvent apparaître comme des modèles cellulaires de nouvelles générations, en particulier dans la modélisation des maladies monogéniques entraînant des anomalies du développement. Elles offrent la possibilité de palier à un certain nombre de problèmes du fait de leurs caractéristiques.

Théoriquement, les propriétés d'autorenouvellement des cellules souches pluripotentes (hES/hiPS) permettent de s'affranchir de la limitation en matériel biologique, puisqu'une fois établies ces cellules offrent la possibilité de disposer d'une source continue de cellules. De plus, leur propriété de pluripotence permet l'obtention de cellules de phénotypes pertinents, parfois inaccessibles par un autre moyen, à condition cependant de pouvoir disposer de protocoles de différenciation guidée, adaptés [82- 84].

1.1 Modélisation pathologique des maladies génétiques

La modélisation pathologique permet d'étudier les mécanismes physiopathologiques et de rechercher de nouvelles cibles thérapeutiques pour une maladie donnée. L'existence de lignées hES mutantes spontanées ou artificielles permet d'envisager la modélisation pathologique de nombreuses maladies monogéniques. Elles peuvent être obtenues de plusieurs façons : (1) par modifications génétiques : une mutation est introduite dans des cellules ES dérivées d'un embryon surnuméraire normal. (2) par dérivation à partir d'un embryon porteur d'une mutation identifiée dans le cadre d'un diagnostic préimplantatoire (DPI). (3) par reprogrammation directe à partir de tissus de patients (iPS spécifiques de patients).

1.1.1 Les cellules hES normales modifiées par génie génétique

Le transfert de gènes dans les cellules ES permet de produire des souris transgéniques afin de tester leurs fonctions à l'échelle d'un animal entier. Pour des raisons évidentes, cette technique est impossible à transférer à l'Homme, en revanche il est possible, comme pour toute lignée, de modifier les cellules hES par génie génétique [85-88]. Ces manipulations sont considérées d'un point de vue légal comme un organisme génétiquement modifié dont les exigences diffèrent principalement en fonction des moyens mis en œuvre pour le transfert de gènes et surtout du type de transgène mais finalement peu du type de cellules modifiées. L'une des applications immédiates de ces manipulations génétiques est la possibilité de créer, à partir des cellules hES normales, des lignées porteuses d'une maladie génétique [89]. Les modèles de maladies génétiques dominantes dues à une mutation de type gain de fonction peuvent être créés simplement en introduisant dans les cellules ES le gène

malade alors que pour les maladies récessives dues à une mutation de type perte de fonction, il faut cibler les 2 allèles d'un gène. Cela peut être réalisé soit en insérant une mutation dirigée par recombinaison homologue ou par la technique du piégeage de gènes, soit en éteignant l'expression d'un gène cible par ARN interférence [90].

1.1.2 Les lignées de cellules ES mutantes porteuses d'anomalies génétiques

Ces lignées de cellules souches sont dérivées dans le cadre d'une procédure médicalement assistée associant fécondation in vitro (FIV) et diagnostic préimplantatoire (DPI). Cette technique permet à un couple ayant un risque important (25-50%) de transmettre une maladie génétique grave et incurable de pouvoir donner naissance à un enfant exempt de la maladie. La procédure générale est celle de la FIV avec un DPI réalisé au stade morula (8 cellules). Un blastomère est prélevé et analysé par une méthode de biologie moléculaire afin de détecter les embryons porteurs de la maladie recherchée. Les embryons qui ne sont pas réimplantés peuvent être utilisés dans un but de recherche et notamment pour la dérivation de lignée de cellules hES mutante(**Figure16**).

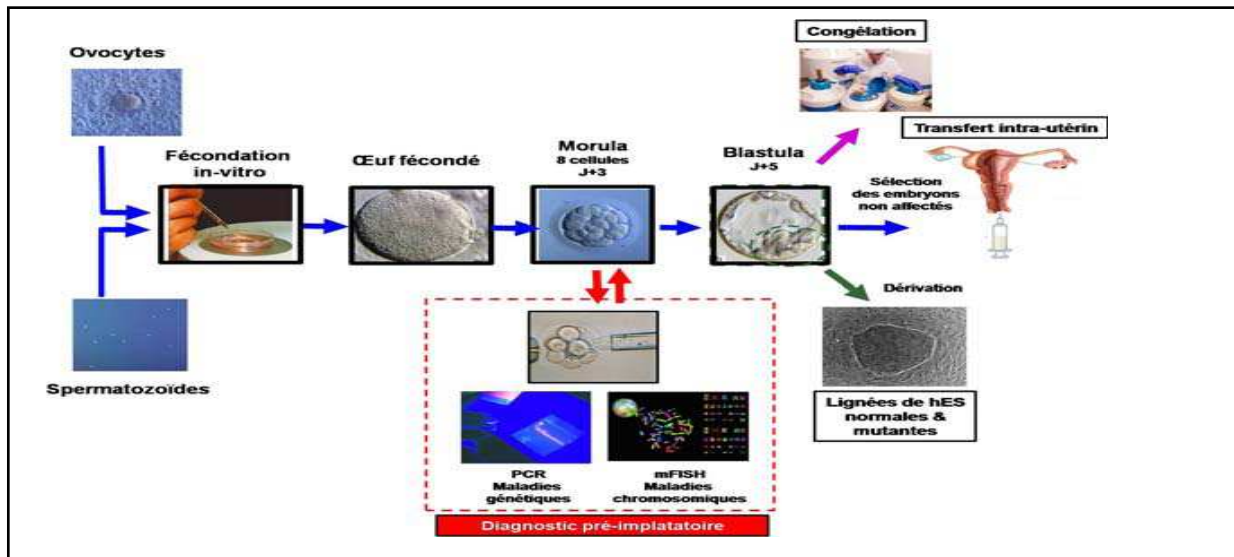


Figure 16 : Origine des lignées de cellules souches embryonnaires mutantes. [91].

Au cours de la fécondation in-vitro (flèche bleue), les ovocytes et les spermatozoïdes sont mis en contact dans une boîte de pétri en présence de milieu de culture adapté. L'embryon évolue jusqu'au stade blastocyste (5ème jour). Les embryons choisis sont transférés par insémination artificielle dans l'utérus receveur et la grossesse peut alors se poursuivre. Les embryons surnuméraires sont soit congelés (flèche violette), soit détruits et dans ce dernier cas ils peuvent servir à établir une lignée de cellules hES (flèche verte) après recueil du consentement éclairé du couple. Lors du diagnostic préimplantatoire (flèche rouge), un blastomère peut être biopsié au stade 8 cellules et analysé par des méthodes de PCR ou de mFISH afin de détecter la présence respectivement d'une maladie génétique ou chromosomique, c'est ce que l'on appelle le diagnostic pré-implantatoire. Les embryons avec 7 blastomères se développent normalement jusqu'au stade blastocyste et les embryons exempts de la maladie sont inséminés permettant la naissance d'enfant non atteint.

Certaines de ces pathologies « graves et incurables » sont plus fréquemment testées que d'autres du fait notamment de l'existence de moyen diagnostic en terme de rapidité, fiabilité et de la compatibilité de ces techniques de biologie moléculaire avec l'utilisation d'une seule cellule pour le test.

Cette technologie a permis d'obtenir des lignées de cellules souches hES mutantes principalement pour les maladies couramment testées dans le cadre du DPI, telles que la mucoviscidose [92,93].

1.1.3 Les cellules souches induites à la pluripotence spécifique de patients

La possibilité d'induire expérimentalement la pluripotence par reprogrammation directe de fibroblastes ou de lymphocytes de patients, cellules facilement accessibles, permet d'étendre de manière considérable la possibilité de créer des modèles cellulaires de maladies génétiques humaines. Chaque clone d'iPS généré à partir des cellules d'un patient spécifique permet d'envisager l'obtention de plusieurs sous modèles cellulaires donnant ainsi la possibilité de tenir compte de l'âge, du sexe mais aussi et surtout du type de mutation. Très rapidement, plusieurs équipes, dont celles de Georges Q. Daley à l'hôpital pédiatrique de Boston, ont dérivé des clones d'iPS en reprogrammant principalement des fibroblastes de patients avec les 4 facteurs (OCT4, SOX2, KLF4, cMYC) [94].

2. De la cible moléculaire à la molécule « hit », le criblage à haut débit.

Les cellules souches pluripotentes offrent l'avantage de permettre d'obtenir des quantités importantes de cellules affectées par la maladie. Il est ensuite possible de les différencier vers des populations homogènes de progéniteurs intermédiaires (progéniteurs du mésoderme ou cellules souches neurales) qui représentent des ressources biologiques adaptées pour le criblage à haut débit. Au cours de cette étape des dizaines de milliers de molécules vont être mises en contact avec le modèle cellulaire muté et un test spécifique sera développé pour mettre en évidence les molécules (les « hits » ou « touches ») qui permettront de normaliser la modulation pathologique d'une cible identifiée au cours de l'étape de modélisation pathologique.



Figure 17 : Photo de l'intérieur du robot BioCell [95].

Ce robot est utilisé au laboratoire I-Stem (et dans d'autres laboratoires de l'industrie pharmaceutique) pour le criblage de chimiothèques.

3. De la molécule « hit » au médicament, étude préclinique et clinique

Une fois identifiée, la molécule « hits » passe par une étape de validation interne (re-test, contre-test, IC50, cytotoxicité). Au cours de cette étape, la molécule peut subir des « ajustements » chimiques. La molécule optimisée devient un « lead » et rentre en phase « préclinique ». Cette phase est très importante puisque celle-ci a pour but d'apporter un niveau de sécurité et d'efficacité suffisant avant le passage chez l'Homme (étude clinique). Cette phase utilise des modèles animaux, cellulaires et in-silico afin de déterminer les paramètres pharmacocinétiques, pharmacodynamiques et toxicologiques de la molécule. Ces modèles doivent également être choisis avec précaution et mimer autant que possible la réalité. Au cours de cette phase, de nombreux tests utilisent des animaux. Dans le contexte législatif actuel, les différentes réglementations européennes et les recommandations de l'OCDE incitent les industriels à limiter l'utilisation des animaux pour leurs études. L'utilisation des cellules souches pluripotentes se présente également dans ce cadre comme des modèles innovants notamment en toxicologie prédictive. Les cellules souches pluripotentes sont

notamment précieuses car elles peuvent se différencier en deux phénotypes particulièrement intéressants pour ces études : les hépatocytes et les cardiomyocytes. En effet, la majorité des effets toxiques et des effets indésirables constatés aux cours du développement clinique ou après la mise sur le marché d'une molécule concerne l'hépatotoxicité et la cardiotoxicité [96]. Ces deux événements conduisent soit à l'arrêt du développement de la molécule soit à son retrait du marché (**Figure 18**).

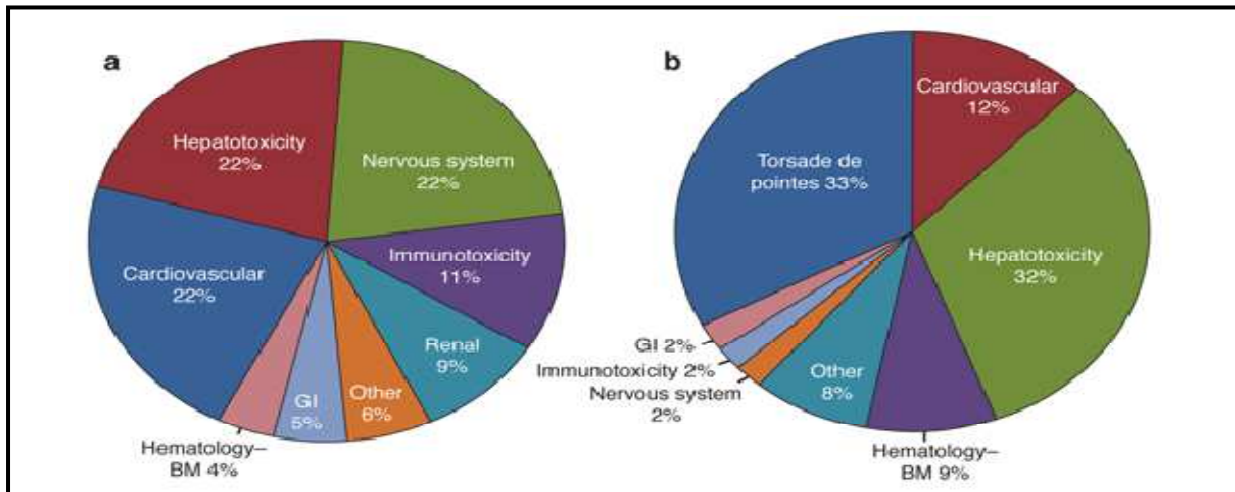


Figure 18: Effets indésirables causant (a) l'arrêt du développement clinique des composés en phase I-III (b) et le retrait du marché. Les pourcentages sont calculés sur 79 médicaments en phases clinique et 47 qui avaient une autorisation de mise sur le marché (AMM). BM moelle osseuse ; GI Gastro – intestinale [97].

