

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

ANNEE: 2013

THESE N°: 224

**THERAPIE CELLULAIRE :
APPLICATIONS ET PERSPECTIVES**

THESE

Présentée et soutenue publiquement le :.....

PAR

Mlle Fatima Ezzahra MOUJDIDI

Née le 05 Septembre 1987 à Rabat

Pour l'Obtention du Doctorat en Médecine

MOTS CLES: Thérapie cellulaire – Cellules souches– Greffe tissulaire
Greffe cellulaire

JURY

Mr. Mimoun ZOUHDI

Professeur de Microbiologie

PRESIDENT

Mr. Omar CHOKAIRI

Professeur d'Histologie d'Embryologie

Et de Cytogénétique

RAPPORTEUR

Mme. Fatima JABOUIRIK

Professeur de Pédiatrie

Mr. Azeddine IBRAHIMI

Professeur de Biotechnologie Médicale

JUGES

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

« سُبْحَانَكَ لَا عِلْمَ لَنَا إِلَّا مَا عَلَّمْتَنَا إِنَّكَ

أَنْتَ الْعَلِيمُ الْحَكِيمُ »

صدق الله العظيم

سورة البقرة، الآية: 31



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

DOYENS HONORAIRES :

: Professeur Abdelmalek FARAJ 1962 – 1969

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 estudiantines
Professeur Mohammed AHALLAT
Vice Doyen chargé de la Recherche et de la Coopération
Professeur Jamal TAOUFIK
Vice Doyen chargé des Affaires Spécifiques à la Pharmacie
Professeur Jamal TAOUFIK
Secrétaire Général : Mr. El Hassane AHALLAT

PROFESSEURS :

Mai et Octobre 1981

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

Mai et Novembre 1982

Pr. ABROUQ Ali*	Oto-Rhino-Laryngologie
Pr. BENSOUA Mohamed	Anatomie
Pr. BENOSMAN Abdellatif	Chirurgie Thoracique
Pr. LAHBABI Naïma	Physiologie

Novembre 1983

Pr. BELLAKHDAR Fouad	Neurochirurgie
Pr. HAJJAJ Najia ép. HASSOUNI	Rhumatologie

Décembre 1984

Pr. EL GUEDDARI Brahim El Khalil	Radiothérapie
Pr. MAAOUNI Abdelaziz	Médecine Interne

Pr. MAAZOUZI Ahmed Wajdi
Pr. SETTAF Abdellatif

Anesthésie -Réanimation
Chirurgie

Novembre et Décembre 1985

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

Cardiologie
Pathologie Chirurgicale
Neurologie
Pneumo-phtisiologie

Janvier, Février et Décembre 1987

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

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

Décembre 1988

Pr. BENHAMAMOUCHE Mohamed Najib
Pr. DAFIRI Rachida
Pr. HERMAS Mohamed
Pr. TOLOUNE Farida*

Chirurgie Pédiatrique
Radiologie
Traumatologie Orthopédie
Médecine Interne

Décembre 1989 Janvier et Novembre 1990

Pr. ADNAOUI Mohamed
Pr. BOUKILI MAKHOUKHI Abdelali*
Pr. CHAD Bouziane
Pr. CHKOFF Rachid
Pr. HACHIM Mohammed*
Pr. KHARBACH Aïcha
Pr. MANSOURI Fatima
Pr. OUZZANI Taïbi Mohamed Réda
Pr. TAZI Saoud Anas

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

Février Avril Juillet et Décembre 1991

Pr. AL HAMANY Zaïtounia
Pr. AZZOUZI Abderrahim
Pr. BAYAHIA Rabéa
Pr. BELKOUCHI Abdelkader
Pr. BENABDELLAH Chahrazad
Pr. BENCHEKROUN Belabbes Abdellatif
Pr. BENSOUDA Yahia
Pr. BERRAHO Amina

Anatomie-Pathologique
Anesthésie Réanimation
Néphrologie
Chirurgie Générale
Hématologie
Chirurgie Générale
Pharmacie galénique
Ophtalmologie

Pr. BEZZAD Rachid
Pr. CHABRAOUI Layachi
Pr. CHERRAH Yahia
Pr. CHOKAIRI Omar
Pr. JANATI Idrissi Mohamed*
Pr. KHATTAB Mohamed
Pr. SOULAYMANI Rachida
Pr. TAOUFIK Jamal

Gynécologie Obstétrique
Biochimie et Chimie
Pharmacologie
Histologie Embryologie
Chirurgie Générale
Pédiatrie
Pharmacologie
Chimie thérapeutique

Décembre 1992

Pr. AHALLAT Mohamed
Pr. BENSOUDA Adil
Pr. BOUJIDA Mohamed Najib
Pr. CHAHED OUAZZANI Laaziza
Pr. CHRAIBI Chafiq
Pr. DAOUDI Rajae
Pr. DEHAYNI Mohamed*
Pr. EL OUAHABI Abdessamad
Pr. FELLAT Rokaya
Pr. GHAFIR Driss*
Pr. JIDDANE Mohamed
Pr. OUAZZANI TAIBI Med Charaf Eddine
Pr. TAGHY Ahmed
Pr. ZOUHDI Mimoun

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

Mars 1994

Pr. AGNAOU Lahcen
Pr. BENCHERIFA Fatiha
Pr. BENJAAFAR Noureddine
Pr. BEN RAIS Nozha
Pr. CAOUI Malika
Pr. CHRAIBI Abdelmjid
Pr. EL AMRANI Sabah
Pr. EL AOUAD Rajae
Pr. EL BARDOUNI Ahmed
Pr. EL HASSANI My Rachid
Pr. EL IDRISSE Lamghari Abdennaceur
Pr. ERROUGANI Abdelkader
Pr. ESSAKALI Malika
Pr. ETTAYEBI Fouad
Pr. HADRI Larbi*

Ophtalmologie
Ophtalmologie
Radiothérapie
Biophysique
Biophysique
Endocrinologie et Maladies Métaboliques
Gynécologie Obstétrique
Immunologie
Traumato-Orthopédie
Radiologie
Médecine Interne
Chirurgie Générale
Immunologie
Chirurgie Pédiatrique
Médecine Interne

Pr. HASSAM Badredine
Pr. IFRINE Lahssan
Pr. JELTHI Ahmed
Pr. MAHFOUD Mustapha
Pr. MOUDENE Ahmed*
Pr. RHRAB Brahim
Pr. SENOUCI Karima

Mars 1994

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

Mars 1995

Pr. ABOUQUAL Redouane
Pr. AMRAOUI Mohamed
Pr. BAIDADA Abdelaziz
Pr. BARGACH Samir
Pr. BEDDOUCHE Amqrane*
Pr. CHAARI Jilali*
Pr. DIMOU M'barek*
Pr. DRISSI KAMILI Med Nordine*
Pr. EL MESNAOUI Abbas
Pr. ESSAKALI HOUSSYNI Leila
Pr. FERHATI Driss
Pr. HASSOUNI Fadil
Pr. HDA Abdelhamid*
Pr. IBEN ATTYA ANDALOUSSI Ahmed
Pr. IBRAHIMY Wafaa
Pr. MANSOURI Aziz
Pr. OUAZZANI CHAHDI Bahia

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
Radiologie
Chirurgie Générale
Gynécologie Obstétrique
Pédiatrie

Réanimation Médicale
Chirurgie Générale
Gynécologie Obstétrique
Gynécologie Obstétrique
Urologie
Médecine Interne
Anesthésie Réanimation
Anesthésie Réanimation
Chirurgie Générale
Oto-Rhino-Laryngologie
Gynécologie Obstétrique
Médecine Préventive, Santé Publique et Hygiène
Cardiologie
Urologie
Ophtalmologie
Radiothérapie
Ophtalmologie

Pr. SEFIANI Abdelaziz
Pr. ZEGGWAGH Amine Ali

Génétique
Réanimation Médicale

Décembre 1996

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

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

Novembre 1997

Pr. ALAMI Mohamed Hassan
Pr. BEN AMAR Abdesselem
Pr. BEN SLIMANE Lounis
Pr. BIROUK Nazha
Pr. CHAOUIR Souad*
Pr. DERRAZ Said
Pr. ERREIMI Naima
Pr. FELLAT Nadia
Pr. GUEDDARI Fatima Zohra
Pr. HAIMEUR Charki*
Pr. KADDOURI Noureddine
Pr. KOUTANI Abdellatif
Pr. LAHLOU Mohamed Khalid
Pr. MAHRAOUI CHAFIQ
Pr. NAZI M'barek*
Pr. OUAHABI Hamid*
Pr. TAOUFIQ Jallal
Pr. YOUSFI MALKI Mounia

Gynécologie-Obstétrique
Chirurgie Générale
Urologie
Neurologie
Radiologie
Neurochirurgie
Pédiatrie
Cardiologie
Radiologie
Anesthésie Réanimation
Chirurgie Pédiatrique
Urologie
Chirurgie Générale
Pédiatrie
Cardiologie
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
Chirurgie Générale
Oncologie Médicale
Néphrologie
Traumatologie Orthopédie
Hématologie
Cardiologie
Anatomie Pathologique

Janvier 2000

Pr. ABID Ahmed*
Pr. AIT OUMAR Hassan
Pr. BENCHERIF My Zahid
Pr. BENJELLOUN Dakhama Badr.Sououd
Pr. BOURKADI Jamal-Eddine
Pr. CHAOUI Zineb
Pr. CHARIF CHEFCHAOUNI Al Montacer
Pr. ECHARRAB El Mahjoub
Pr. EL FTOUH Mustapha
Pr. EL MOSTARCHID Brahim*
Pr. EL OTMANY Azzedine
Pr. HAMMANI Lahcen
Pr. ISMAILI Mohamed Hatim
Pr. ISMAILI Hassane*
Pr. KRAMI Hayat Ennoufouss
Pr. MAHMOUDI Abdelkrim*
Pr. TACHINANTE Rajae
Pr. TAZI MEZALEK Zoubida

Pneumophtisiologie
Pédiatrie
Ophtalmologie
Pédiatrie
Pneumo-phtisiologie
Ophtalmologie
Chirurgie Générale
Chirurgie Générale
Pneumo-phtisiologie
Neurochirurgie
Chirurgie Générale
Radiologie
Anesthésie-Réanimation
Traumatologie Orthopédie
Gastro-Entérologie
Anesthésie-Réanimation
Anesthésie-Réanimation
Médecine Interne

Novembre 2000

Pr. AIDI Saadia
Pr. AIT OURHROUI Mohamed
Pr. AJANA Fatima Zohra
Pr. BENAMR Said
Pr. BENCHEKROUN Nabiha
Pr. CHERTI Mohammed
Pr. ECH-CHERIF EL KETTANI Selma
Pr. EL HASSANI Amine