3.1 Modèles cellulaires utilisant des hépatocytes dérivés de cellules pluripotentes

Les hépatocytes ont un rôle central dans les mécanismes de transport et de clairance de toutes sortes de molécules exogènes, en particulier les médicaments. Toutes les molécules absorbées par voie orale se retrouvent dans le système sanguin au niveau de la veine porte hépatique. Certains d'entre-eux sont métabolisés de manière extrêmement efficace de sorte que la quasi-totalité de la molécule est éliminée avant même sa distribution au tissu cible par la circulation systémique (on appelle ce phénomène, l'effet de premier passage hépatique). De plus, au moment de leur métabolisation, les molécules peuvent être transformées par un équipement enzymatique hépatocytaire en métabolites pouvant être toxiques. L'utilisation de modèles d'hépatocytes est donc indispensable dans les phases précliniques à la fois pour

déterminer les paramètres pharmacocinétiques de la molécule mais aussi son effet hépatotoxique éventuel. Les cellules souches pluripotentes pourraient représenter une nouvelle source d'hépatocytes à condition de pouvoir les guider dans leur différenciation de manière adéquate. Plusieurs publications ont montré qu'il était possible d'obtenir des cellules ressemblant à des hépatocytes en suivant un protocole qui récapitule l'ontogénèse embryonnaire (**Figure 19**).

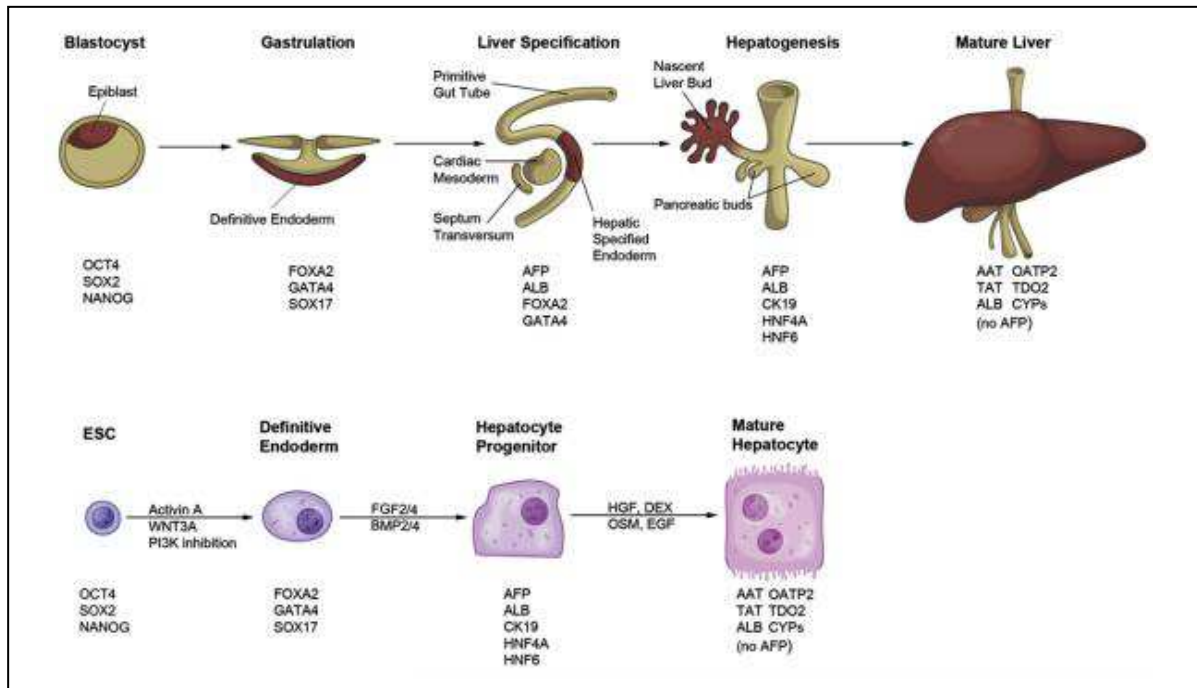


Figure 19: Schéma représentant la différenciation hépatique in vitro et in vivo. Des marqueurs phénotypiques de chacune des étapes sont présentés ainsi qu'un certain nombre de molécules utilisées dans les différents protocoles [98].

Le protocole en 3 phases consiste à orienter les cellules vers l'endoderme définitif. On peut obtenir près de 80% de cellules correctement différenciées. Les progéniteurs endodermiques sont ensuite spécifiés vers le stade hépatoblaste puis ces derniers sont induits vers la différenciation hépatique terminale. Les cellules obtenues présentent une morphologie polygonale typique et expriment de nombreux marqueurs hépatiques [99]. Elles montrent également une certaine fonctionnalité in vitro comme la synthèse et la sécrétion d'albumine, la synthèse d'urée, le stockage du glycogène et une activité de transport. Ces cellules expriment aussi des enzymes du métabolisme de type I comme le cytochrome P450 CYP1A

[100]. mais aussi le CYP3A4 qui est responsable de la métabolisation de plus de 50% des médicaments [101].

Ces résultats sont relativement encourageants même si les cellules terminales complètement différenciées sont encore difficiles à obtenir. Il est possible que des systèmes de co-cultures avec des cellules de Küpffer ou des cellules endothéliales permettent de recréer des conditions environnementales qui miment le contexte hépatique in-vivo permettant ainsi de créer des modèles cellulaires performants.

3.2 Modèles cellulaires utilisant des cardiomyocytes dérivés de cellules pluripotentes

La cardiotoxicité est un point clé du développement d'un médicament car sa recherche est demandée par les agences réglementaires américaine (FDA) et européenne du médicament (EMA). Par exemple, la capacité de certaines molécules à induire de manière inattendue des torsades de pointe par prolongement de l'espace QT est la première cause de retrait de produit du marché.

La possibilité de différencier les cellules hES vers des cardiomyocytes fonctionnels, c'est-à-dire répondant aux stimuli électriques et pharmacologiques, suggère la présence de canaux et de récepteurs adrénergiques et muscariniques adéquats [102]. Par ailleurs, la possibilité d'enregistrer des courants électriques sur ces cardiomyocytes dérivés de hES, par exemple par le système de puce à microélectrodes, permet de prédire la capacité d'une molécule à retarder la repolarisation [103]. Ce modèle permet également de tester de nombreux autres paramètres parmi lesquels la fonction contractile, l'arythmie cardiaque et la réponse au stress oxydant.

3.3 Détermination de la tératogénicité

La tératogénicité est l'un des critères évalué pendant les phases précliniques. Elle est définie comme un effet toxique due à un xénobiotique (polluants, contaminants, médicaments) capable d'entraîner des anomalies du développement embryonnaire. En effet, l'embryon humain peut être extrêmement sensible aux effets de molécules qui traversent la

barrière placentaire. Par conséquent, la détermination du risque toxique est un élément clé de la sécurité d'utilisation d'un médicament. Toutefois, peu de tests (y compris les tests animaux) sont suffisamment prédictifs. Les cellules souches pluripotentes pourraient être des alternatives intéressantes pour prévoir l'effet tératogène d'un composé. L'une de ces méthodes validée par l'ECVAM (le centre européen de validation des méthodes alternatives) est déjà proposée aux industriels. Il s'agit du « test des cellules souches de souris » [104]. Dans ce test, les cellules ES de souris sont différenciées en corps embryonnaire battant (=présence de cellules ressemblant à des cardiomyocytes responsables de zones de contraction spontanées). Ce test consiste à identifier sur les bases d'un ensemble de marqueurs, les molécules capables d'altérer la différenciation. Ce test donne de bon résultat et permet prévoir de manière précise les molécules aux propriétés tératogènes Ce test est toujours en cours de développement ainsi que d'autres tests utilisant des cellules ES humaines sont également en développement. Ces derniers permettraient de limiter les extrapolations inter-espèces entre l'Homme et la souris [105].

4. Du médicament pour tous au médicament personnalisé

Un médicament peut être retiré du marché à cause d'effets indésirables révélés lors de son utilisation à grande échelle dans la population mondiale. En général, il est extrêmement difficile de prévoir ces effets qui peuvent ne concerner qu'une petite proportion de la population générale, qui peut réagir de manière différente à une molécule du fait de différences interindividuelles.

Les cellules iPS spécifiques de patients permettent de tenir compte de la diversité génétique interindividuelle et en font des modèles innovants pour la médecine personnalisée. Avec ces modèles, il est théoriquement possible d'étudier les effets des polymorphismes et du contexte pathologique (présence de mutation) sur les paramètres pharmacocinétiques d'une molécule dans un phénotype cellulaire particulier. A terme, ces modèles devraient permettre d'anticiper les effets indésirables d'une molécule chez un patient donné (ou plus justement un groupe de patients) [106].

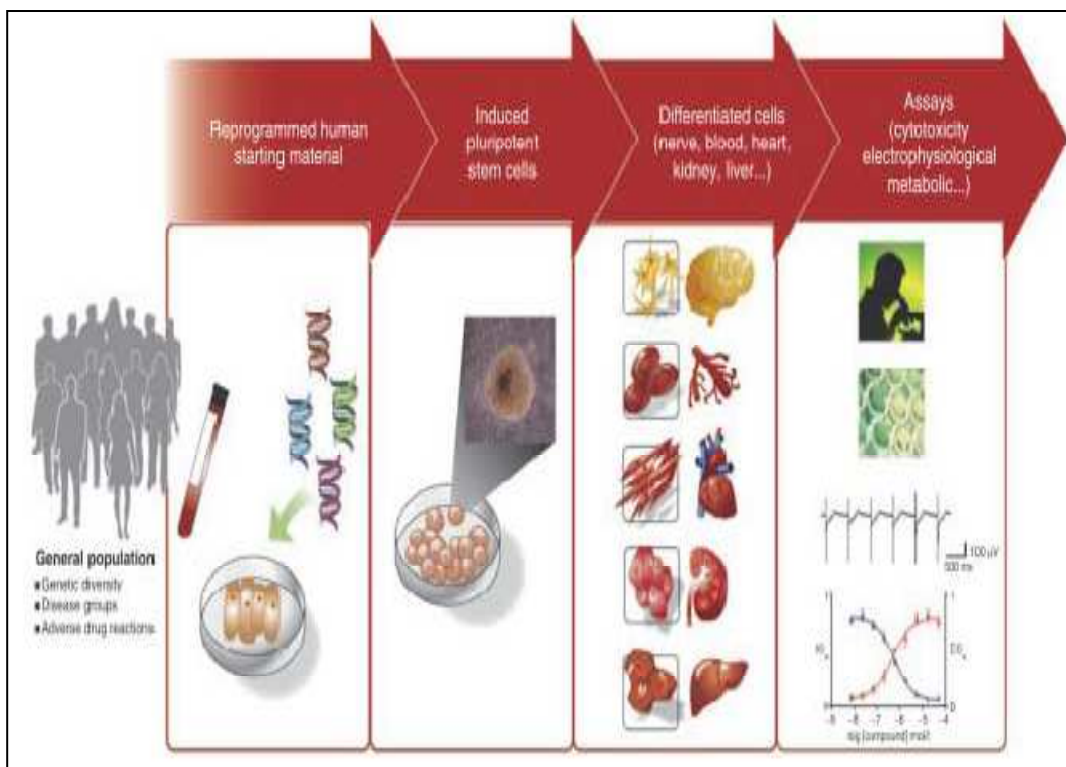


Figure 20 : génération et utilisation des cellules souches pluripotentes en toxicologie prédictive. Les cellules somatiques de la peau, du sang, du tissu graisseux ou d'autres tissus peuvent être utilisées après consentement des donneurs pour la génération de cellules iPS spécifiques de patients [107].

VII.LIMITES PRATIQUES D'UTILISATION DES CELLULES SOUCHES :

- L'injection des cellules dans un organisme est analogue à une greffe. Si les cellules fournies sont reconnues comme étrangères à l'organisme, elles seront détruites quel que soit leur intérêt thérapeutique.

- Les cellules sélectionnées injectées ne possèdent pas une durée de vie illimitée. Des cellules musculaires cardiaques, par exemple, sont restées viable 7 semaines seulement.

- les cellules indifférenciées injectées chez l'adulte peuvent former une simple masse de cellules variées, analogue à une tumeur (tératome). La sélection et la différenciation contrôlée des cellules issues de souches doivent être efficacement contrôlées.

- les cellules souches embryonnaires doivent être prélevées sur des embryons humains. Dans nombre de sociétés et de cultures, cela crée des obstacles éthiques au développement de cette pratique

- Les cellules obtenues demeurent isolées et sont incapables de s'associer pour former un organe déterminé. Au mieux, elles s'insinuent et colonisent un organe déjà formé. L'édification d'un organe est un processus complexe qui met en jeu des interactions entre des types cellulaires différents. Pour l'instant, ce processus n'est pas reproductible, mais on peut raisonnablement penser que les cellules souches ouvrent la voie vers la constitution, dans un futur relativement proche, de véritables organes de remplacement qui permettront de reconstruire l'homme et de lutter efficacement contre nombre de maladies aujourd'hui fatales.

- Plusieurs obstacles compliquent l'étude des cellules souches tissulaires adultes en l'état actuel de nos connaissances : leur rareté, l'absence de marqueurs connus permettant de les purifier, notre ignorance des conditions de leur multiplication et de leur capacité à intégrer et à exprimer des gènes dans une perspective de thérapie génique. C'est dans ce contexte de recherche fondamentale que l'utilisation de cellules embryonnaires revêt toute son importance.

VIII.DEBAT ETHIQUE :

1 .Les cellules souches adultes :

L'utilisation de cellules souches pour des intérêts thérapeutiques et médicales ne pose pas de problèmes éthiques ou juridiques. En revanche, le questionnement éthique, se focalise sur les principes qui doivent encadrer la collecte et la conservation du don de ces cellules.

Par ailleurs, l'utilisation hétérologue des cellules souches adultes signifie leur prélèvement sur une personne donneur, ainsi les questions éthiques qui se posent sont identiques à celles du don d'organes de corps humains. Elles visent surtout l'accord du donneur et le respect de son anonymat.

Pour le receveur, les cellules prélevées ne doivent présenter aucune menace sur sa vie. De plus, il y a les obstacles immunologiques concernant la compatibilité tissulaire entre le donneur et le récepteur.

2 .Les cellules souches embryonnaires :

2.1 .Les arguments en faveur d'un interdit absolu :

2.1.1. Le concept du continuum de la vie

Un courant de pensée inspiré de la doctrine officielle actuelle de l'Eglise catholique [108], considère que l'embryon humain est une personne dès la fécondation, que celui-ci résulte de la fusion de deux gamètes ou de tout autre procédé tel que le clonage. Le potentiel de l'embryon à déboucher sur la naissance d'un enfant est primordial. Le commandement essentiel : « tu ne tueras point » (Bible, Exode 20.1-17), s'applique aussi à l'embryon.

Cette position défend le concept de continuum de la vie, de la fécondation à la naissance. Elle s'appuie sur l'enseignement d'un certain nombre de biologistes de la reproduction qui considèrent que si le développement embryonnaire et foetal suit différents stades d'évolution, il serait totalement arbitraire d'en isoler des étapes plus importantes que d'autres. Dans cette perspective, il serait impossible d'identifier différentes catégories d'embryons auxquelles correspondraient des niveaux de protection particuliers.

Le concept de « projet parental » paraît spécieux dans la mesure où il subordonne la protection de l'embryon à la décision des parents favorables ou non à son implantation, l'humanité d'un être pouvant dépendre de la décision d'un autre être humain. La dignité est un principe intrinsèque de la vie.

Les autres religions monothéistes ne partagent pas les mêmes positions : Le judaïsme [109], établit une limite temporelle qui conditionne l'humanité de l'embryon. Ce n'est qu'à partir de quarante jours qu'il serait « animé » de la vie par Dieu*. Pour les musulmans [110], la vie de l'embryon, animée par Dieu, ne commencerait qu'avec l'apparition du bouton embryonnaire (les débats internes à l'islam situent l'animation entre 30 et 120 jours) Ces limites temporelles n'empêchent pas, qu'avant qu'elles ne soient atteintes, la vie biologique doit être respectée.

2.1.2 Protection de l'embryon par le principe de la dignité :

D'après certains, faire de l'embryon un matériel de recherche ou un produit à finalité thérapeutique revient à l'instrumentaliser et à porter atteinte à sa dignité. Ils parlent même d'une « nouvelle forme d'esclavagisme », l'embryon étant dépossédé de sa destination naturelle au profit de tiers.

Pour les partisans de cette tendance, il est vain de vouloir établir des stades dans le développement de l'embryon : il est considéré comme un continuum. La distinction de nature faite entre les embryons suivant l'intention qui accompagne leur création ou selon qu'ils ont été créés in vitro ou in vivo ne permet pas d'autoriser que l'on porte atteinte à leur intégrité. Ces arguments sont des artifices ou des échappatoires mis au service d'une pensée utilitariste qui rompt avec les fondements de la morale et du droit. L'embryon doit être considéré comme un être humain.

Pour Bertrand Mathieu, il ne peut revenir à un tiers (géniteurs, scientifiques ou législateur) de décider de la nature de l'embryon ou de la limite à partir de laquelle la dignité de l'embryon est atteinte.

Le droit au respect de la dignité est un droit objectif et absolu. Il ne supporte ni appréciation subjective ni dérogation. Le principe de dignité ne peut pas être raisonnablement mis en balance avec le principe de liberté de la recherche, avec le droit d'autrui à la protection de sa santé ou encore avec les intérêts collectifs. Aucune finalité, fût elle thérapeutique, ne peut légitimement suffire à justifier une dérogation au principe de dignité [111].

2.2 Les arguments en faveur d'une autorisation encadrée des recherches :

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

2.2.1 Le statut de l'embryon (avant et après implantation) :

Certains considèrent que le critère de l'implantation in utero d'embryons conçus in vitro est une étape essentielle et déterminante de leur devenir. In vitro, ces embryons ne sont que de simples « amas de cellules » au statut semblable à celui d'autres ensembles de cellules étudiés en laboratoire. In utero, établissant une relation fonctionnelle avec la mère, ils acquièrent un statut différent.

Pour Henri Atlan, on ne peut considérer autrement l'embryon à son commencement sans limiter l'homme à une définition strictement biologique et génétique, au détriment d'une conception plus humaniste. Il considère en effet que « l'implantation couronnée de succès dans l'utérus est nécessaire à la qualification d'embryon » [112], même s'il ne reconnaît pas le concept de continuum de la vie.

Les partisans de cette conception de l'embryon ne lui accordent pas de dignité intrinsèque. Au contraire, celle-ci lui est attribuée subjectivement, à travers l'existence d'un projet parental [113], d'où une *suma divisio* entre les embryons en faisant l'objet - conservés à fin d'implantation et implantés - et les autres. Seul l'embryon faisant l'objet d'un projet parental est protégé par le principe de dignité qui interdit toute recherche. En revanche, les embryons surnuméraires ne faisant plus l'objet d'un projet parental peuvent être étudiés et même détruits pour les besoins des recherches sur les cellules souches embryonnaires. Dans la perspective évoquée ici, ces embryons conservés in vitro ne sont pas dotés de dignité, ces manipulations ne sont donc pas perçues comme une transgression.

2.2.2 Embryologie et seuils de développement

Si de nombreux biologistes de la reproduction confortent l'idée d'un continuum par la difficulté à établir clairement différents stades de développement, les spécialistes de l'embryologie la remettent carrément en cause. Il existe pour eux, des stades successifs - du blastocyste* à la morula* - et des seuils cruciaux.

Pour certains, c'est l'apparition de la crête neurale – la conscience; pour d'autres, comme Michel Veckemans et Bernard Debré [114], c'est l'apparition du troisième feuillet embryonnaire - le mésoderme, au quatorzième jour - sans lequel un organisme complet est

impossible. Ces distinctions légitimeraient les recherches sur l'embryon et les cellules ES. Elles ne porteraient pas sur des embryons proprement dits mais sur une réalité antérieure qualifiée, notamment, de « pré-embryon ». La reconnaissance de tels stades de développement, conditionnant la définition même de l'embryon, ne revient pas à exclure l'embryon de toute protection.

2.2.3 L'embryon en droit, entre « chose » et « personne »

Pour un grand nombre de partisans de la recherche sur les cellules souches embryonnaires, si une humanité est reconnue à l'embryon, celui-ci ne peut pourtant pas être considéré en droit comme une personne. Ainsi l'embryon n'est ni personne, ni objet, on ne peut en conclure qu'il est dénué de tout statut juridique. Ce statut « hybride » est en quelque sorte défini en creux par l'addition de ce « ni, ni » : il n'est pas un objet, mais il n'est pas non plus une personne. Ce statut intermédiaire permet de le protéger et de lui accorder un droit approprié à son état, tout en ne fermant pas la porte à la recherche scientifique dès lors que d'autres justifications interviennent.

2.2.4 La recherche fait-elle prospérer l'humanité de l'embryon?

Dénués de tout projet parental, les embryons surnuméraires* sont détruits. La possibilité de se prêter à une recherche biomédicale pourrait redonner un sens à leur destruction. Participant à un projet au bénéfice d'autrui et de la collectivité, l'embryon serait renforcé dans sa dimension humaine. Dans cette perspective, le sort de l'embryon pourrait être comparé à celui du donneur d'organe [115], Une telle approche rendrait compatible la dignité de l'embryon et sa participation à un projet de recherche.

2.2.5 La production de connaissances fondamentales est essentielle

Le développement embryonnaire et les mécanismes de différenciation cellulaire sont des processus complexes. Au stade du développement embryonnaire, des maladies ou des malformations peuvent apparaître dont la connaissance est essentielle pour prévenir les

fausses couches et les pathologies affectant l'embryon. La recherche sur l'embryon et les cellules souches embryonnaires permettrait d'accroître nos connaissances dans de nombreux domaines. Pour certains, comme Didier Sicard [116], il peut paraître plus légitime de réaliser des recherches sur l'embryon et les cellules souches embryonnaires pour produire des connaissances fondamentales plutôt que pour en retirer un bénéfice thérapeutique. La poursuite de buts thérapeutiques au bénéfice de la collectivité est une position utilitariste. L'idée d'instrumentalisation pourrait être encore renforcée par le souhait de développements industriels et de bénéfices commerciaux. Dans cette perspective, la production de connaissances serait une destinée plus noble et plus réaliste pour les embryons.

2.2.6 Les recherches au bénéfice de l'embryon

Si certaines recherches peuvent participer à son instrumentalisation, l'embryon peut aussi être pris comme un objet d'étude pour lui-même. Deux situations en sont l'illustration :

- Lorsque l'embryon n'est pas viable, il importe d'en connaître les causes et d'accroître ainsi les connaissances sur les malformations embryonnaires. Pour Arnold Munnich [117], c'est la meilleure hypothèse pour légitimer des recherches induisant la destruction de l'embryon.

- Les embryons surnuméraires ne faisant plus l'objet d'un projet parental sont détruits. S'ils pouvaient faire l'objet de recherche et participer ainsi à la production de connaissances sur l'embryogenèse, leur dignité n'en serait pas atteinte. Avec un consentement « représenté », l'embryon pourrait se prêter à la recherche avant sa destruction selon une transposition des principes généraux appliqués à la recherche biomédicale.

3 Le clonage thérapeutique : faut-il l'autoriser ?

Le clonage thérapeutique (**Figure 37**), désigne le transfert d'un noyau d'une cellule somatique dans un ovule énucléé afin de former un embryon, ce dernier ne sera pas implanté car l'intérêt de ce type de clonage est d'obtenir des lignées de cellules souches embryonnaires, cette opération aboutit à la destruction de l'embryon. Ces cellules souches constituent un matériau de recherche pour développer les connaissances sur les mécanismes de différenciation, de l'embryogenèse et de la génétique.