Neurologie
Dermatologie
Gastro-Entérologie
Chirurgie Générale
Ophtalmologie
Cardiologie
Anesthésie-Réanimation
Pédiatrie

Pr. EL IDGHIRI Hassan
Pr. EL KHADER Khalid
Pr. EL MAGHRAOUI Abdellah*
Pr. GHARBI Mohamed El Hassan
Pr. HSSAIDA Rachid*
Pr. LAHLOU Abdou
Pr. MAFTAH Mohamed*
Pr. MAHASSINI Najat
Pr. MDAGHRI ALAOUI Asmae
Pr. NASSIH Mohamed*
Pr. ROUIMI Abdelhadi

Oto-Rhino-Laryngologie
Urologie
Rhumatologie
Endocrinologie et Maladies Métaboliques
Anesthésie-Réanimation
Traumatologie Orthopédie
Neurochirurgie
Anatomie Pathologique
Pédiatrie
Stomatologie Et Chirurgie Maxillo-Faciale
Neurologie

Décembre 2001

Pr. ABABOU Adil
Pr. BALKHI Hicham*
Pr. BELMEKKI Mohammed
Pr. BENABDELJLIL Maria
Pr. BENAMAR Loubna
Pr. BENAMOR Jouda
Pr. BENELBARHDADI Imane
Pr. BENNANI Rajae
Pr. BENOUACHANE Thami
Pr. BENYOUSSEF Khalil
Pr. BERRADA Rachid
Pr. BEZZA Ahmed*
Pr. BOUCHIKHI IDRISSE Med Larbi
Pr. BOUHOUCHE Rachida
Pr. BOUMDIN El Hassane*
Pr. CHAT Latifa
Pr. CHELLAOUI Mounia
Pr. DAALI Mustapha*
Pr. DRISSI Sidi Mourad*
Pr. EL HIJRI Ahmed
Pr. EL MAAQILI Moulay Rachid
Pr. EL MADHI Tarik
Pr. EL MOUSSAIF Hamid
Pr. EL OUNANI Mohamed
Pr. ETTAIR Said
Pr. GAZZAZ Miloudi*
Pr. GOURINDA Hassan
Pr. HRORA Abdelmalek
Pr. KABBAJ Saad
Pr. KABIRI EL Hassane*

Anesthésie-Réanimation
Anesthésie-Réanimation
Ophtalmologie
Neurologie
Néphrologie
Pneumo-phtisiologie
Gastro-Entérologie
Cardiologie
Pédiatrie
Dermatologie
Gynécologie Obstétrique
Rhumatologie
Anatomie
Cardiologie
Radiologie
Radiologie
Radiologie
Chirurgie Générale
Radiologie
Anesthésie-Réanimation
Neuro-Chirurgie
Chirurgie-Pédiatrique
Ophtalmologie
Chirurgie Générale
Pédiatrie
Neuro-Chirurgie
Chirurgie-Pédiatrique
Chirurgie Générale
Anesthésie-Réanimation
Chirurgie Thoracique

Pr. LAMRANI Moulay Omar
Pr. LEKEHAL Brahim
Pr. MAHASSIN Fattouma*
Pr. MEDARHRI Jalil
Pr. MIKDAME Mohammed*
Pr. MOHSINE Raouf
Pr. NOUINI Yassine
Pr. SABBAH Farid
Pr. SEFIANI Yasser
Pr. TAOUFIQ BENCHEKROUN Soumia

Traumatologie Orthopédie
Chirurgie Vasculaire Périphérique
Médecine Interne
Chirurgie Générale
Hématologie Clinique
Chirurgie Générale
Urologie
Chirurgie Générale
Chirurgie Vasculaire Périphérique
Pédiatrie

Décembre 2002

Pr. AL BOUZIDI Abderrahmane*
Pr. AMEUR Ahmed *
Pr. AMRI Rachida
Pr. AOURARH Aziz*
Pr. BAMOU Youssef *
Pr. BELMEJDOUB Ghizlene*
Pr. BENZEKRI Laila
Pr. BENZZOUBEIR Nadia*
Pr. BERNOUSSI Zakiya
Pr. BICHRA Mohamed Zakariya
Pr. CHOHO Abdelkrim *
Pr. CHKIRATE Bouchra
Pr. EL ALAMI EL FELLOUS Sidi Zouhair
Pr. EL BARNOUSSI Leila
Pr. EL HAOURI Mohamed *
Pr. EL MANSARI Omar*
Pr. ES-SADEL Abdelhamid
Pr. FILALI ADIB Abdelhai
Pr. HADDOUR Leila
Pr. HAJJI Zakia
Pr. IKEN Ali
Pr. ISMAEL Farid
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 *

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

Pr. RAISS Mohamed
Pr. RGUIBI IDRISSE Sidi Mustapha*
Pr. RHOU Hakima
Pr. SIAH Samir *
Pr. THIMOU Amal
Pr. ZENTAR Aziz*

Chirurgie Générale
Pneumophtisiologie
Néphrologie
Anesthésie Réanimation
Pédiatrie
Chirurgie Générale

Janvier 2004

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

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

Janvier 2005

Pr. ABBASSI Abdellah
Pr. AL KANDRY Sif Eddine*
Pr. ALAOUI Ahmed Essaid
Pr. ALLALI Fadoua
Pr. AMAZOUZI Abdellah
Pr. AZIZ Nouredine*
Pr. BAHIRI Rachid
Pr. BARKAT Amina

Chirurgie Réparatrice et Plastique
Chirurgie Générale
Microbiologie
Rhumatologie
Ophtalmologie
Radiologie
Rhumatologie
Pédiatrie

Pr. BENHALIMA Hanane
Pr. BENHARBIT Mohamed
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. KARIM Abdelouahed
Pr. KENDOUCI Mohamed*
Pr. LAAROUSSI Mohamed
Pr. LYAGOUBI Mohammed
Pr. NIAMANE Radouane*
Pr. RAGALA Abdelhak
Pr. SBIHI Souad
Pr. TNACHERI OUAZZANI Btissam
Pr. ZERAIDI Najia

Stomatologie et Chirurgie Maxillo Faciale
Ophtalmologie
Cardiologie
Ophtalmologie
Ophtalmologie
Biophysique
Microbiologie
Cardiologie
Pédiatrie
Radiologie
Ophtalmologie
Cardiologie
Chirurgie Cardio-vasculaire
Parasitologie
Rhumatologie
Gynécologie Obstétrique
Histo-Embryologie Cytogénétique
Ophtalmologie
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*
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

Rhumatologie
Radiologie
Hématologie
O.R.L
Biophysique
Chirurgie - Pédiatrique
Chirurgie Cardio – Vasculaire
Gynécologie Obstétrique
Cardiologie
Gastro-entérologie
Cardiologie
Anesthésie Réanimation
Urologie
Médecine Interne
Anesthésie Réanimation
Microbiologie
Radiologie
Urologie

Pr. KILI Amina
Pr. KISRA Hassan
Pr. KISRA Mounir
Pr. LAATIRIS Abdelkader*
Pr. LMIMOUNI Badreddine*
Pr. MANSOURI Hamid*
Pr. OUANASS Abderrazzak
Pr. SAFI Soumaya*
Pr. SEKKAT Fatima Zahra
Pr. SOUALHI Mouna
Pr. TELLAL Saïda*
Pr. ZAHRAOUI Rachida

Pédiatrie
Psychiatrie
Chirurgie – Pédiatrique
Pharmacie Galénique
Parasitologie
Radiothérapie
Psychiatrie
Endocrinologie
Psychiatrie
Pneumo – Phtisiologie
Biochimie
Pneumo – Phtisiologie

Octobre 2007

Pr. ABIDI Khalid
Pr. ACHACHI Leïla
Pr. ACHOUR Abdessamad*
Pr. AIT HOUSSA Mahdi*
Pr. AMHAJJI Larbi*
Pr. AMMAR Haddou
Pr. AOUI Sarra
Pr. BAITE Abdelouahed*
Pr. BALOUCH Lhousaine*
Pr. BENZIANE Hamid*
Pr. BOUTIMZIANE Nourdine
Pr. CHARKAOUI Naoual*
Pr. EHIRCHIOU Abdelkader*
Pr. ELABSI Mohamed
Pr. EL BEKKALI Youssef*
Pr. EL MOUSSAOUI Rachid
Pr. EL OMARI Fatima
Pr. GANA Rachid
Pr. GHARIB Noureddine
Pr. HADADI Khalid*
Pr. ICHOU Mohamed*
Pr. ISMAILI Nadia
Pr. KEBDANI Tayeb
Pr. LALAOUI SALIM Jaafar*
Pr. LOUZI Lhoussain*
Pr. MADANI Naoufel
Pr. MAHI Mohamed*
Pr. MARC Karima
Pr. MASRAR Azlarab

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

Pr. MOUSSAOUI Abdelmajid
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

Anesthésier réanimation
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

Décembre 2008

Pr ZOUBIR Mohamed*
Pr TAHIRI My El Hassan*

Anesthésie Réanimation
Chirurgie Générale

PROFESSEURS AGREGES : **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. AZENDOUR Hicham*
Pr. BELYAMANI Lahcen*
Pr. BJIJOU Younes
Pr. BOUHSAIN Sanae*
Pr. BOUI Mohammed*
Pr. BOUNAIM Ahmed*
Pr. BOUSSOUGA Mostapha*
Pr. CHAKOUR Mohammed *
Pr. CHTATA Hassan Toufik*
Pr. DOGHMI Kamal*
Pr. EL MALKI Hadj Omar

Médecine interne
Pédiatre
Chirurgie Générale
Neurologie
Neuro-chirurgie
Radiologie
Chirurgie Cardio-vasculaire
Rhumatologie
Anesthésie Réanimation
Anesthésie Réanimation
Anatomie
Biochimie-chimie
Dermatologie
Chirurgie Générale
Traumatologie orthopédique
Hématologie biologique
Chirurgie vasculaire périphérique
Hématologie clinique
Chirurgie Générale

Pr. EL OUENNASS Mostapha*
Pr. ENNIBI Khalid*
Pr. FATHI Khalid
Pr. HASSIKOU Hasna *
Pr. KABBAJ Nawal
Pr. KABIRI Meryem
Pr. KADI Said *
Pr. KARBOUBI Lamya
Pr. L'KASSIMI Hachemi*
Pr. LAMSAOURI Jamal*
Pr. MARMADE Lahcen
Pr. MESKINI Toufik
Pr. MESSAOUDI Nezha *
Pr. MSSROURI Rahal
Pr. NASSAR Ittimade
Pr. OUKERRAJ Latifa
Pr. RHORFI Ismail Abderrahmani *
Pr. ZOUHAIR Said*

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

Octobre 2010

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

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

Mai 2012

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

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

ENSEIGNANTS SCIENTIFIQUES

Pr. ABOUDRAR Saadia
Pr. ALAMI OUHABI Naima
Pr. ALAOUI KATIM
Pr. ALAOUI SLIMANI Lalla Naïma
Pr. ANSAR M'hammed
Pr. BOUHOUCHE Ahmed
Pr. BOUKLOUZE Abdelaziz
Pr. BOURJOUANE Mohamed
Pr. CHAHED OUAZZANI Lalla Chadia
Pr. DAKKA Taoufiq
Pr. DRAOUI Mustapha
Pr. EL GUESSABI Lahcen
Pr. ETTAIB Abdelkader
Pr. FAOUZI Moulay El Abbes
Pr. HAMZAOUI Laila
Pr. HMAMOUCHE Mohamed
Pr. IBRAHIMI Azeddine
Pr. KHANFRI Jamal Eddine
Pr. OULAD BOUYAHYA IDRISSE Med
Pr. REDHA Ahlam
Pr. TOUATI Driss
Pr. ZAHIDI Ahmed
Pr. ZELLOU Amina

PROFESSEURS

Physiologie
Biochimie
Pharmacologie
Histologie-Embryologie
Chimie Organique et Pharmacie Chimique
Génétique Humaine
Applications Pharmaceutiques
Microbiologie
Biochimie
Physiologie
Chimie Analytique
Pharmacognosie
Zootechnie
Pharmacologie
Biophysique
Chimie Organique
Biotechnologie
Biologie
Chimie Organique
Biochimie
Pharmacognosie
Pharmacologie
Chimie Organique

**Enseignants Militaires*

Mise à jour le 02/05/2013



Dédicaces



A Mes chers parents

*Veillez accepter ce travail comme le témoignage
de ma reconnaissance et mon profond amour.*

Puisse ALLAH vous accorder santé, bonheur et longue vie.

A Ma chère famille, proches et amis

*Je vous dédie ce travail et je ne saurais vous exprimer l'étendu de
l'affection que j'ai pour vous.*

Que ALLAH vous bénisse et vous protège.

*A Tous ceux qui ont participé de loin ou de près
à la réalisation de ce travail.*

Et à tous ceux que j'ai omis de citer.



Remerciements



*A Notre maître et président de JURY
MONSIEUR LE PROFESSEUR
MIMOUN ZOUHSDI
Professeur de microbiologie*

*C' est pour nous un grand honneur de vous
voir présider notre jury de thèse.*

*Veillez trouver dans ce travail, l'expression de
notre profonde gratitude, de nos remerciements les
plus sincères et de notre respect.*

merci

A Notre maître et rapporteur de thèse

MONSIEUR LE PROFESSEUR

OMAR CHOKAIRI

Professeur D'histologie embryologie et cytogénétique.

*Vous nous avez confié ce travail et vous nous
avez aidé minutieusement avec compétence, amabilité
et patience.*

*Votre gentillesse, votre modestie et vos qualités
humaines n'ont d'égal que votre compétence.*

*Veillez, Monsieur, accepter l'expression de notre
dévouement, notre profond respect et notre
reconnaissance.*

merci

*A Notre professeur et juge de thèse
Madame le PROFESSEUR
FATIMA JABOUIRIK
Professeur de Pédiatrie*

*Nous vous remercions vivement pour
l'honneur que vous nous faites en
acceptant de juger ce travail.*

*Nous sommes très sensibles à votre gentillesse et
à votre accueil très aimable.*

Veillez croire en nos égards les plus distingués.

merci

A Notre maître et juge de thèse
MONSIEUR LE PROFESSEUR
AZEDDINE IBRAHIMI
Professeur de biotechnologie médicale

*Nous sommes très sensibles à l'honneur que
vous nous faites en acceptant de juger notre
travail.*

*Veillez accepter nos remerciements ainsi que le
témoignage de notre respect et notre gratitude.*

merci



Tables des matières



Sommaire

INTRODUCTION.....1

Première partie : cellules souches ; concept et théorie

1. Historique et chronologie.

1-1 Histoire des cellules souches.....5
1-2 Chronologie et dates des importantes recherches.....6

2. Développement biologique chez l'homme.....9

1-1 La fécondation.....10
1-2 La segmentation.....11
1-3 La gastrulation.....13
1-4 La détermination.....14
1-5 L'organogenèse.....15

3. Les cellules souches.

3-1 Qu'est ce qu'une cellule.....17
3-2 Qu'est ce qu'une cellule souche.....17

3-2-1 *Les cellules souches embryonnaires ou pluripotentes.*

a. Définition.....19
b. Propriétés des cellules ES.....21
c. Distinction entre ES et les cellules souches de
l'embryon.....22
d. Avantages et inconvénients.23

3-2-2 *les cellules souches fœtales*

a. Définition.....	25
b. Classification.....	26
c. Avantages et inconvénients.....	29

3-2-3 les cellules souches adultes.

a. Définition.....	30
b. Fonction.....	30
c. Localisation.....	31
d. Caractéristique.....	32
e. Les différents types des cellules souches adultes	
✓ Cellules souches présentes dans la moelle osseuse.....	37
✓ Cellules souches qui renouvellent la peau et le muscle.	39
✓ Intestin, poumon, foie et reins.	40
✓ Des découvertes récentes, le cœur et l'œil.....	40
f. Les cellules souches adultes au potentiel pluripotent.....	41
g. Avantages et inconvénients.	42
h. Notion de niches cellulaires.	45

Deuxième partie : thérapie cellulaire et médecine régénérative

1. Définition de la thérapie cellulaire.....	65
2. Enjeux et perspectives.....	65
3. les différentes applications thérapeutiques.....	66
4. Exemples de projet de recherches.	68

A. Application sur la peau

1. Définition.....	69
2. historique du traitement des grands brûlés	71
3. la thérapie cellulaire.....	72
3.2 les équivalents cutanés.....	73
3.3 les cellules souches adultes.....	77

✓ les cellules souches épidermiques.....	77
✓ les cellules souches mésenchymateuses	77
3.4 les cellules souches fœtales.....	79
3.5 les cellules souches embryonnaires	80

B. Application sur la maladie de parkinson

1. Définition.....	82
2. La thérapie cellulaire	83
2.1 Les cellules candidates pour la thérapie neuronale.....	84
✓ les cellules souches embryonnaires	84
✓ les cellules souches fœtales.....	89
✓ les cellules souches adultes.....	90
▪ cellules souches neurales.....	90
▪ cellules souches stromales.....	91
▪ cellules souches de la peau.....	91
2.2 Les essais réalisés chez l’homme.....	92
3. Conclusion.....	95

C. L’insuffisance cardiaque

1. description des cardiopathies.....	96
2. la thérapie cellulaire.....	98
2.1 Des concepts aux essais cliniques.....	99
✓ les différents types de modèles animaux utilisables.....	99
✓ détermination du suivi des cellules injectées.....	99
✓ évaluation de la fonction cardiaque.....	100
✓ protocole d’administration.....	100
2.2 Les différentes cellules utilisées en thérapie cellulaire.....	101
✓ les cellules souches embryonnaires.....	102
✓ les cellules souches fœtales.....	104
✓ les cellules souches adultes.....	104
2.3 analyse des essais cliniques réalisés.....	108

✓ utilisation de cellules souches hématopoïétiques ou endothéliales.....	108
✓ utilisation de cellules myoblastiques.....	109
3. Conclusion.....	111

D. Le diabète type 1

1. Présentation générale du pancréas.....	112
2. Diabète type 1	
2.1 Définition.....	112
2.2 historique du diabète type 1.....	115
3. La thérapie cellulaire.....	116
3.1 Utilisation des cellules souches embryonnaires	118
3.2 Utilisation des cellules souches fœtales.....	123
3.3 Utilisation des cellules souches adultes.....	124
✓ les MAPC.....	124
✓ Mécanisme de fusion cellulaire.....	124
✓ Les candidats proposés.....	125
4. Conclusion.....	126

Troisième partie: Les aspects éthiques, juridiques et religieux de la recherche sur les cellules souches

1. Contexte éthique.....	128
1.1. Pour le stade embryonnaire.....	129
1.2. prélèvement fœtal.....	131
1.3. prélèvement post-natal.....	131

1.4.clonage thérapeutique.....	132
2. Contexte juridique	
2.1. Situation juridique au niveau national.....	132
2.2. Situation juridique dans les pays Européens.....	132
2.3.situation juridique aux Etats-Unis.....	134
3. Contexte religieux	
3.1. Islam	136
3.2. Judaïsme	137
3.3. Catholicisme.....	138
4. Conclusion.....	140
CONCLUSION.....	141
RESUME	
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	

Listes des figures

Figure 1 : le développement embryonnaire	9
Figure 2 : Les différentes étapes de la segmentation.....	12
Figure 3 : Différenciation des trois feuillets en différents tissus humains	13
Figure 4 : Définition d'une cellule souche.....	18
Figure 5 : Schéma d'un embryon au 5e jour après la fécondation.....	19
Figure 6 : Blastocystes ~ j5 (masse cellulaire interne ~100 cellules).....	20
Figure 7 : la différenciation en feuillets embryonnaires.....	20
Figure 8 : le caryotype des ES après un nombre de passage.....	22
Figure 9 : la différenciation des cellules ES.....	24
Figure 10 : le sang placentaire dit « sang de cordon ».....	27
Figure 11 : Localisation anatomique des cellules souches dans les différents tissus de l'organisme.....	32
Figure 12 : Les formes de plasticité des cellules souches adultes.....	34
Figure 13 : la plasticité des cellules souches adultes.....	35
Figure 14 : le phénomène de transdifférenciation.....	36
Figure 15 : Le phénomène de dédifférenciation.....	37
Figure 16 : Différentes populations de cellules souches identifiables dans la moelle osseuse.....	38
Figure 17 : les cellules souches hématopoïétiques.....	39
Figure 18 : cellules souches et leurs niches.....	47
Figure 19 : La peau normale humaine.....	54
Figure 20 (A .B.C.D) : les aspects cicatriciels de l'Intégra ®.....	59
Figure 21 : production de peau «derme équivalent ».....	60