A l'opposé du clonage reproductif qui est interdit par la majorité des pays du monde, le clonage thérapeutique reste un sujet polémique, certains le considèrent similaire au précédent puisque les deux types de clonage procèdent de la même façon, et atteignent à la dignité de l'espèce humaine.

Certains pays interdisent le clonage thérapeutique car il permettrait de connaître les techniques et le savoir faire nécessaire au clonage reproductif.

Pour faire réussir le transfert nucléaire, l'utilisation d'un grand nombre de d'ovocyte est nécessaire, ce qui instrumentalise la femme réduite à une donneuse d'ovocytes. Donc le risque envisagé est celui de la marchandisation d'ovocytes, notamment par les femmes en situation économiques difficile.

Par contre, l'argument des partisans se base sur le fait que le transfert nucléaire est très important pour l'acquisition des connaissances sur l'embryogenèse et certaines pathologies, ainsi que pour améliorer des performances attendues des cellules souches adultes [118].

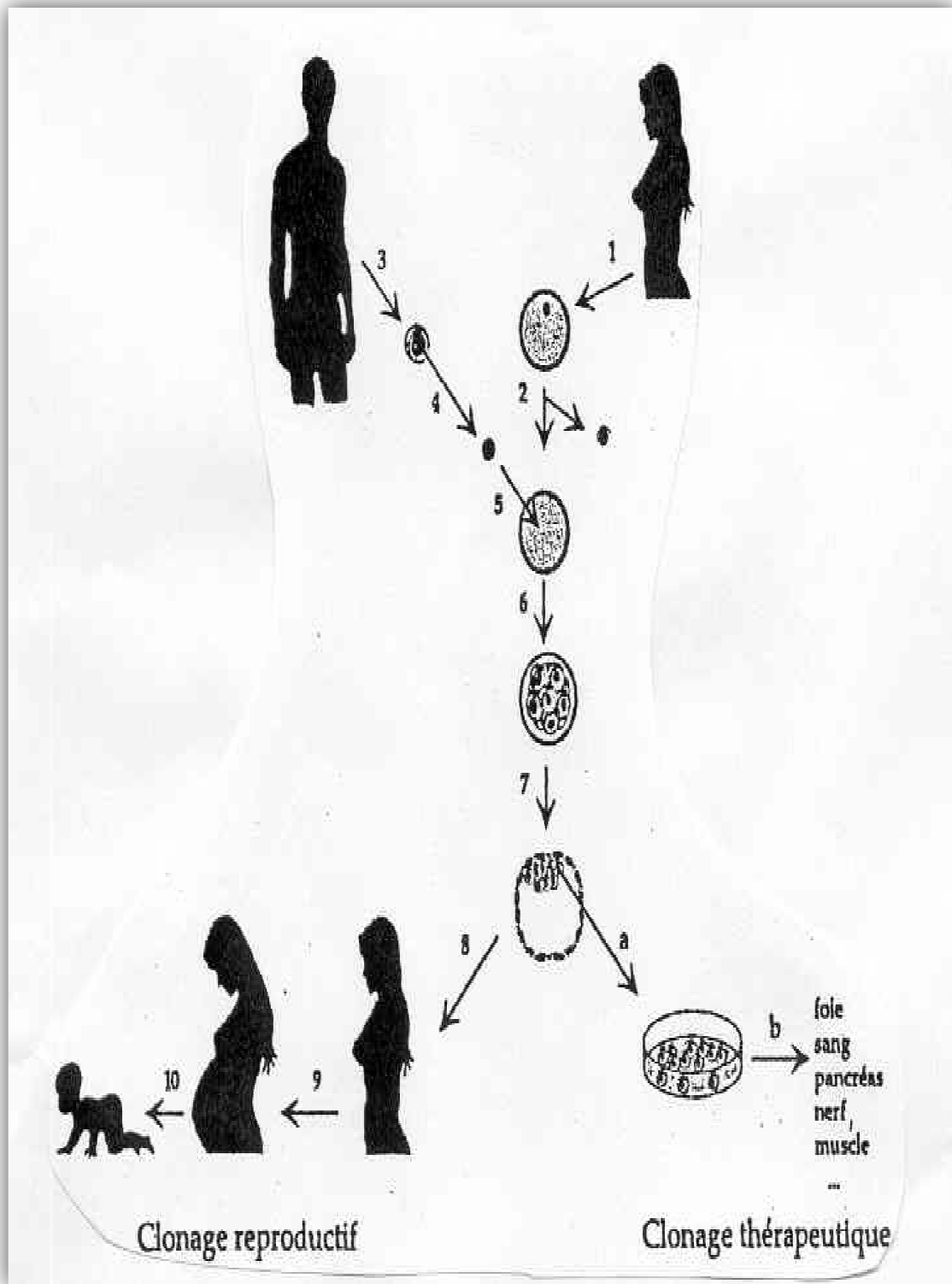


Figure 21: Schéma montrant le clonage thérapeutique et le clonage reproductif. (119)

IX LEGISLATIONS INTERNATIONALES ET CONTEXTE RELIGIEUX

1. Législations internationales [120].

La carte des recherches sur les cellules souches distingue trois catégories de pays en fonction de la position qu'ils adoptent en matière de recherche sur les cellules souches humaines. Selon les pays, la politique de recherche qu'ils adoptent peut être permissive comme en Australie, Belgique, Chine, Espagne, Inde, Israël, Japon, Royaume-Uni, Russie, Suède et Taiwan. Elle peut être flexible tel est le cas du Brésil, du Canada, de la France, de l'Afrique du sud, des Pays-Bas, des Etats-Unis depuis la présidence d'Obama, de la Norvège et de la Suisse.

Une politique restrictive est menée en Allemagne, en Autriche, en Irlande, en Italie et en Pologne.

Dans la quasi totalité des pays, la recherche sur les CSEh est réglementée.

1.1.Cadre juridique permissif

- la chine :

La législation procède du ministère des sciences et de la technologie (MOST). L'usage de cellules souches embryonnaires pour toute forme de clonage humain est interdit, mais le clonage à visée thérapeutique n'est pas réglementé. Les conditions dans lesquelles sont obtenues les lignées de cellules souches sont définies. Toute forme de commerce pour l'obtention de ces cellules est interdit et la mise en place de comités d'éthique y compris au niveau local est recommandée.

-Corée de sud :

En mars 2004, une équipe coréenne dirigée par le Pr. Hwang Woo Suk, de l'Université nationale de Séoul, annonçait avoir produit la première lignée de cellules souches embryonnaires humaines issues d'un embryon obtenu par clonage. Cette percée majeure qui s'avéra ensuite être la supercherie qui conduisit au scandale retentissant que l'on connaît,

poussa alors le gouvernement coréen à promulguer en 2005 « la loi sur la sécurité et la bioéthique ». Après le soulèvement de l'opinion publique et les cris d'alarme de certains experts, la loi de 2005 s'est voulue très restrictive, avec une totale interdiction de toute création d'embryons à d'autres fins que la procréation. Les recherches sur les cellules souches embryonnaires n'étaient autorisées que sur des lignées de cellules existantes et la création de nouvelles lignées était interdite.

La loi de 2005 a été révisée en 2008 notamment sur les conditions du don d'ovocytes, la réglementation sur l'utilisation des cellules souches et l'interdiction du clonage inter-espèces. La version initiale de la loi sur la sécurité et la bioéthique a permis de mettre en place deux niveaux décisionnels en terme d'autorisation de pratiques : d'une part, les Institutional Review Boards, des conseils de bioéthique internes aux Instituts de recherche et aux hôpitaux, chargés d'étudier la faisabilité des projets de recherche et de définir les conditions de l'utilisation des produits de la recherche en milieu hospitalier, et d'autre part, le National Bioethics Council, un comité national d'évaluation, chargé d'examiner tous les projets de recherche ayant recours au clonage ou à des manipulations d'embryons humains. Chaque projet de recherche est donc soumis à autorisation du ministère de la santé.

Dans la nouvelle loi de 2008, le législateur identifie spécifiquement 18 maladies pour lesquelles des recherches sur les cellules souches embryonnaires sont autorisées. Les expériences de clonage demeurent strictement interdites puisque toute création d'embryons à des fins de recherche est bannie.

Néanmoins, une demande d'autorisation exceptionnelle a été déposée en mars 2009 par l'hôpital Cha de Séoul auprès du National Bioethics Council. Le comité ayant dans un premier temps réclamé un complément d'information a finalement autorisé les expérimentations, levant ainsi de facto l'interdiction des recherches sur les cellules souches embryonnaires décrétée en réponse au scandale de l'affaire Hwang.

Avec cet assouplissement, le gouvernement coréen permet à ses scientifiques d'engager des expériences jusqu'alors explicitement interdites. Il est désormais à nouveau possible de créer des lignées de cellules souches embryonnaires, mais à partir de dons d'embryons surnuméraires provenant de fécondations in vitro à des fins d'assistance médicale à la procréation.

Les recherches sur les cellules souches adultes ne sont quant à elles pas soumises à des contraintes juridiques spécifiques. Les cellules souches adultes sont considérées comme tout autre type cellulaire humain. Comme pour tout autre produit d'origine humaine les tests cliniques doivent être approuvés au préalable par la KFDA (Korea Food and Drug Administration). Ces assouplissements successifs sont révélateurs de la volonté de la Corée de maîtriser les biotechnologies tout en encadrant tout risque de polémique par des conseils spécialisés.

-Espagne

La loi espagnole du 3 juillet 2007 régit la recherche biomédicale, le statut et l'usage des embryons notamment dans le clonage thérapeutique, les garanties d'éthique et de sécurité pour les citoyens. Les acteurs impliqués dans l'application de cette loi sont le ministère de la santé comme garant du système, l'Institut de santé Carlos III comme acteur fondamental dans la réalisation, la coordination et le financement de la recherche biomédicale, et enfin les Communautés Autonomes qui peuvent établir leurs propres plans de recherche biomédicale. L'Institut de santé Carlos III de Madrid est un organisme public de recherche et d'appui scientifique qui a pour objectif de favoriser la recherche en biomédecine et en sciences de la santé. Il développe et offre des services scientifiques et techniques en faveur du système national de santé et de l'ensemble de la société.

La loi espagnole a défini le préembryon comme un embryon produit in vitro et formé par un groupe de cellules résultant de la division progressive de l'ovocyte depuis sa fécondation jusqu'au 14ème jour. Les embryons humains qui ont perdu leur capacité de développement biologique, ainsi que les embryons ou fœtus humains morts, pourront avec le consentement des donneurs, être mis à disposition de la recherche médicale. En revanche, lors d'une interruption de grossesse, il est interdit à l'équipe médicale d'utiliser l'embryon ou le fœtus avorté.

Le don d'ovocyte est permis dans le cadre de la reproduction assistée. La recherche ou l'expérimentation avec des ovocytes et des préembryons surnuméraires provenant de la reproduction assistée est encadrée. Les travaux de recherche utilisant des ovocytes ou des préembryons devront s'inscrire dans un projet approuvé au préalable par la commission de

garanties pour le don et l'utilisation de cellules et de tissus humains, puis autorisé par les autorités, locales ou régionales. Il est strictement interdit de maintenir en développement in vitro des préembryons au-delà du seuil limite de quatorze jours après la fécondation de l'ovocyte.

L'utilisation de n'importe quelle technique d'obtention de cellules souches embryonnaires humaines à des fins thérapeutiques ou de recherche est autorisée, y compris l'activation de l'ovocyte par transfert nucléaire. En revanche, la création de préembryons ou d'embryons destinés spécifiquement à la recherche est strictement interdite.

Trois organismes collégiaux ont été créés par la loi de 2007 pour encadrer la recherche. Il s'agit du Comité d'éthique de recherche, de la Commission de garanties pour le don et l'utilisation de cellules et de tissus humains, et du Comité de bioéthique d'Espagne. Ces organismes examinent les aspects méthodologiques, éthiques et légaux des projets de recherche ainsi que le bilan risques/bénéfices. Ils assurent la traçabilité des échantillons biologiques d'origine humaine et la protection des données de caractère personnel. Ils édictent un code des bonnes pratiques pour gérer les conflits.