Figure 22 : Utilisation des cellules souches mésenchymateuses pour la reconstruction tissulaire et la récupération fonctionnelle après irradiation.....	63
Figure 23 : Thérapie cellulaire de lésion de brûlure cutanée radio-induite.....	65
Figure24: la différenciation <i>in vitro</i> des cellules ES en épiderme pluristratifié.....	68
Figure 25 : la différenciation des cellules ES en neurones dopaminergique.....	71
Figure 26 (A.B) : Induction neurale de cellules ES humaines déclenchée par des cellules stromales de moelle osseuse.....	73
Figure 27 : Analyse du comportement des rats parkinsoniens après greffe des cellules ES	75
Figure 28: imagerie par tomographie par émission de positron d'un parkinsonien avant et après transplantation des cellules souches fœtales.....	76
Figure 29: les régions qui contiennent les cellules souches neurales.....	77
Figure 30 : cellules utilisables pour la thérapie cellulaire	88
Figure 31: Transplantation de cellules ES humaines dans le cœur d'un porc..	90
Figure 32 : Essai clinique de thérapie cellulaire par greffe autologue de myoblastes dans la cicatrice d'un infarctus.....	97
Figure 33: Production d'insuline dans le pancréas humain.....	101
Figure 34 : Obtention des cellules bêta du pancréas.....	104
Figure 35 : Production de cellules sécrétant de l'insuline à partir de cellules ES issues de souris.....	106
Figure 36 : Production <i>in vitro</i> de cellules sécrétant de l'insuline.....	108
Figure 37: Pays autorisant la recherche sur les cellules souche embryonnaires	123

Liste des tableaux

Tableau I : Les principales applications en thérapie cellulaires.....	51
Tableau II : récapitulatif des différents substituts cutanés disponibles.....	61
Tableau III: les différentes cellules souches adultes candidates pour le Cœur.....	92
Tableau IV : Historique de thérapie cellulaire de diabète.....	102
Tableau V : l'avis de grandes religions dominantes dans le monde.....	127

Liste des abréviations

CSA : Cellule souche adulte

CSE : Cellule souche embryonnaire

ICM : la masse cellulaire interne

FIV : Fécondation In Vitro

HLA : traduction anglaise du CMH « complexe majeure d'histocompatibilité »

EG : Cellules germinales

MAPC : Multipotent Adult Progenitor Cells

hES : cellules embryonnaire souche humaine

CSH : Cellules souches hématopoïétiques

IVG : une interruption volontaire de grossesse

DPC : doublements de population cumulés

ADN : acide désoxyribonucléique

MEC: matrice extra cellulaire

LIF: Leukemia inhibitor factor

CSM : cellules souche mésenchymateuse

PCR : Polymerase chain reaction

BMP : protéine osseuse morphogénétique

NCAM : neural cell adhesion moléculs

6-OHDA : analogue non métabolisable de la dopamine

AVC : accidents vasculaires cérébrales

TEP ou **PET**: Positron emission tomography

RMN : résonance magnétique nucléaire

SP : Side population

bFGF : Basic fibroblast growth factor

VEGF: Vascular endothelial growth factor

IGF1 : Insuline like growth factor

PDX-1: Pancreatic Duodenum homeobox

PP: peptide pancréatique

Pax : commutateurs transcritionnels critique

GEE : Groupe européen d'éthique

NIH: National's Instituts of Health

NBAC: National Bioethics Advisory Committee

PMA: procréation médicalement assistée



INTRODUCTION



La biologie des cellules souches et leurs applications thérapeutiques constituent à l'heure actuelle un des sujets les plus excitants des sciences du vivant. L'intérêt majeur de ces cellules en biologie fondamentale comme en médecine régénérative, réside dans leur capacité unique à aussi bien s'autorenouveler que s'engager dans une ou plusieurs voies de différenciation.

Néanmoins, de nombreuses questions demeurent posées et, à ce jour, très peu de pathologies peuvent être traitées par des approches fondées sur ces cellules. La rareté ou l'inaccessibilité des cellules souches adultes, l'absence de marqueurs permettant de les identifier physiquement et de les purifier, leur risque tumorigène ainsi que notre connaissance extrêmement limitée des mécanismes fondamentaux qui résident à leur autorenouvellement sont autant de raisons qui limitent leur utilisation dans des approches cliniques.

Les cellules souches embryonnaires, par leur exceptionnel potentiel de prolifération et de différenciation, apparaissent comme une alternative aux cellules souches adultes mais leur manipulation chez l'homme est à l'origine d'un large débat dans nos sociétés pour des raisons à la fois éthiques, juridiques et religieuses.

Enfin, il serait nécessaire d'évoquer les applications de la thérapie cellulaire dans différentes spécialités pour des pathologies dont l'espoir de guérir n'est presque pas soulevé comme la maladie de parkinson, ou dont le traitement reste contraignant comme le diabète type 1...

Tous ces points seront abordés dans ce travail afin de permettre aux lecteurs de prendre contact avec les enjeux et les limites actuelles de la biologie des cellules souches.

Dans la première partie de notre étude, nous allons identifier les différentes cellules souches candidates pour la thérapie cellulaire.

Dans la deuxième partie de notre travail, nous étudierons les différents **domaines de recherche** en thérapie cellulaire en insistant plus sur la thérapie cellulaire appliquée en dermatologie, les maladies neurodégénératives notamment la maladie de parkinson, le diabète type I et l'insuffisance cardiaque post-infarctus du myocarde.

Et nous aborderons en fin la **législation internationale et le relèvement éthique et religieux** relatif à la manipulation des cellules souches.



1ERE PARTIE : CELLULES SOUCHES

« CONCEPT ET THEORIE »



1. Historique et chronologie

1-1 L'histoire des cellules souches

Les rares humains survivants immédiats à l'irradiation massive des bombardements atomiques de 1945 à Hiroshima et Nagasaki ont évolué des signes d'anémie, des infections graves par défaut immunitaire et des hémorragies incoercibles, liées à la disparition des plaquettes sanguines indispensables à la coagulation. L'étude de leur moelle osseuse, siège de la production habituelle des globules sanguins et des plaquettes, la révéla désertée de toute cellule hématopoïétique: c'était l'aplasie de la moelle dont sont morts secondairement tous les humains massivement irradiés. [1]

C'est à partir de ce sinistre constat et de la comparaison avec la biologie d'individus normaux que des travaux scientifiques plus poussés ont pu mener chez des adultes humains :

- au concept de **cellules « souches »**, capables de se diviser en cas de diminution du taux des cellules circulantes et de donner des lignées de cellules filles. Par un message intercellulaire, chaque division de cellule souche permet de maintenir constant le capital global des cellules et celui des cellules souches. [1]

- au concept de **capacité de régénération cellulaire** de la peau et du foie en particulier. [1]

- au concept de **transfert par transfusion des cellules souches médullaires** [2]

Depuis quelques années, les chercheurs ont mis en évidence la présence de cellules souches dites adultes ou somatiques dans plusieurs autres tissus et organes du corps tels que l'intestin, le système nerveux central, le muscle... Cela suppose qu'il en existe dans tous les organes même dans ceux où on ne les a pas encore localisées comme le rein ... [1, 3]

Tandis que la recherche sur les cellules souches embryonnaires est au coeur de l'actualité scientifique biomédicale du fait de leurs propriétés tout à fait exceptionnelles, elle implique une intervention sur l'embryon qui est nécessairement destructrice et dont la portée symbolique ne manque pas de soulever des interrogations éthiques. [4]

1-2 Chronologie et dates des importantes recherches.

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

1950-1960 : le concept de cellules souches adultes (CSA) est avancé pour rendre compte du renouvellement du sang et de la peau. [2]

1961 : découverte des premières cellules souches sanguines. [2]

1964 : découverte de cellules souches dans les carcinomes embryonnaires. [5]

1968 : première greffe de moelle osseuse. [2]

1981 : isolement et culture des cellules souches embryonnaires (ES) de souris. [6]

1994 : isolement de cellules de la masse cellulaire interne (ICM) de blastocystes humains et leur maintien en culture. [7]

1995 : isolement des lignées de cellules souches embryonnaires de primate. Ces

cellules souches embryonnaires sont diploïdes et ont un caryotype normal. Elles sont pluripotentes et se différencient en types cellulaires dérivés de tous les trois feuillets primordiaux. On constate que les cellules souches embryonnaires de primates ressemblent aux cellules souches de carcinomes embryonnaires humaines et permettent de penser qu'il pourrait être possible de produire et de maintenir en vie des cellules souches embryonnaires humaines *in vitro*. [8]

1998-2000 : Production de cellules souches embryonnaires humaines à partir de la masse cellulaire interne de blastocystes cédés par des couples inscrits en FIV. On a constaté que les cellules souches embryonnaires prolifèrent *in vitro* sur des périodes prolongées tout en conservant un caryotype normal. Ces cellules se différencient spontanément en lignées cellulaires somatiques issues des trois feuillets primordiaux et forment des tératomes quand on les injecte chez des souris immuno-déficientes. [4 ,9]

2000 : production de cellules souches embryonnaires humaines et leur différenciation en neurones. [10]

2003 : production de cellules souches embryonnaires humaines à partir de dents de lait humaines tombées naturellement. [11]

2005 : Obtention de cellules souches embryonnaires humaines par transfert du noyau d'une cellule somatique de malade dans son ovule anucléé [12].

2006 : Obtention de cellules souches embryonnaires humaines à partir d'embryons humains considérés comme morts naturellement [13].

2009 : Greffe de cellules souches hématopoïétiques au Maroc ; simple, efficace et bien tolérée [14]

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

2. Rappel de développement biologique chez l'homme.

L'embryologie constitue l'étude du développement embryonnaire de la cellule oeuf 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. [15]

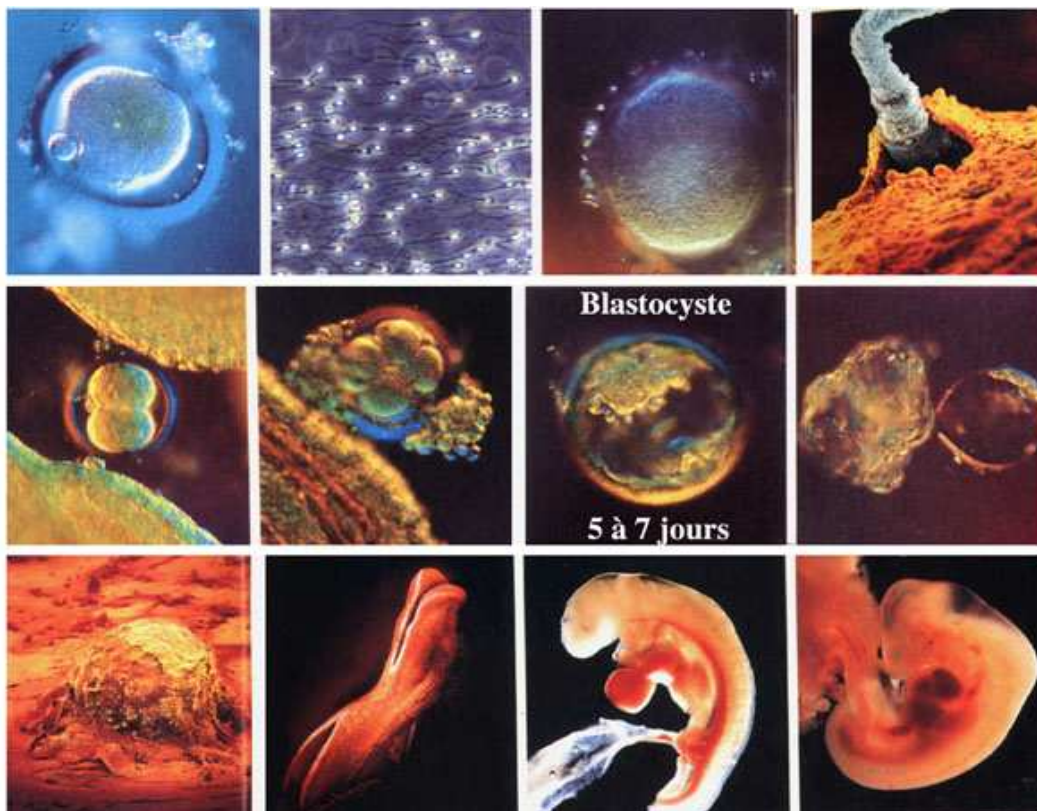


Figure1 : le développement embryonnaire [15]

2.1 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 oeuf à l'origine d'un nouvel individu. La cellule oeuf 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'oeuf et au développement d'un nouvel être diploïde. [15, 16]

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

2.2 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 **blastocèle**. 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. [15, 17,18]

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

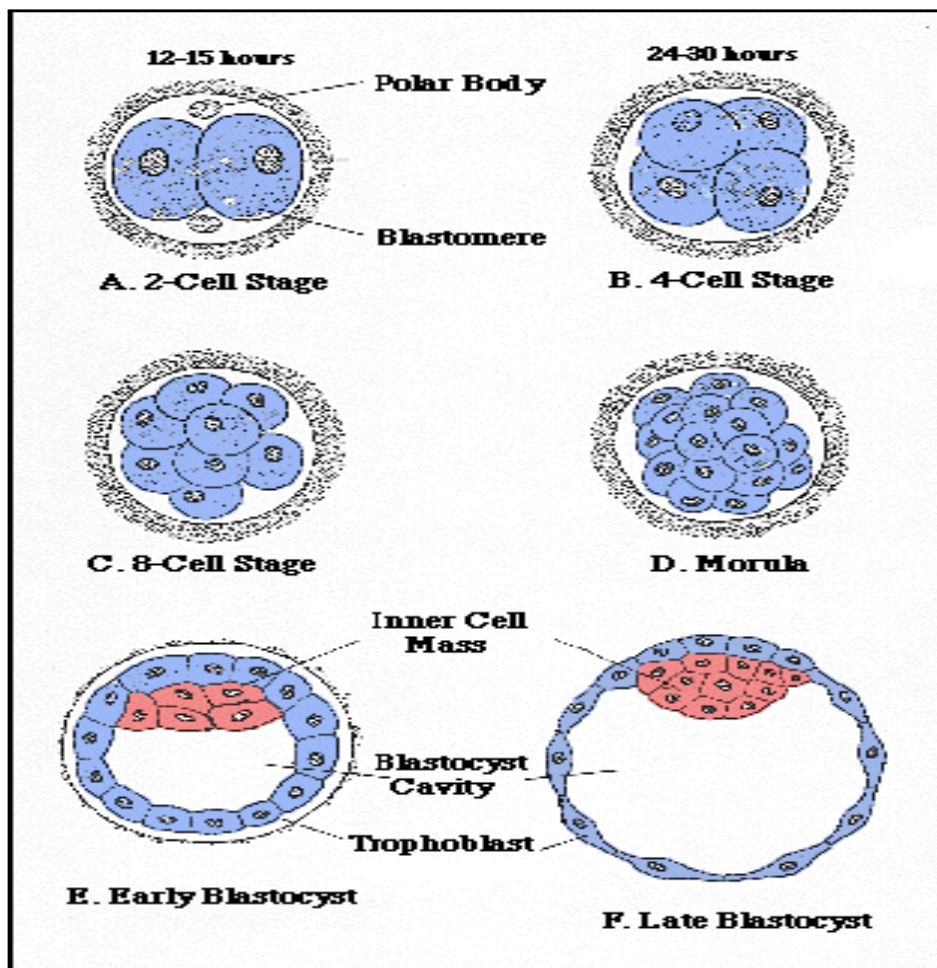


Figure 2 : Les différentes étapes de la segmentation [19]

2.3 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) [15]

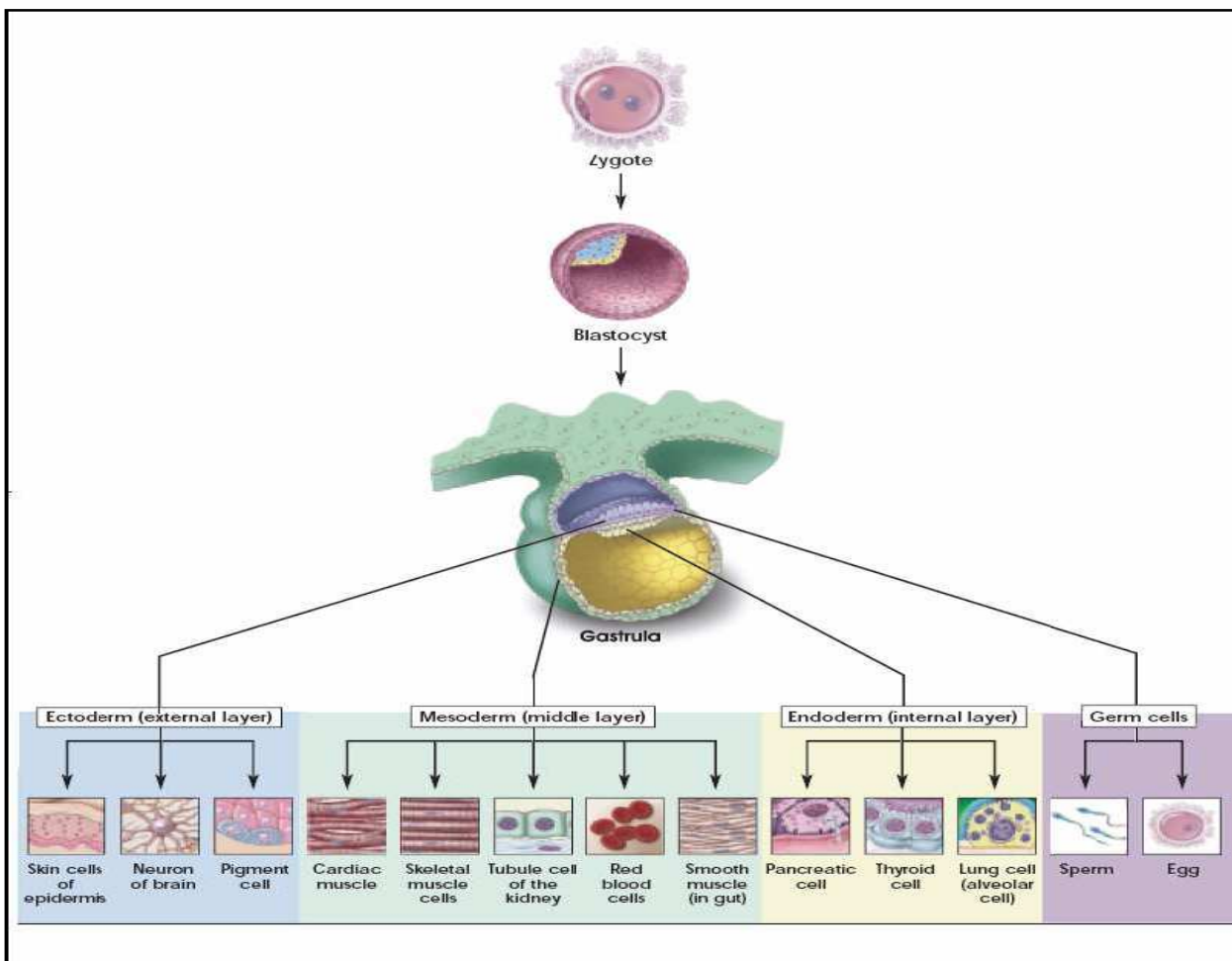


Figure 3 : Différenciation des trois feuillets en différents tissus humains [19]

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. [19]

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

2.4 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. [14,20]

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

2.5 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. [14, 21]

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.

3. Les cellules souches

3-1 Qu'est-ce qu'une cellule ?

La cellule est l'unité élémentaire des êtres vivants. Sa taille est de quelques centièmes de millimètre. La cellule comporte un noyau (à l'exception des Procaryotes, et quelques cellules particulières tels les globules rouges), qui est entouré de cytoplasme. Le noyau contient la majorité de l'information génétique. Dans le cytoplasme, se déroule la plupart des réactions biochimiques nécessaires à la vie de la cellule (synthèse de molécules et transformation d'énergie).

Un être humain est composé d'environ cent mille milliards de cellules, appartenant à environ deux cent types différents, dont la plupart ne se divise plus, alors que, à peu près vingt millions de cellules de notre organisme se divisent pour maintenir constant le nombre de cellules (remplacement des cellules disparaissant par vieillissement ou par lésion), ces cellules sont appelées ; cellules souches. [22]

3-2 Qu'est ce qu'une cellule souche ?