- Inde

Le Department of Biotechnology et l'Indian Council of Medical Research (ICMR) ont publié un guide des bonnes pratiques concernant la recherche et le stockage de sang du cordon ombilical en 2007 et annoncé la mise en place d'un organisme chargé du contrôle et de l'analyse des recherches, technologies, techniques et pratiques cliniques dans le domaine des cellules souches : National Apex Committee for Stem Cell Research and Therapy (NAC-SCRT) qui sera chargé d'établir un registre de l'ensemble des expériences et des tests réalisés dans ce domaine. Une fois cet organisme mis en place, l'ensemble des structures liées à la recherche ou à l'utilisation de cellules souches devront y être répertoriées de façon systématique.

- Israël

Il n'existe pas une loi générale de bioéthique mais une série de lois couvrant des domaines circonscrits. Paradoxalement, les fondements culturels et religieux de ces lois les rendent permissives dans le domaine de la recherche sur les cellules souches. Le professeur Michel Revel rappelait que la tradition juive autorisait le recours à la science avec beaucoup de souplesse lorsque les découvertes permettaient de sauver des vies humaines. En effet, en Israël, le problème du statut de l'embryon ne se pose pas. Dans la religion juive, l'embryon est considéré comme une personne qu'à partir du 40ème jour de son développement après implantation dans l'utérus. Un Conseil national de bioéthique donne des avis au Gouvernement sur tous les sujets relatifs à la bioéthique, non encore couverts par la législation ou nécessitant un nouvel examen législatif. Il peut s'autosaisir, émettre des recommandations à la demande de ministres, de commissions de la Knesset ou de différentes agences gouvernementales et organismes scientifiques.

-Japon

En 2001, le ministère japonais de l'Education, de la Culture, des Sports, des Sciences et de la Technologie (MEXT) avait adopté une réglementation régissant l'utilisation des cellules souches embryonnaires qui, trop rigide, a été révisée en 2009. Désormais, l'utilisation de cellules souches embryonnaires obtenues par la technique de transfert nucléaire de cellule somatique pour certaines recherches est explicitement autorisée. L'importation de cellules embryonnaires humaines est possible, à condition que les méthodes utilisées pour les produire respectent des critères équivalents aux critères japonais définis par le MEXT. L'approbation de l'utilisation de cellules embryonnaires n'incombe plus qu'au seul comité d'éthique de l'organisme. Le directeur de l'établissement de recherche notifie au MEXT l'approbation du plan de recherche ou d'éventuels amendements. Le ministère peut demander des compléments ou une enquête s'il les juge nécessaire. En revanche, les protocoles de dérivation de cellules souches restent soumis à la procédure de double approbation de la part à la fois du MEXT et du comité d'éthique. La réglementation a été amendée en mai 2010 pour autoriser la

production de cellules germinales (à des fins de recherche sur ce type de cellules) à partir de cellules embryonnaires humaines, ce qui était jusqu'alors interdit.

-Royaume-Uni

Dans les années 1980, le comité Warnock a établi des principes majeurs : l'embryon, à l'extérieur du corps humain, doit bénéficier d'une protection légale ; les donneurs doivent être conseillés et éclairés avant de donner leur autorisation ; le bien-être de l'enfant doit être pris en compte, de même que son droit à l'accès à certaines informations relatives à ses parents génétiques, l'utilisation de l'embryon *in vitro* à des fins de recherche doit être limitée à 14 jours.

La *Human Fertilisation Embryology Authority* (HFEA) est la pierre angulaire du cadre législatif. Elle reçoit des subsides des cliniques et d'autres organisations médicales. Les décisions prises, notamment en matière d'autorisations individuelles, n'impliquent ni ministre, ni personnes extérieures.

La loi limite à quatorze jours la période pendant laquelle il est possible de travailler sur l'embryon car ce moment est celui de l'apparition de la « *primitive streak* », la « ligne primitive », où un individu est créé. Auparavant, la division des cellules peut aboutir à plusieurs individus. À partir de l'apparition de la « *primitive streak* », la recherche est interdite.

-Russie

En Russie, la recherche scientifique sur les cellules souches est encadrée par un décret de 2003 « *sur le développement des technologies cellulaires en Fédération de Russie* ». Ce décret fixe les conditions d'utilisation de cellules souches obtenues uniquement par prélèvement sanguin placentaire ombilical, aux seules fins de recherche. Il précise également les conditions de création de la banque de cellules souches, placée sous le contrôle du ministère de la Santé, qui est censée constituer en principe la seule source autorisée en Russie à fournir des cellules souches. Cette banque se trouve actuellement au centre cryogénique de l'Institut national de recherche en accouchement et gynécologie.

Il existe également une « Instruction ministérielle sur les recherches en technologies cellulaires et leur utilisation » spécifiant entre autres que toute réception ou utilisation de cellules souches doit être soumise à l'autorisation du ministère de la Santé et placée sous le contrôle des comités d'éthique.

-Suède

En matière de bioéthique, la Suède possède un dispositif réputé libéral. Les recherches effectuées dans les domaines les plus sensibles, notamment sur l'embryon, font l'objet de procédures poussées de validation et de contrôle en amont, par le Conseil national de la recherche, le Comité central d'examen éthique et le Conseil national d'éthique médicale. Le gouvernement suédois a opté pour un régime permissif, c'est-à-dire un régime d'autorisation avec encadrement par une autorité et des comités d'éthique.

1.2 Cadre juridique flexible

- Brésil

L'utilisation et la recherche sur cellules souches est encadrée par la loi sur la biosécurité du 24 mars 2005 qui autorise, « *à des fins de recherche et de thérapie, l'utilisation de cellules souches embryonnaires obtenues à partir d'embryons humains produits par fécondation in vitro* », sous certaines conditions. Ces conditions sont cumulatives : les embryons doivent être nonviables ou congelés depuis au moins trois ans, les cliniques et les hôpitaux doivent tenir un registre de tous les embryons disponibles avec leur date de congélation, les géniteurs doivent donner leur accord.

- Canada

Le cadre juridique est évolutif à travers des lignes directrices. Des organismes de cadrage qui existent au sein même des instituts de recherche en santé du Canada, ont publié des lignes directrices concernant les recherches sur des sujets humains. Ces lignes directrices ont été mises à jour régulièrement depuis 2005. Les établissements de recherche se doivent de créer des comités d'éthique pour la recherche, chargés d'évaluer et d'approuver toute

recherche menée sur des êtres humains ou sur des tissus ou substances biologiques humains. Ils sont soutenus par le conseil national d'éthique en recherche chez l'humain et le Collège royal des médecins et chirurgiens du Canada.

-États-Unis

Il n'existe pas de lois fédérales encadrant la recherche sur les cellules souches, donc légalement tout est permis au niveau fédéral. Ce sont les États, individuellement, qui encadrent d'un point de vue légal ce type de recherches. En revanche, les financements fédéraux sont soumis à la loi fédérale.

Le 9 mars 2009, le Président Obama a levé les restrictions bloquant la recherche sur les cellules souches embryonnaires et réouvert la possibilité de financement de ces recherches par le « *National Institutes of Health* » (NIH) et les autres Agences fédérales.

En juillet 2009, les « *NIH Guidelines on Human Stem Cell Research* » ont été publiées. Ces lignes directrices visent à définir un cadre éthique commun pour faciliter les pratiques de recherche en l'absence de standards fédéraux. Elles déterminent les règles éthiques et juridiques qui entourent l'utilisation des CSEh pour des travaux de recherche financés par des fonds publics.

1.3 Cadre juridique restrictif

-Allemagne

Le 28 juin 2002, l'Allemagne s'est dotée d'une loi sur les cellules souches modifiée le 11 avril 2008 par le Bundestag, qui s'est prononcé en faveur d'un relatif assouplissement. La loi de 2002 stipulait que seules les cellules souches embryonnaires obtenues en dehors du territoire allemand avant le 1er janvier 2002 pouvaient être importées et utilisées dans le cadre d'activités de recherche. Cette date butoir (ou date de référence) a été reportée au 1er mai 2007.

La loi sur les cellules souches interdit l'importation de cellules souches embryonnaires humaines mais les autorise exceptionnellement à des fins de recherche et sous certaines conditions. Au préalable, une autorisation doit être délivrée par l'administration compétente, à

savoir l'Institut Robert Koch (RKI). Les chercheurs qui pratiqueraient des recherches sur des cellules souches sans avoir obtenu au préalable cette autorisation s'exposent à des sanctions pénales.

Une nouvelle version de la loi en 2008 exclut explicitement qu'un chercheur allemand soit poursuivi au titre de la loi sur les cellules souches pour avoir participé à un projet portant sur des cellules souches localisées à l'étranger. En revanche, les sanctions pénales induites par la loi sur la protection de l'embryon en cas de participation à des projets de recherche étrangers entraînant la destruction d'embryons pour la production de cellules souches, restent inchangées.

-Pologne

En Pologne, il n'y a pas de loi spécifique sur la bioéthique ou les cellules souches. La loi du 7 janvier 1993, dispose que la vie de l'enfant à naître doit être respectée et protégée dès la conception. La constitution de 1997 contient deux articles relatifs à la protection juridique de la vie et à l'interdiction, sans libre consentement, de l'expérience scientifique et médicale (art. 39), limitant ainsi la marge de manoeuvre du législateur.

À la demande du gouvernement en 2006, des experts de l'Académie polonaise des sciences avaient produit un rapport proposant de conserver la législation en vigueur et de créer un Comité national de bioéthique pouvant se saisir de cette question.

Une « commission sur la convention de bioéthique » a été créée en avril 2008. Elle devait formuler des propositions au Gouvernement concernant la recherche sur les cellules souches embryonnaires et le clonage thérapeutique, actuellement interdits par la législation.

Les travaux de cette commission, qui devait également formuler des propositions législatives sur la fécondation in vitro, se sont interrompus au deuxième semestre 2009.

REMARQUE : à l'échelle nationale, il y a pas de législation spécifique quant à la recherche sur les cellules souches.

Tableau 1 : Les pays qui autorisent et qui interdisent la recherche sur les cellules souches.

| Les pays | autorisation | interdiction | Intermédiaire |
|-------------|--------------------------------------|---|--|
| En Europe | Royaume uni, Belgique, suède | Italie, Allemagne, Autriche, Pologne, Norvège | France, Danemark, Grèce, Finlande, Estonie, Lettonie, Slovénie, Suisse |
| En Amérique | Canada, les états unis | Les pays de l'Amérique latine sauf le Brésil | Brésil |
| En Asie | Japon, coré de sud, Singapour chine, | _____ | _____ |
| En Océanie | _____ | _____ | _____ |

2 Contexte religieux

Les points de vue des religions (islam, judaïsme, catholicisme, bouddhisme) sont diversifiés quant à la recherche sur les cellules souches :

2.1 Islam

L'islam considère que la vie est un don de Dieu et que nous sommes chargés de l'entretenir et de ne pas lui porter atteinte.

Les juristes musulmans ont par ailleurs introduit des textes qui complètent le Coran (texte saint) et le Hadith (tradition selon les paroles du Prophète Mohammed), afin d'éliminer toute solution figée et d'autoriser au croyant une position évolutive face aux nouvelles questions liées aux biotechnologies.

Le musulman doit cependant lui-même faire face à ses responsabilités et prendre ses propres décisions. L'attitude du musulman reste donc délicate, vis à vis des questions bioéthiques.

Les savants musulmans disent que si les cellules souches sont prélevées sur des embryons humains directement dans le ventre de leurs mères, ce qui conduit à la mort de l'embryon, cette technique est interdite du point de vue islamique. Elle est tolérée s'il s'agit d'un avortement spontané (non provoqué) ou d'un avortement provoqué pour sauver la vie de la mère si l'on a la certitude que l'embryon ne peut être sauvé.