Une cellule souche est une cellule qui est capable de se diviser et de se multiplier tout au long de la vie, assurant le renouvellement des cellules d'un individu. La division d'une cellule souche produit une nouvelle cellule souche ; cellule de « réserve » et une cellule s'engageant dans un processus de différenciation qui la conduira à remplir une fonction précise ; (Figure 4)

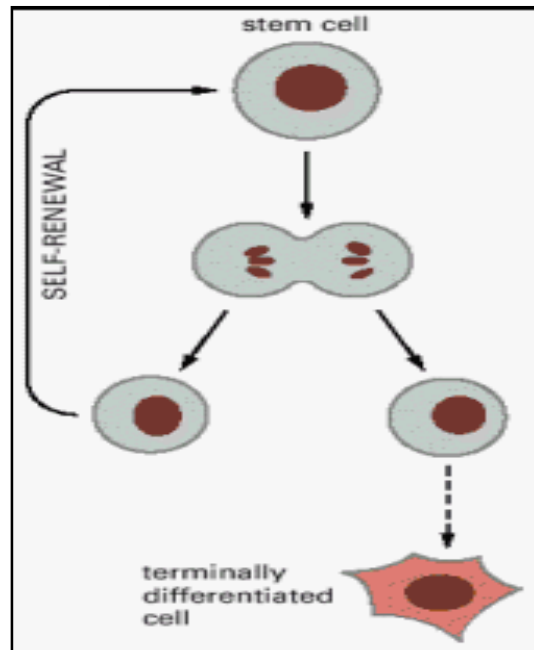


Figure 4 : Définition d'une cellule souche [23]

Toutes les cellules souches ne sont pas équivalentes, comme expliqué dans le chapitre précédent on distingue alors quatre catégories de cellules souches en fonction de la diversité des types cellulaires auxquels elles peuvent donner naissance, cependant, les chercheurs en matière de thérapie cellulaire ne focalisent leur centre d'intérêt que sur les cellules souches pluripotentes et multipotentes. [23]

- Des cellules souches **totipotentes** : présentes dans les quatre premiers jours de l'embryon, elles sont les seules à permettre le développement d'un organisme entier.

- Des cellules souches **pluripotentes** : ou encore appelées cellules souches embryonnaires : présentes du 5^e au 7^e jour suivant la fécondation, elles peuvent donner naissance à plus de 200 types de tissus différents ;
- Des cellules souches **multipotentes** : se sont les cellules souches adultes et foetales elles peuvent donner naissance à plusieurs types de cellules différenciées.
- Des cellules souches **unipotentes** : elles n'engendrent que des cellules différenciées d'un seul type tissulaire et conservent certaines capacités d'autorenouvellement et de prolifération. [24]

3-2-1 Les cellules souches embryonnaires ou pluripotentes :

a- Définition :

Chez l'Homme, les **cellules souches embryonnaires (ES)** proviennent de la masse cellulaire interne du blastocyste préimplantatoire, aussi appelée bouton embryonnaire ; (Figure 5 ,6) [4, 25]

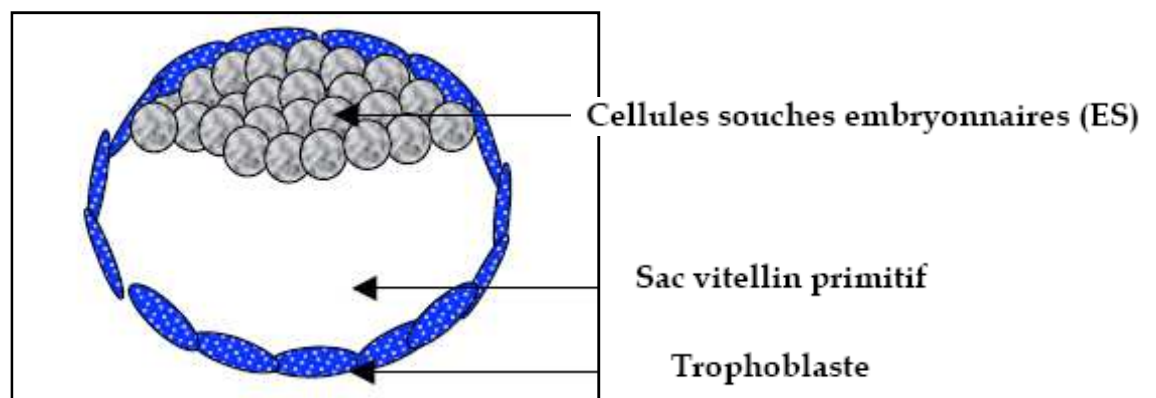


Figure 5 : Schéma d'un embryon au 5^e jour après la fécondation (Blastocystes). [26]

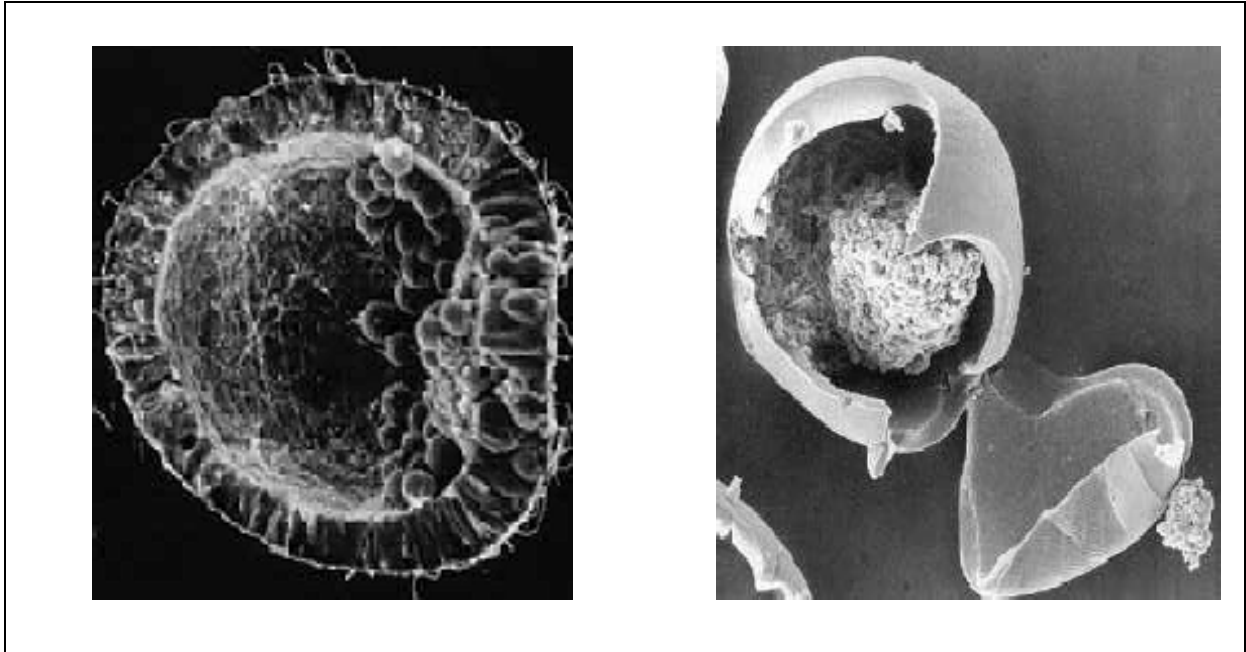


Figure 6 : Blastocystes ~ j5 (masse cellulaire interne ~100 cellules) [26]

Au stade de blastocyste (5ème jour de développement), chacune des cellules de la masse interne du blastocyste (ES) est pluripotente, puisqu'elle peut produire tous les feuillets embryonnaires (mésoblaste, endoblaste, ectoblaste) ; (Figure 7) et les tissus qui en dérivent, ainsi que les cellules germinales.

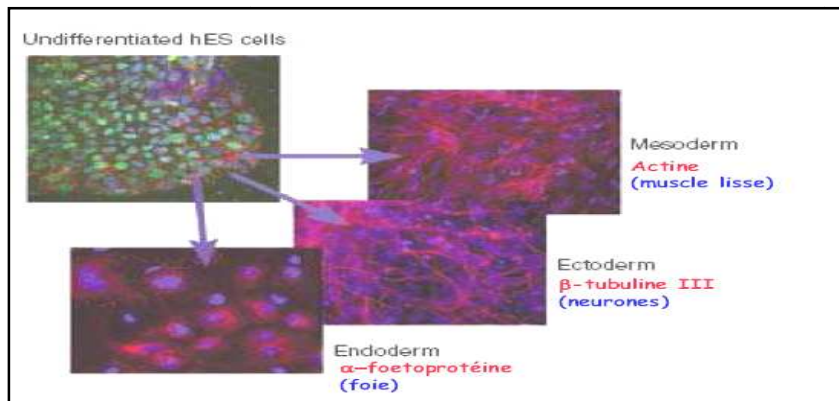


Figure 7 : la différenciation en feuillets embryonnaires [19]

b- Propriétés des cellules ES.

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

✓ *Autorenouvellement.*

La caractéristique majeure définissant les cellules ES est leur capacité à se diviser sans se différencier pour obtenir une descendance pluripotente identique. On parle alors d'autorenouvellement permanent. Cette propriété confère aux cellules ES un potentiel prolifératif illimité tout en conservant un phénotype normal et un caryotype euploïde. [27]

✓ *Caryotype.*

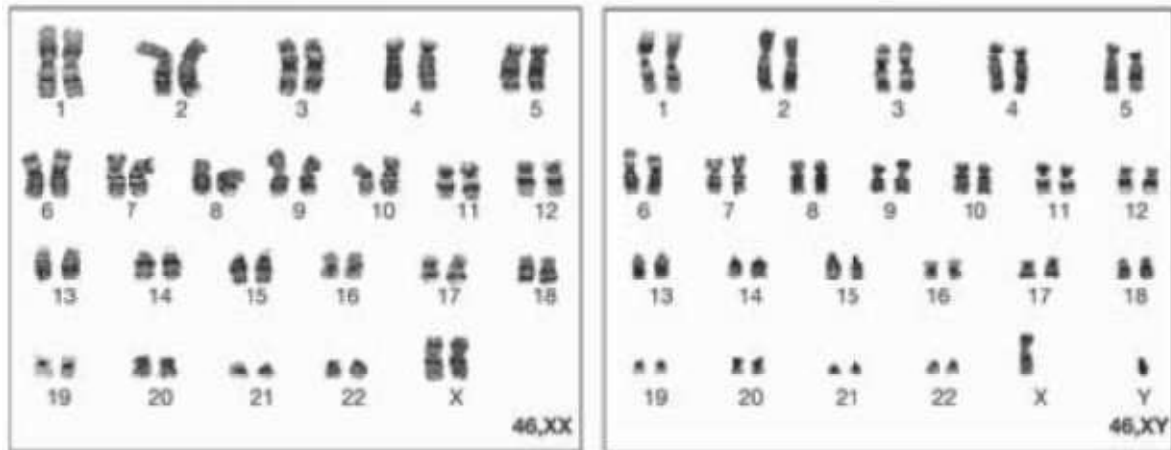
Le caryotype des cellules ES est analysé par la technique de marquage des bandes « G-banding ». De nombreux rapports montrent qu'après la culture de cellules à long terme, un caryotype normal est maintenu.

Rosler et ses collègues ont cultivé pendant une centaine de passages plusieurs lignées de cellules hES, ils ont montré qu'elles conservaient un caryotype euploïde au cours du temps ; (Figure 8)

Cependant, d'autres auteurs ont rapporté la présence de caryotypes anormaux (aneuploïdes) dans des lignées de cellules ES, comme une trisomie 12 et une trisomie 17.