Pour les embryons issus d'une FIV (fécondation in vitro) et plus généralement d'une PMA (procréation médicalement assistée), les avis des savants se divergent. Certains estiment que les embryons surnuméraires ne doivent pas être touchés et se laissent à leur sort. D'autres voient que si l'islam permet pour la mère « tronc », en cas d'extrême nécessité, de perdre l'enfant « branche », il vaudrait mieux sacrifier des « branches », ici des embryons surnuméraires, pour permettre à des « troncs », des milliers de malades, de guérir. [121,122]

2.2 Catholicisme

Selon les textes bibliques, la vie est un don de Dieu sacré et inviolable. Le Pape a constamment confirmé le respect de la vie naissante, dès sa conception. Puisque l'être humain (en devenir et non achevé) existe dès la fécondation, l'embryon est considéré comme un individu à part entière qui a droit à sa propre vie. Par conséquent, l'Eglise catholique accorde une valeur prépondérante à la dignité de la personne humaine dans son unité corps et esprit. Chaque embryon doit donc avoir la possibilité de se développer pour parvenir à terme. Cela implique qu'il est nécessaire de soumettre à un strict contrôle la fécondation des ovules in vitro, et qu'il n'est pas permis d'utiliser des embryons surnuméraires à des fins thérapeutiques. L'embryon serait alors assimilé à un pur matériau de recherche. [123,124]

2.3 Judaïsme

En judaïsme ; le corps et l'esprit forment un tout inséparable. Le respect de la vie est donc sacré et absolu. La vie humaine a une valeur infinie, car elle est un don de Dieu et car l'homme est justement fait à l'image de Dieu. La Bible et le Talmud déterminent néanmoins que le statut entier d'être humain n'existe pas au moment de la fécondation. Il ne s'acquiert uniquement qu'au quarantième jour de la grossesse. Le fœtus ne peut donc pas être considéré en tant qu'être vivant à part entière. S'il ne reçoit pas son potentiel de vie grâce à

l'implantation et à la grossesse, un embryon, hors de l'utérus, n'a pas de statut juridique. Par conséquent, cette religion ne condamne pas systématiquement le recours au clonage thérapeutique, pour autant qu'il ait un caractère bénéfique et qu'il soit envisagé sous un contrôle strict. Un embryon conservé *in vitro* sans perspective d'implantation pourrait donc être donné et utilisé pour la recherche à des fins thérapeutiques. Cette utilisation serait conforme à l'obligation qui prime dans le Judaïsme : sauver une vie. [123,124]

2.4 Bouddhisme

L'existence humaine prend une valeur particulière dans la pensée bouddhique : elle permet à l'homme, à la suite de l'expérience du Bouddha, *l'éveillé*, de reconnaître la souffrance pour s'en affranchir. L'individu est constamment renvoyé à sa propre responsabilité à partir des grands principes du Bouddha. C'est à chacun de choisir, de se déterminer, sans notion d'interdits ou de commandements, étrangers à la pensée bouddhique.

Le principe fondamental – d'où découlent les avis sur l'embryon – est celui de la suprême sainteté de la vie humaine et de toute forme d'existence en général. La suprême sainteté de la vie humaine a priorité sur toute autre considération. Pour les bouddhistes en effet, la vie humaine est extrêmement difficile à acquérir ; or, elle seule permet d'obtenir la délivrance du cycle existentiel des réincarnations successives.

Selon un des canons bouddhiques, *Yogācārabhūmi-śāstra*, quand le spermatozoïde du père et l'ovule de la mère fusionnent, *l'ālaya-vijñāna* (sujet de la réincarnation, origine de toutes vies) y entre. À ce moment-là, l'ovule fécondé (racine du corps) possède *l'ālaya-vijñāna* (racine de vie) et une vie humaine commence. De l'ovule fécondé jusqu'au dernier moment avant la naissance, c'est le stade de fœtus ; après la naissance, le bébé sort du corps de sa mère, c'est un enfant. Bien que l'ovule fécondé n'ait pas une forme humaine, il a toutes les conditions pour grandir et prendre forme humaine, c'est-à-dire les quatre éléments du corps (en cours de développement) : la terre, l'eau, le feu, le vent et *l'ālaya-vijñāna* (la vie). C'est pourquoi il doit être considéré comme un être humain.

Ainsi pour le bouddhisme, tuer est la première action négative. L'avortement correspond à une suppression de vie, à n'importe quel stade que ce soit. Un embryon *in vitro* est un germe de vie et doit être protégé comme une personne humaine. Cependant, le

caractère négatif d'un acte est considérablement diminué s'il est motivé par la compassion [125].

IX-CONCLUSION & PERSPECTIVES :

Les cellules souches permettent d'étudier *in vitro* et au niveau moléculaire les mécanismes impliqués dans le développement normal ou pathologique des différents tissus à des stades embryonnaires précoces.

La capacité de différenciation des cellules souches font d'elles un vivier cellulaire pour des intérêts thérapeutiques ou fondamentaux. Pourtant la recherche sur ces cellules surtout embryonnaires soulève des problèmes d'ordre éthique et juridique.

Les cellules souches reprogrammées peuvent constituer un domaine de recherche qui offre des perspectives importantes :

- dans le domaine de la connaissance des mécanismes moléculaires, dans le dysfonctionnement d'ordre génétique provoquant des pathologies.

- dans le domaine de la thérapie cellulaire.

- Cette reprogrammation permettra de surmonter le problème du clonage thérapeutique.

On pense que l'utilisation des cellules CSE à des fins de recherche doit être permise, car elle ne s'oppose pas à l'éthique dans la mesure où elle s'effectue sur des embryons surnuméraires sans projet parental et pour lesquels les parents ont donné leur accord. Ces recherches vont déboucher sans aucun doute sur des avancées médicales conséquentes et déjà porteuses d'espoir vu les résultats actuels des équipes de recherche. En ce qui concerne le transfert de noyau de cellules somatiques de patient traité dans des cellules CSE énuclée pour éviter les rejets de futures greffes de tissus dérivés de CSE, on pense qu'il est concevable mais en dernier ressort. Si les autres techniques (comme la reprogrammation des cellules souches adultes) ne donnent pas de résultat, cette technique peut être envisagée.



RESUMES



RESUME

Titre : Les cellules souches : entre applications et débat éthique

Auteur : ERRAZAKALLAH Elmamoun

Mots clés : cellules souches, thérapie cellulaire, applications pharmaceutiques, débat éthique

Résumé :

Les cellules souches et leurs différentes applications thérapeutiques constituent à l'heure actuelle, l'un des sujets les plus complexes des sciences de la vie. Elles sont capables de s'autorenouveler, de proliférer, et de se différencier en d'autres types de cellules. Ces capacités leur permettent de guérir les maladies dites « incurables » comme différents types de cancer, les maladies neurodegeneratives, etc.

L'utilisation des cellules souches pour des fins thérapeutiques ou d'autres nécessite de définir avec précision les conditions expérimentales, de vérifier leur intégration au sein des tissus endommagés et de s'assurer de l'absence de potentiel tumorigène.

La manipulation de ces cellules chez l'homme soulève des questions éthiques et juridiques car elle touche à la dignité de la personne humaine, et l'expose à la commercialisation et l'instrumentalisation vue la concurrence dans la recherche. Dans ce contexte une harmonisation des lois internationales demeure nécessaire.

ABSTRACT

Title: stem cells : between applications and ethical debate

Author: ERRAZAKALLAH Elmamoun

Tags: stem cells, cell therapy, pharmaceutical applications, ethical debate

Abstract:

Stem cells and their therapeutic applications are now one of the most complex concerns in life sciences. They are able to self-renew, to proliferate and differentiate into other cell types. These capabilities allow them to cure diseases called "incurable" as different types of cancer, neurodegenerative diseases...

The use of stem cells for different purposes needs to define precisely the experimental conditions, check their integration within the damaged tissue and to ensure the absence of tumorigenic potential.

Finally, the manipulation of these cells in humans raises ethical and legal issues because it affects the dignity of the human person, and is exposed to the marketing and exploitation to competition in research. In this context, harmonization of international law is still needed.

ملخص

العنوان: الخلايا الجذعية: بين التطبيقات و النقاش الأخلاقي

الكاتب: الرزاق الله المامون

الكلمات المفاتيح: الخلايا الجذعية , العلاج الخلوي , التطبيقات الصيدلانية ,
النقاش الأخلاقي

تعتبر الخلايا الجذعية وتطبيقاتها العلاجية في الوقت الراهن ، واحدة من علوم الحياة الأكثر تعقيدا. هذه الخلايا قادرة على التجديد الذاتي، التكاثر ثم التفرق إلى أنواع أخرى من الخلايا. هذه القدرات تسمح لها بعلاج أمراض تعتبر "غير قابلة للشفاء" كأنواع مختلفة من السرطان، وأمراض الأعصاب و غيرها.

استخدام الخلايا الجذعية لأغراض علاجية أو احتياجات أخرى يتطلب تحديد الظروف التجريبية الدقيقة لاستعمالها، و التحقق من اندماجها داخل الأنسجة التالفة، وضمان عدم وجود إمكانية تكون الأورام.

وأخيرا، فإن استخدام هذه الخلايا لدى البشر يثير قضايا أخلاقية وقانونية لأنه يمس كرامة الشخص البشري، وتعرضه للتسويق والاستغلال للمنافسة في مجال البحث، وفي هذا السياق، فإنه يصبح من الضروري التنسيق بين التشريعات الدولية.



BIBLIOGRAPHIE



- [1] Lawrence S.B. Goldstein, Meg Schneider. (2010), *Stem Cells for Dummies*. Indianapolis, Indiana. P: 45-47.
- [2] Saul J. Sharkis. (2005), *Cell. Canada*. Volume 122, P: 817-819.
- [3] Friedenstein AJ, Chailakhyan RK, Latsinik NV, *et al.* (1974), Stromal cells responsible for transferring the microenvironment of the hematopoietic tissues: Cloning *in vitro* and retransplantation *in vivo*. Volume 17, P: 331-340.
- [4] Eaves CJ, Cashman JD, Sutherland HJ, *et al.* (1991), Molecular analysis of primitive hematopoietic cell proliferation control mechanism *Ann. New York Acad. Sci.* Volume 628, P:298-306.
- [5] Bonnet D, Dick JE. (1997), Human acute myeloid leukemia is organized as a hierarchy that originates from a primitive hematopoietic cell. *Nat. Med.* Volume 3, P: 730.
- [6] C.-R.-R. Bjornson, R.-L. Rietze, Br.-A. Reynolds, M.-Cr. Magli, A.-L. Vescovi. (1999), Turning Brain into Blood: A Hematopoietic Fate Adopted by Adult Neural Stem Cells in Vivo. *Science*. Volume 283, P: 534-537.
- [7] K.-A. Jackson, T. Mi, M.A. (1999), Goodell, Hematopoietic potential of stem cells isolated from murine skeletal muscle, *Proc. Nat. Acad. Sci.* Volume 96, P: 14482-14486.
- [8] D.-L. Clarke, Cl.-B. Johansson, J. Wilbertz *et al.* (2000), Generalized Potential of Adult Neural Stem Cells. *Science*. Volume 288, P: 1660-1663.
- [9] UCLA School of Medicine, disponible sur: <http://medsch.ucla.edu/>
- [10] D.-S. Krause *et al.* (2001), Multi-Organ, Multi-Lineage Engraftment by a Single Bone Marrow-Derived Stem Cell. *Cell*. Volume 105, P: 369-377.
- [11] J. Adamowicz, M. Pokrywczynska, T. Drewa. (2013), Conditioned medium derived from mesenchymal stem cells culture as a intravesical therapy for cystitis interstitials, *Medical Hypotheses*, volume 82, P : 670–673.