La comparaison d'études cytogénétiques à long terme de lignées de cellules hES euploïdes et d'autres contenant des cellules hES aneuploïdes sera donc nécessaire pour évaluer réellement la stabilité cytogénétique des cellules

ainsi transformées. Les chercheurs aussi se demandent si la fréquence d'aneuploïdie ou le type d'anomalies chromosomiques observées affectent la capacité des cellules ES à se différencier. [28]



Passage 29

Passage 14

Figure 8 : le caryotype des ES après un nombre de passage [28]

c- Distinction entre les cellules ES et les cellules souches de l'embryon

Les cellules ES sont dérivées à partir des cellules souches de l'embryon précoce. Cependant, les cellules souches de l'embryon n'existent que de façon transitoire et se différencient pendant le développement, alors que les cellules ES peuvent être cultivées in vitro indéfiniment sans différenciation. Les cellules ES ne sont donc pas identiques aux cellules souches de l'embryon, même si elles partagent de nombreuses propriétés comme la pluripotence, la tumorigénicité et l'expression de marqueurs spécifiques.

Les cellules ES doivent être considérées comme une adaptation en culture des cellules souches existantes dans l'embryon précoce. [25]

d-Avantages et inconvénients :

✓ *Les avantages des cellules souches embryonnaires.*

- **Une source potentiellement illimitée et aisément accessible.**

Compte tenu des milliers d'embryons surnuméraires actuellement disponibles aux laboratoires et de la possibilité de dériver des lignées des cellules extraites de ces embryons donnés à la recherche, les cellules souches embryonnaires paraissent accessibles et en nombre illimité, permettant ainsi à plusieurs recherches d'avoir lieu. [27]

- **Grande capacité de proliférer *in vitro*.**

La capacité de prolifération des cellules souches embryonnaires est grande, ce qui permet d'obtenir des lignées plus facilement qu'avec les cellules souches adultes. Ainsi les cellules ES offriraient la perspective d'un produit thérapeutique allogénique immédiatement disponible et de grand rendement autant en culture qu'en conservation, ce qui représente un avantage certain pour les pathologies touchant un nombre élevé de patients. [25, 29]

- **Immortelles en culture.**

Les cellules souches embryonnaires sont beaucoup plus spontanément capables de survivre et de se multiplier *in vitro* que les cellules souches récoltées chez des adultes. [29]

▪ **Le déclenchement de leur différenciation s'opère à la demande**

Les cellules ES se différencient en tel ou tel tissu grâce à l'ajout de molécules régulatrices et des facteurs de croissance adéquats ; (Figure 9) [30,31]

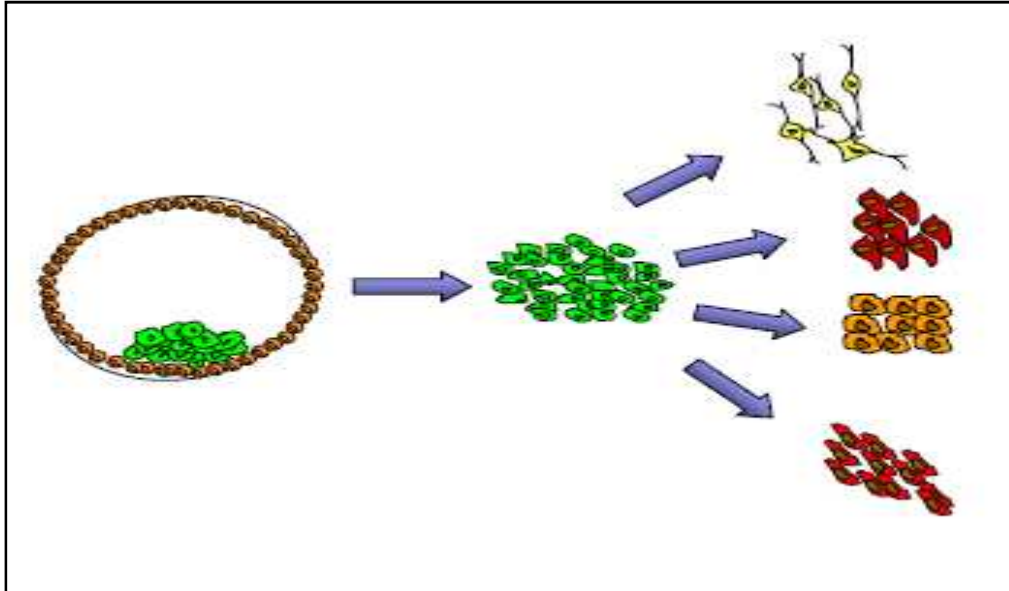


Figure 9 : la différenciation des cellules ES [19]

- neurones, astrocytes et oligodendrocytes
- cellules hématopoiétiques
- cellules musculaires
- cardiomyocyte
- kératinocyte
- cellules productrices de l'insuline
- hépatocyte
-

✓ *Les inconvénients des cellules souches embryonnaires.*

▪ **Un questionnement éthique problématique.**

Ces cellules sont isolées d'embryons surnuméraires ou issues d'avortements, leur utilisation soulève donc des problèmes d'éthique. Notamment, pour certains groupes, religieux ou non, qui considèrent l'extraction de cellules souches embryonnaires comme une atteinte à l'intégrité de l'embryon. La diversité de la réglementation, dans la seule Europe, montre à quel point cette question est difficile à trancher pour les pouvoirs publics. [32]

▪ **L'expression des marqueurs HLA.**

Les cellules souches embryonnaires, implantées dans un autre organisme que celui dont elles sont originaires, peuvent induire une réponse immunitaire car elles sont reconnues comme du non-soi. On peut donc voir apparaître des phénomènes de rejet. [25, 33]

▪ **Le risque carcinogène.**

Des études sur la souris ont montré que l'utilisation de ces cellules ES a engendré l'apparition de tumeurs. En effet, ces cellules possèdent une grande capacité de prolifération qui peut, à terme, être incontrôlable.

Le risque de cancérogenèse après administration de cellules ES pourrait être proportionnel à leur capacité de prolifération. Ce risque proviendrait des possibilités accrues de mutation lorsque la cellule est plus indifférenciée et qu'elle subit un nombre de divisions élevé. [25, 34]

3-2-2 Cellules souches fœtales

a- Définition

Les cellules souches foetales sont issues de tissus foetaux à un stade beaucoup plus tardif (5-9 semaines) que le stade de blastocyste embryonnaire, du cordon ombilical ou du placenta. [35]

b- Classification

On distingue trois classes de cellules souches fœtales : [35]

✓ Cellules somatiques foetales :

Ces cellules sont multipotentes c'est-à-dire susceptibles de donner naissance à plusieurs tissus distincts, sans pour autant être capables de régénérer un organisme entier. En effet, ces cellules possèdent un caractère plus différencié que les cellules ES.

Deux de ces cellules sont particulièrement importantes dans une perspective thérapeutique :

- les cellules souches des zones germinatives du système nerveux central, dans le traitement de certaines pathologies neurodégénératives (maladie de Parkinson ou maladie de Huntington) [36 ,37].
- les hépatocytes foetaux qui font l'objet d'une recherche active en vue de transplantation [38].

✓ *Cellules germinales :*

Ces cellules sont issues de l'ébauche du tissu germinal du fœtus. En effet, elles sont isolées à partir de cellules germinales primitives des crêtes gonadiques du fœtus. Ces cellules sont pluripotentes comme les cellules ES. La culture de cellules souches foetales est plus difficile que celle des cellules embryonnaires car elles ne présentent pas les mêmes propriétés de division et de prolifération que les cellules embryonnaires. Leur génome est toutefois moins stable que celui des ES, ce qui les rend, pour l'instant, inutilisables dans une perspective thérapeutique, alors qu'elles ouvrent d'importantes perspectives en recherche fondamentale. [39]

✓ *Le sang du cordon :*

Le sang présent dans le cordon ombilical du nouveau-né est très précieux en médecine parce qu'il contient les cellules souches ;(Figure 10)

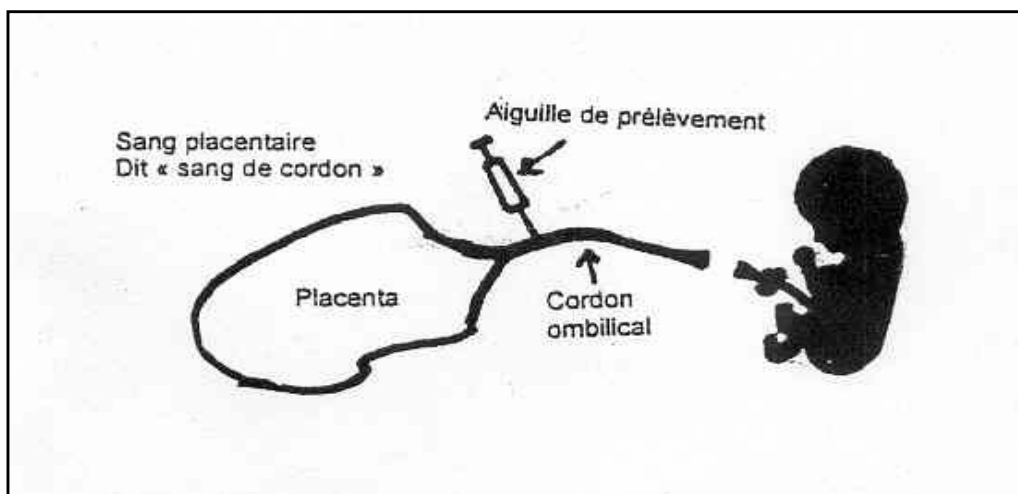


Figure 10 : le sang placentaire dit « sang de cordon » [35]

Les cellules souches du cordon se caractérisent **d'une part** par une potentialité intermédiaire entre celles de l'embryon et celles de l'adulte, pouvant se différencier en cellules précurseurs hématopoïétiques qui, à leur tour, donnent les cellules sanguines.

Ces cellules sont d'ailleurs déjà utilisées pour les greffes hématologiques chez l'enfant mais aussi chez l'adulte. Cependant ces cellules ne se divisent pas spontanément et lorsqu'elles se divisent, elles se différencient et meurent très rapidement. Leur culture est donc très difficile à réussir.

Dans le sang ombilical, d'autres cellules souches comme celles du foie, des muscles, du myocarde, des vaisseaux ou des cartilages ont été découvertes.

A l'heure actuelle, beaucoup d'études sont menées sur ces cellules. Il a été montré qu'elles peuvent proliférer en culture sans perdre de leur pluripotence et se différencier en groupes homogènes d'adipocytes, hépatocytes, ostéoblastes, chondroblastes, cellules cardiaques et cellules neurales.