- [12] Brewis IA., Moore HD. (1997), Molecular mechanisms of gamete recognition and fusion at fertilization. Hum reprod. ; 12 (Sup 11) : 156-65
- [13]samir Hamamach Glie Saliba. (2004), Médecine et biologie de reproduction . gynécologie obstétrique.
- [14] Edwards RG. and Hansis C.(2005), Initial differnciation of blastomeres in 4-cell human embryos and its significance for early embryogenesis and implantation. Reprod Biomed Online, 11 (2): 206-18
- [15]June. (2001), Stem Cells: Scientific Progress and Future Research Directions. Department of Health and Human Services. <http://stemcells.nih.gov/info/scireport>.
- [16] Keller R.(2005), Cell migration during gastrulation. Cell Biol, 17(5): 533-41
- [17]Vogel G. (2005), Embryology. Embryologists polarized over early cell fate determination. Science, 308(5723): 782-3
- [18]Edgar D. et al(2004). Topography, stem cell behaviour, and organogenesis. Pediatr. Surg. Int.; 20(10): 737-40
- [19]<http://www.cellrtherapeutics.com/>
- [20]embryology.med.unsw.edu.au
- [21] www.astrosurf.com/luxorion/bio-genome-genetique.
- [22] Jacob F. Le monde des cellules souches. C. R. Biologies. 2002 ; 325 : 999–1002.
- [23] rapport 10-12 Cellules souches et perspectives thérapeutiques Bull. Acad. Natle Méd., 2010, 194, no 8, 1601-1620
- [24] www.science-et-vie.com

- [25] B. Miles, and al (8 Septembre 2004) Les propriétés fonctionnelles des motoneurones derives des cellules souches embryonnaires de souris "The Journal of Neuroscience
- [26] MM Alain CLAEYS, Jean-Sébastien VIALATTE. (2010), Rapport sur la recherche sur les cellules souches, Sénat. P : 43-44.
- [27] Dvash, T., D. Ben-Yosef, et al. (2006). "Human embryonic stem cells as a powerful tool for studying human embryogenesis." *Pediatr Res* 60(2): 111-7.
- [28] Reya, T., S. J. Morrison, et al. (2001). "Stem cells, cancer, and cancer stem cells." *Nature* 414(6859):105-11.
- [29] Frank, N. Y., T. Schatton, et al. (2010), "The therapeutic promise of the cancer stem cell concept." *J Clin Invest* 120(1): 41-50.
- [30] Frank, N. Y., T. Schatton, et al. (2010), "The therapeutic promise of the cancer stem cell concept." *J Clin Invest* 120(1): 41-50.
- [31] Sébastien Duprat, Gille Lemaître, Brigitte Onteniente. (2008), « Cellules souches embryonnaires et applications thérapeutiques », *The birth of therapy with cultured cells. Bioassays. Lancet. Volume 30, P : 897-903.*
- [32] Sébastien Duprat, Gille Lemaître, Brigitte Onteniente. (2009), « Cellules souches embryonnaires et applications thérapeutiques », *Human embryonic stem cell derivatives for full reconstruction of the pluristratified epidermis : a preclinical study. Lancet. Volume 374, P : 1745-53.*
- [33] Sébastien Duprat, Gille Lemaître, Brigitte Onteniente. (2005), « Cellules souches embryonnaires et applications thérapeutiques », *Tissue engineered fetal skin constructs for paediatric burns. Lancet. Volume : 366, P : 840.*
- [34] Reubinoff BE, Itsykson P, Turetsky T, et al.(2001), *Neural progenitors from human embryonic stem cells. Nat Biotechnol ; 19: 1134-40.*

- [35] Zhang SC, Wernig M, Duncan ID, Brustle O, Thomson JA. (2001) In vitro differentiation of transplantable neural precursors from human embryonic stem cells. *Nat Biotechnol*; 19: 1129-33.
- [36] Carpenter MR, Inokuma MS, Denham J, Mujtaba T, Chiu CP, Rao MS. (2001) Enrichment of neurons and neural precursors from human embryonic stem cells. *Exp Neurol*; 172: 383-97.
- [37] Anne-Catherine Fluckiger, Colette Dehay, Pierre Savatier (juin-juillet 2003) Cellules souches embryonnaires et thérapies cellulaires du système nerveux *MEDECINE/SCIENCES* vol ; 19 : 699-708
- [38] Keller R., Cell migration during gastrulation. *Cell Biol.* 2005; 17(5): 533-41
- [39] Bénédicte R.(2006) Une nouvelle source de cellules souches de l'épiderme humain. Communiqué de presse genopole.
- [40] Aberdam D. et al. (2007) Embryonic stem cells as a cellular model for neuroectodermal commitment and skin formation. *C. R. Biologies.* ; 330 : 479-484
- [41] Bachoud-Levi AC, Remy P, Nguyen JP, et al. (2000) Motor and cognitive improvements in patients with Huntington's disease after neural transplantation. *Lancet* ; 356 : 1975-9.
- [42] Bachoud-Levi AC, Gaura V, Brugieres P, et al. (2006) Effect of fetal neural transplants in patients with Huntington's disease 6 years after surgery: a long-term follow-up study. *Lancet Neurol* ; 5 : 303-9.
- [43] Aubry L, Bugi A, Lefort N, et al. (2008) Striatal progenitors derived from human ES cells mature into DARPP32 neurons in vitro and in quinolinic acid-lesioned rats. *Proc Natl Acad Sci USA* ; 105 : 16707-12.

- [44] Ericson J, Muhr J, Placzek M, et al. (1995) Sonic hedgehog induces the differentiation of ventral forebrain neurons: a common signal for ventral patterning within the neural tube. *Cell* ; 81 : 747-56.
- [45] Backman MM, Machon O, Mygland L, et al. (2005) Effects of canonical Wnt signaling on dorso-ventral specification of the mouse telencephalon. *Dev Biol* ; 279 : 155-68.
- [46] Watanabe K, Kamiya D, Nishiyama T, et al. (2005) Directed differentiation of telencephalic precursors from embryonic stem cells. *Nat Neurosci*; 8 : 288-96.
- [47] Laetitia Aubry, Marc Peschanski, Anselme L. Perrier (2009) Des cellules souches embryonnaires humaines pour la thérapie cellulaire de la maladie de Huntington *MEDECINE/SCIENCES* n° 4, vol. 25,P: 233
- [48] Pierre-Louis FAGNIEZ. (2006), Rapport au premier ministre : cellules souches et choix éthiques, Paris, P : 59.
- [49] MM Alain CLAEYS, Jean-Sébastien VIALATTE. (2010), Rapport sur la recherche sur les cellules souches, Sénat, P : 35.
- [50] L. Coulombel. (2007), *Gynécologie Obstétrique & Fertilité*. Volume: 35, P : 806-810.
- [51] Annelise, Bennaceur-Griscelli, William Vainchenker, *Thérapie cellulaire*, INSERM U 362, Institut Gustave Roussy, Villejuif, P : 11.
- [52] Gros F. (2001), *Les sciences du vivant, Ethique et société*, ODILE JACOB, Paris, P : 183.
- [53] **Marc Jean-Pierre. (2004)**, *Génétique médicale: formelle, chromosomique, moléculaire, clinique*. Mason, Paris. P : 391.
- [54] Coulombel L. (2005), *Cellules souches : un seul nom pour de multiples entités. Reprogramming and epigenesis*. *Med Sci*, Paris. Volume : 21(4), P : 412.

- [55] A.G. Turhan (2003) Plasticité des cellules souches adultes *Transfusion Clinique et Biologique* vol 10 p: 103–108
- [56] Lagasse E, Connors H, Al-Dhalimy M, Reitsma M, Dohse M, Osborne L, et al. (2000) Purified hematopoietic stem cells can differentiate into hepatocytes in vivo. *Nat Med*;6:1229–34.
- [57] Wagers AJ, Sherwood RI, Christensen JL, Weissman IL. (2002) Little Evidence for Developmental Plasticity of Adult Hematopoietic Stem Cells. *Science*;297:2256–9.
- [58] Prockop DJ.(1997) Marrow stromal cells as stem cells for nonhematopoietic tissues. *Science*;6:71–4.
- [59] Jiang Y, Jahagirdar BN, Reinhardt RL, Schwartz RE, Keene CD, Ortiz-Gonzalez XR, et al. Pluripotency of mesenchymal stem cells derived from adult marrow. *Nature* 2002;418:41–9.
- [60] Jiang Y, Vaessen B, Lenvik T, Blackstad M, Reyes M, Verfaillie CM. Multipotent progenitor cells can be isolated from postnatal murine bone marrow, muscle, and brain. *Exp Hematol* 2002;30:896–904.
- [61] Reyes M, Lund T, Lenvik T, Aguiar D, Koodie L, Verfaillie CM.(2001) Purification and ex vivo expansion of postnatal human marrow mesodermal progenitor cells. *Blood*;98:2615–25.
- [62] Reyes M, Dudek A, Jahagirdar B, Koodie L, Marker PH, Verfaillie CM. (2002) Origin of endothelial progenitors in human postnatal bone marrow. *J Clin Invest*;109:337–46.
- [63] Odelberg SJ, Kollhoff A, Keating MT. Dedifferentiation of mammalian myotubes induced by *msx1*. *Cell* 2000;103:1099–109.
- [64] Kondo T, Raff M. (2000) Oligodendrocyte precursor cells reprogrammed to become multipotential CNS stem cells. *Science*;289:1754–7.

- [65] Liang L, Bickenbach JR. (2002) Somatic epidermal stem cells can produce multiple cell lineages during development. *Stem Cells*;20: 21–31.
- [66] Drake CJ, Fleming PA, Reilly CM, Zeng H, Hill WD, Martin-Sruddard A, et al. (2002) Hematopoietic origin of glomerular mesangial cells: Transdifferentiation without cell fusion. *Blood*;100:29a (Abstr.).
- [67] Campbell, K. H., J. McWhir, et al. (1996). "Sheep cloned by nuclear transfer from a cultured cell line." *Nature* 380(6569): 64-6.
- [68] Les cellules souches embryonnaires humaines : origines, questions éthiques et embryons (25 juillet 2011) www.eurostemcell.org
- [69] L. Coulombel. (2008), « Cellules souches : un seul nom pour de multiples entités », *Cellules iPS humaines : déjà !*. Med Sci, Paris. Volume24, P : 102.
- [70] L. Coulombel. (2010), « Cellules souches : un seul nom pour de multiples entités », *Les cellules souches : incertitudes scientifiques et questions éthiques face à l'attente thérapeutique*, Dans : *Traité de bioéthique*. Editions ERES.
- [71] Banque d'images du NIH. © 2008 Thérèse Winslow.
- [72] Petersen BE, Bowen WC, Patrene KD, *et al.* (1999), Bone marrow as a potential source of hepatic oval cells. *Science*. Volume: 284, P: 1168-70.
- [73] Jackson K, Mi T, Goodell M. (1999), Hematopoietic potential of stem cells isolated from murine skeletal muscle. *Proc. Nat. Acad. Sci, USA*. Volume: 96, P: 14482-6.
- [74] Svendsen CN, Caldwell MA, Ostenfeld T. (1999), Human neural stem cells: isolation, expansion and transplantation. *Brain Pathol*. Volume: 9, P: 499-513.
- [75] Rocha V, Chastang C, Souillet G, *et al.* (1998), Related cord blood transplants: the Eurocord experience from 78 transplants. Eurocord Transplant group. *Bone Marrow Transplant*. Volume: 21, P: 59-62.

- [76] Berthod F, Damour O. (1997), *In vitro* reconstructed skin models for wound coverage in deep burns. Br J Dermatol. P: 809-16.
- [77] Bruder SP, Jaiswal N, Ricalton NS, Mosca JD, Kraus KH, Kadiyala S. (1998), Mesenchymal stem cells in osteobiology and applied bone regeneration. Clin Orthop. P: 247-56.
- [78] Svendsen CN, Caldwell MA, Ostenfeld T. (1999), Human neural stem cells: isolation, expansion and transplantation. Brain Pathol. Volume: 9, P: 499-513.
- [79] Kubis N., Catala M. Les cellules souches un outil thérapeutique pour le futur? Neurochirurgie. Septembre 2003 ; 49 N°4 : 449-456
- [80] Médicament de l'ischémie myocardique. Thèse de pharmacie à Rabat 2004 ; N°15
- [81] Kola, I. and J. Landis (2004). "Can the pharmaceutical industry reduce attrition rates?" Nat Rev Drug Discov 3(8): 711-5.
- [82] Dvash, T., D. Ben-Yosef, et al. (2006). "Human embryonic stem cells as a powerful tool for studying human embryogenesis." Pediatr Res 60(2): 111-7.
- [83] Ben-Yosef, D., M. Malcov, et al. (2008). "PGD-derived human embryonic stem cell lines as a powerful tool for the study of human genetic disorders." Mol Cell Endocrinol 282(1-2): 153-8.
- [84] Stephenson, E. L., C. Mason, et al. (2009). "Preimplantation genetic diagnosis as a source of human embryonic stem cells for disease research and drug discovery." Bjog 116(2): 158-65.
- [85] Eiges, R., M. Schuldiner, et al. (2001). "Establishment of human embryonic stem cell-transfected clones carrying a marker for undifferentiated cells." Curr Biol 11(7): 514-8.

- [86] Pfeifer, A., M. Ikawa, et al. (2002). "Transgenesis by lentiviral vectors: lack of gene silencing in mammalian embryonic stem cells and preimplantation embryos." *Proc Natl Acad Sci U S A* 99(4): 2140-5.
- [87] Ma, Y., A. Ramezani, et al. (2003). "High-level sustained transgene expression in human embryonic stem cells using lentiviral vectors." *Stem Cells* 21(1): 111-7.
- [88] Zwaka, T. P. and J. A. Thomson (2003). "Homologous recombination in human embryonic stem cells." *Nat Biotechnol* 21(3): 319-21.
- [89] Friedrich Ben-Nun, I. and N. Benvenisty (2006). "Human embryonic stem cells as a cellular model for human disorders." *Mol Cell Endocrinol* 252(1-2): 154-9.
- [90] Tenzen, T., F. Zembowicz, et al. (2010) "Genome modification in human embryonic stem cells." *J Cell Physiol* 222(2): 278-81.
- [91] Extrait de These : Applications medicales et pharmaceutiques des cellules souches pluripotentes : vers un changement de paradigme? Jerome Alexandre Denis
- [92] Frumkin, T., M. Malcov, et al. "Human embryonic stem cells carrying mutations for severe genetic disorders." *In Vitro Cell Dev Biol Anim* 46(3-4): 327-36.
- [93] Mateizel, I., N. De Temmerman, et al. (2006). "Derivation of human embryonic stem cell lines from embryos obtained after IVF and after PGD for monogenic disorders." *Hum Reprod* 21(2): 503-11.
- [94] Park, I. H., N. Arora, et al. (2008). "Disease-specific induced pluripotent stem cells." *Cell* 134(5): 877- 86.
- [95] Photo de robot prise de l'interieur de laboratoire I-Stem (I-Stem ©)

- [96] Watkins, P. B. (2011) "Drug safety sciences and the bottleneck in drug development." *Clin Pharmacol Ther* 89(6): 788-90.
- [97] Watkins, P. B. (2011) "Drug safety sciences and the bottleneck in drug development." *Clin Pharmacol Ther* 89(6): 788-90.
- [98] Baxter, M. A., C. Rowe, et al. (2011) "Generating hepatic cell lineages from pluripotent stem cells for drug toxicity screening." *Stem Cell Res* 5(1): 4-22.
- [99] Baxter, M. A., C. Rowe, et al. (2011) "Generating hepatic cell lineages from pluripotent stem cells for drug toxicity screening." *Stem Cell Res* 5(1): 4-22.
- [100] Duan, Y., A. Catana, et al. (2007). "Differentiation and enrichment of hepatocyte-like cells from human embryonic stem cells in vitro and in vivo." *Stem Cells* 25(12): 3058-68.
- [101] Hay, D. C., D. Zhao, et al. (2008). "Efficient differentiation of hepatocytes from human embryonic stem cells exhibiting markers recapitulating liver development in vivo." *Stem Cells* 26(4): 894-902.
- [102] Norstrom, A., K. Akesson, et al. (2006). "Molecular and pharmacological properties of human embryonic stem cell-derived cardiomyocytes." *Exp Biol Med (Maywood)* 231(11): 1753-62.
- [103] Liang, H., M. Matzkies, et al.(2005) "Human and murine embryonic stem cell-derived cardiomyocytes serve together as a valuable model for drug safety screening." *Cell Physiol Biochem* 25(4-5): 459-66.
- [104] Genschow, E., H. Spielmann, et al. (2002). "The ECVAM international validation study on in vitro embryotoxicity tests: results of the definitive phase and evaluation of prediction models. European Centre for the Validation of Alternative Methods." *Altern Lab Anim* 30(2): 151-76.

[105] Genschow, E., H. Spielmann, et al. (2004). "Validation of the embryonic stem cell test in the international ECVAM validation study on three in vitro embryotoxicity tests." *Altern Lab Anim* 32(3): 209-44.

[106] Anson, B. D., K. L. Kolaja, et al. (2011) "Opportunities for use of human iPS cells in predictive toxicology." *Clin Pharmacol Ther* 89(5): 754-8.

[107] Anson, B. D., K. L. Kolaja, et al. (2011) "Opportunities for use of human iPS cells in predictive toxicology." *Clin Pharmacol Ther* 89(5): 754-8.

[108] Audition du 27 avril 2006 : Monseigneur André Vingt-Trois est Archevêque de Paris. La doctrine catholique sur ce point est fixée par l'Instruction *Donum Vitae* de la Congrégation pour la doctrine de la foi du 22 février 1987. A noter cependant que la doctrine de l'Eglise n'a pas toujours été celle-ci puisque pour St Thomas d'Aquin, le corps n'est investi d'une âme qu'à compter de la moitié de la grossesse.

[109] Audition du 24 mai 2006 : Alain Senior est le rabbin de la synagogue de Créteil.

[110] Audition du 12 mai 2006 : Dalil Boubakeur est Recteur de la Grande Mosquée de Paris

[111] Audition du 27 avril 2006 : Bertrand Mathieu est Professeur de droit à Paris I Panthéon-Sorbonne

[112] H.Atlan, *L'utérus artificiel, Le seuil* : coll. Librairie du XXI^e siècle – 2005

[113] Audition du 9 mai 2006 : Julia Kristeva est psychanalyste et écrivain ; membre du Conseil scientifique du CNRS, du Conseil économique et social ; Professeure à l'Université Paris VII-Denis Diderot ; titulaire de la chaire de théorie de la Littérature à l'Institut Universitaire de France.

[114] Audition du 23 mars 2006 : Michel Vekemans, PUPH, est embryologiste et Chef du service de cytogénétique à l'Hôpital Necker à Paris. Audition du 23 mars 2006 : Bernard Debré est Professeur de médecine et Député de Paris.

[115] Audition du 8 février 2006: Axel Khan est Directeur de l'Institut Cochin de Génétique moléculaire, et chercheur à l'INSERM.

[116] Audition du 23 mars 2006 : Didier Sicard, PUPH, Professeur de médecine à l'Université René Descartes, Chef du service de médecine interne à l'Hôpital Cochin et Président du Comité Consultatif National d'Ethique

[117] Audition du 30 mars 2006 : Arnold Munnich, PUPH, est Pédiatre et Généticien, Chef du service de génétique médicale de l'hôpital Necker-Enfants malades, Membre de l'Académie des Sciences.

[118] Rapport: cellules souches et choix éthiques (juillet 2006): Pierre-Louis FAGNIEZ,

[119] F.Haldemann, H.Potier, S.Romagnoli (2005) Le clonage humain en arguments, ed. Georg,

[120] RAPPORT sur LA RECHERCHE SUR LES CELLULES SOUCHES (le 8 juillet 2010): MM. Alain CLAEYS et Jean-Sébastien VIALATTE

[121] Beattie GM., Otonkoski T. et al. Functional beta-cell mass after transplantation of human fetal pancreatic cells: differentiation or proliferation?. Diabetes. Feb 1997; 46: 244-248

[122] Roche E, Enseat-Wase R et al. Therapeutic potential of stem cells in diabetes. Exp Pharmacol. 2006; (174): 147-67

[123] Burns CJ, Persaud SJ et al. Stem cell therapy for diabetes: do we need to make beta cells?. J Endocrinol. Dec 2004 ; 183(3): 437-43

[124] Benhamou PY. Thérapie cellulaire du diabète : y a-t-il vraiment du nouveau. Editorial / Annales de chirurgie. 2005; 130: 363-364

[125] L'embryon humain: le point de vue des différentes religions(fév 2013)
www.bioethique.net

Serment de Galien

Je jure en présence des maîtres de cette faculté :

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



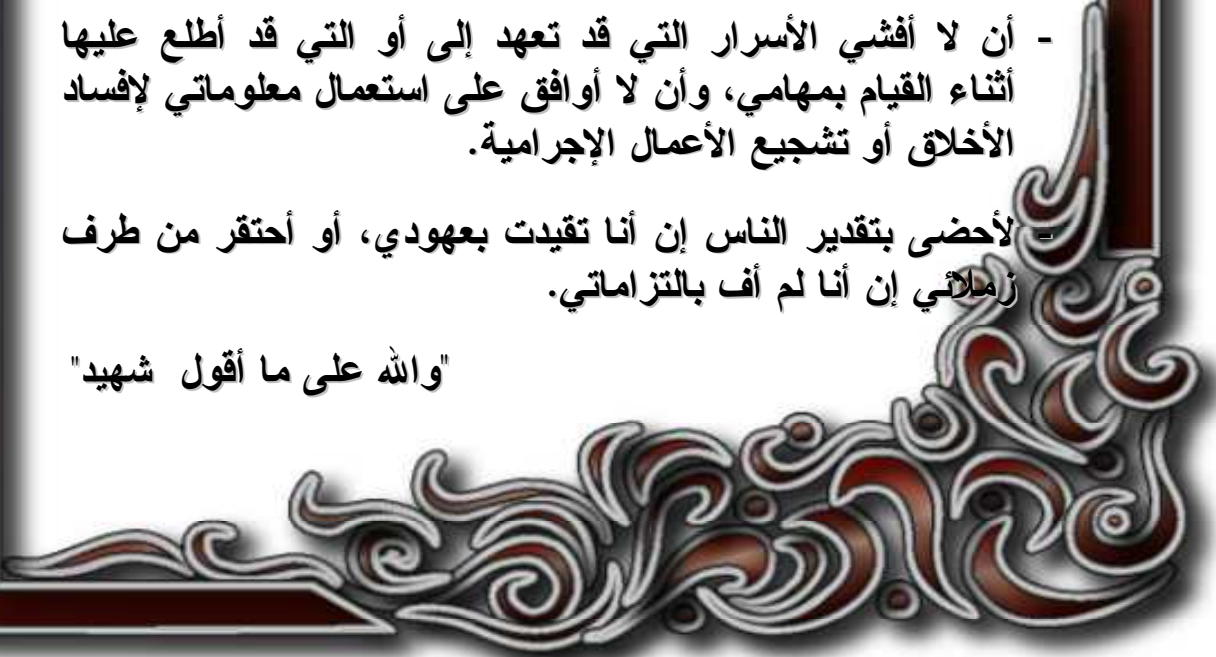
جامعة محمد الخامس
كلية الطب والصيدلة
- الرباط -

قسم الصيدلي

بسم الله الرحمن الرحيم
والحمد لله رب العالمين

- أن أراقب الله في مهنتي
- أن أبجل أساتذتي الذين تعلمت على أيديهم مبادئ مهنتي وأعترف لهم بالجميل وأبقى دوما وفيا لتعاليمهم.
- أن أزاول مهنتي بوازع من ضميري لما فيه صالح الصحة العمومية، وأن لا أقصر أبدا في مسؤوليتي وواجباتي تجاه المريض وكرامته الإنسانية.
- أن ألتزم أثناء ممارستي للصيدلة بالقوانين المعمول بها وبأدب السلوك والشرف، وكذا بالاستقامة والترفع.
- أن لا أفشي الأسرار التي قد تعهد إلى أو التي قد أطلع عليها أثناء القيام بمهامي، وأن لا أوافق على استعمال معلوماتي لإفساد الأخلاق أو تشجيع الأعمال الإجرامية.
- لأحضى بتقدير الناس إن أنا تقيدت بعهودي، أو أحتقر من طرف زملائي إن أنا لم أف بالتزاماتي.

"والله على ما أقول شهيد"



جامعة محمد الخامس - الرباط
كلية الطب والصيدلة - الرباط -

أطروحة رقم : 16

سنة : 2016

الخلايا الجذعية: بين التطبيقات و النقاش الأخلاقي أطروحة

قدمت ونوقشت علانية يوم :
من طرف

السيد : الرزاق الله المامون

المزداد في 1 دسمبر 1989 بالراشيدية

لنيل شهادة الدكتوراه في الصيدلة

الكلمات الأساسية : الخلايا الجذعية، العلاج الخلوي، التطبيقات الصيدلانية، النقاش الأخلاقي

تحت إشراف اللجنة المكونة من الأساتذة

رئيس

السيد: ميمون زهدي

أستاذ في علم الأحياء الدقيقة

مشرفة

السيدة: سعيدة طلال

أستاذة في علم الكيمياء الحيوية

السيدة: سكيئة الحمزاوي

أستاذة في علم الأحياء الدقيقة

أعضاء

السيدة: نزهة المسعودي

أستاذة في علم الدم

السيد: عبد القادر لعتريس

أستاذ في الصيدلة الجالينوسية