Ces résultats sont encourageants, ceci a donc incité de nombreux pays à développer des banques de sang de cordon ombilical qui remplaceraient celles de moelle épinière car elles offrent des avantages inégaux comparés aux registres de moelle, car les greffons sont recueillis sans risque et conservables près de 20 ans. [40]

Et **d'autre part**, elles expriment moins d'antigènes du système HLA à leur surface, évitant ainsi les problèmes de rejet. [41]

c- Avantages et inconvénients :

✓ Les avantages des cellules souches fœtales

Ces cellules comportent de nombreux avantages, c'est en cela que les recherches se multiplient afin de pouvoir les utiliser dans des protocoles de thérapie cellulaire. [35]

- leur plasticité se rapproche des cellules souches embryonnaires. [42]
- Ces cellules n'induisent pas de développement de tumeur après transplantation. [34]
- Dans les cas de greffes de cellules issues du sang de cordon et même en situation allogénique, les risques de rejet sont nettement plus faibles en raison de la faible expression des antigènes HLA à la surface membranaire de ce type de cellules. [41]
- les cellules souches du cordon ombilical se distinguent des cellules souches embryonnaires et des cellules souches fœtales germinales par leur réglementation qui est beaucoup plus souple. L'utilisation de ces cellules ne soulève aucun problème d'éthique. [32]

✓ Les inconvénients des cellules souches fœtales.

Très peu de cellules souches sont présentes dans le sang du cordon ombilical. Il est donc primordial de mieux connaître ces cellules et leur besoins afin d'améliorer leur rendement et leur disponibilité pour des fins thérapeutiques. [35]

3-2-3 Cellules souches adultes.

a- Définition

Les cellules souches adultes sont probablement présentes et dispersées dans tous les organes du corps humain adulte ; peau, intestin, moelle osseuse, cerveau, muscle squelettique, cœur et foie.

Plus ou moins rassemblées dans des microenvironnements improprement appelés « niches », elles participeraient à la régénération de l'organe ou des tissus où elles sont situées en fonction des signaux biochimiques (facteurs de croissance spécifiques) envoyés et reçus.

Les cellules souches adultes sont **multipotentes** ou **unipotentes** mais elles sembleraient être dotées d'une certaine plasticité. [43]

b- Fonction :

Une cellule souche adulte somatique assure l'homéostasie, c'est-à-dire le maintien physiologique d'un organe ou d'un tissu, en remplaçant les cellules mortes, que ce soit naturellement ou après une lésion, assurant ainsi la pérennité de la fonction de l'organe pendant la vie de l'individu. Elle remplit cette fonction, d'une part en se multipliant à l'identique (ce qui évite le tarissement du réservoir de cellules souches), d'autre part, en se différenciant, acquérant ainsi les caractéristiques du tissu à réparer. [43]

c- Localisation :

Les cellules souches qui ont été identifiées avec certitude chez l'homme sont : les cellules souches nerveuses, hématopoïétiques, épidermiques, intestinales, osseuses, pancréatiques, hépatobiliaires, musculaires lisses et musculaires squelettiques ;(Figure 11)

Les cellules souches de trois tissus (sang, peau, intestin) fonctionnent en permanence, pendant la vie, pour renouveler régulièrement l'ensemble des cellules. Hormis celles de l'intestin, les deux autres sont déjà utilisées avec succès en thérapeutique. Quant à celles des autres tissus, elles ne sont activées que lorsque la nécessité d'une réparation se fait sentir. [43]

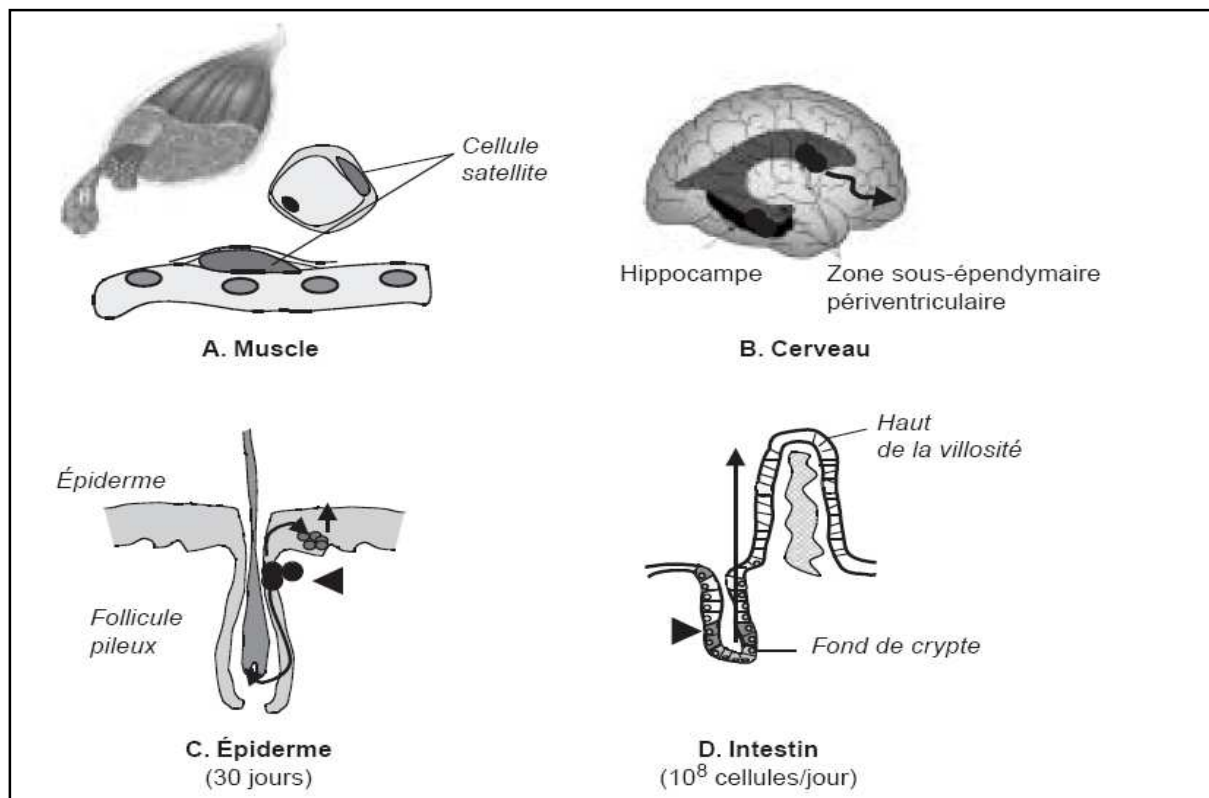


Figure 11: Localisation anatomique des cellules souches dans les différents tissus de l'organisme. [43]

d- Caractéristiques :

Les très nombreux travaux expérimentaux réalisés *in vitro*, ou après transplantation chez l'animal, permettent d'attribuer aux cellules souches adultes les caractéristiques suivantes qui les distinguent des cellules ES : [44]

- elles ne se multiplient pas à l'infini à l'état indifférencié ;
- elles sont très hétérogènes, compte tenu de la diversité des tissus de l'organisme auxquels elles appartiennent.
- Certaines sont “ *multipotentes* ” : C'est le cas des cellules souches hématopoïétiques et nerveuses.
- D'autres sont au contraire “ *unipotentes* ”, exemple : les cellules de l'épiderme qui ne produisent que des kératinocytes.
- D'autres enfin ont un “ *potentiel intermédiaire* ” : c'est le cas des cellules souches mésenchymateuses, localisées dans la moelle osseuse et qui produisent des cellules osseuses, cartilagineuses, et peut-être musculaires ; ou encore des hépatocytes foetaux, qui produisent des hépatocytes et des cellules biliaires. [45]

➤ La plasticité. [42, 46, 47 ,48]

La découverte du phénomène de « plasticité » des cellules souches représente un bouleversement de certains dogmes, et éventuellement une ouverture thérapeutique majeure pour plusieurs types d'affections intéressant quasiment tous les domaines de la médecine.

De nombreuses études *in vitro* et *in vivo* seront cependant nécessaires pour déterminer si ces observations pourront conduire à des approches de thérapie cellulaire chez l'homme.

La « plasticité » est la capacité que possède une cellule souche à acquérir différents programmes de différenciation dans certaines conditions de microenvironnement, plus le nombre de programmes qu'une cellule souche est en mesure d'acquérir est élevé, plus elle sera « plastique ».

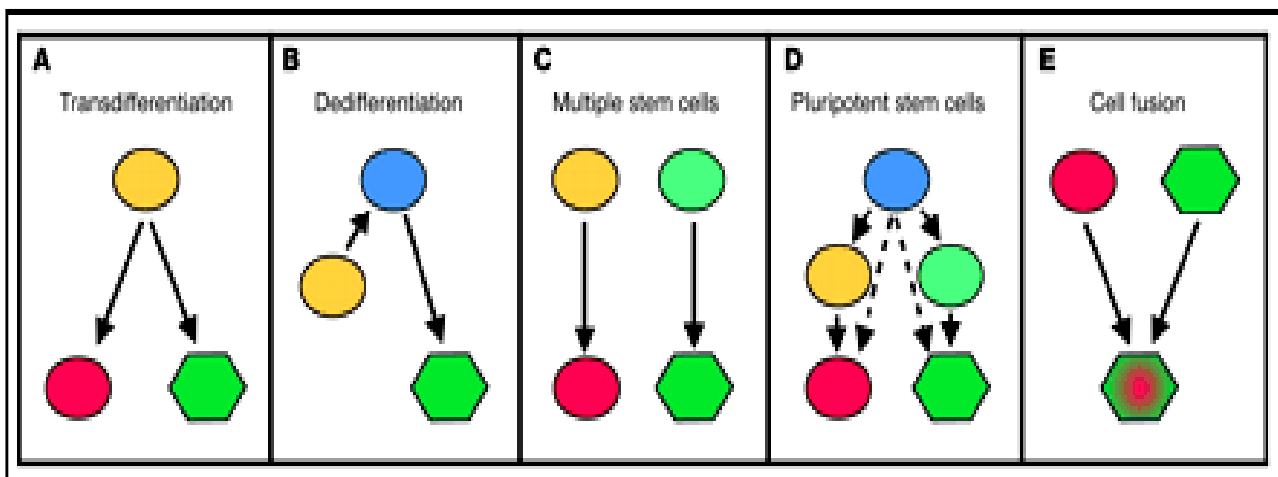


Figure12: Les différentes formes de plasticité des cellules souches adultes [42]

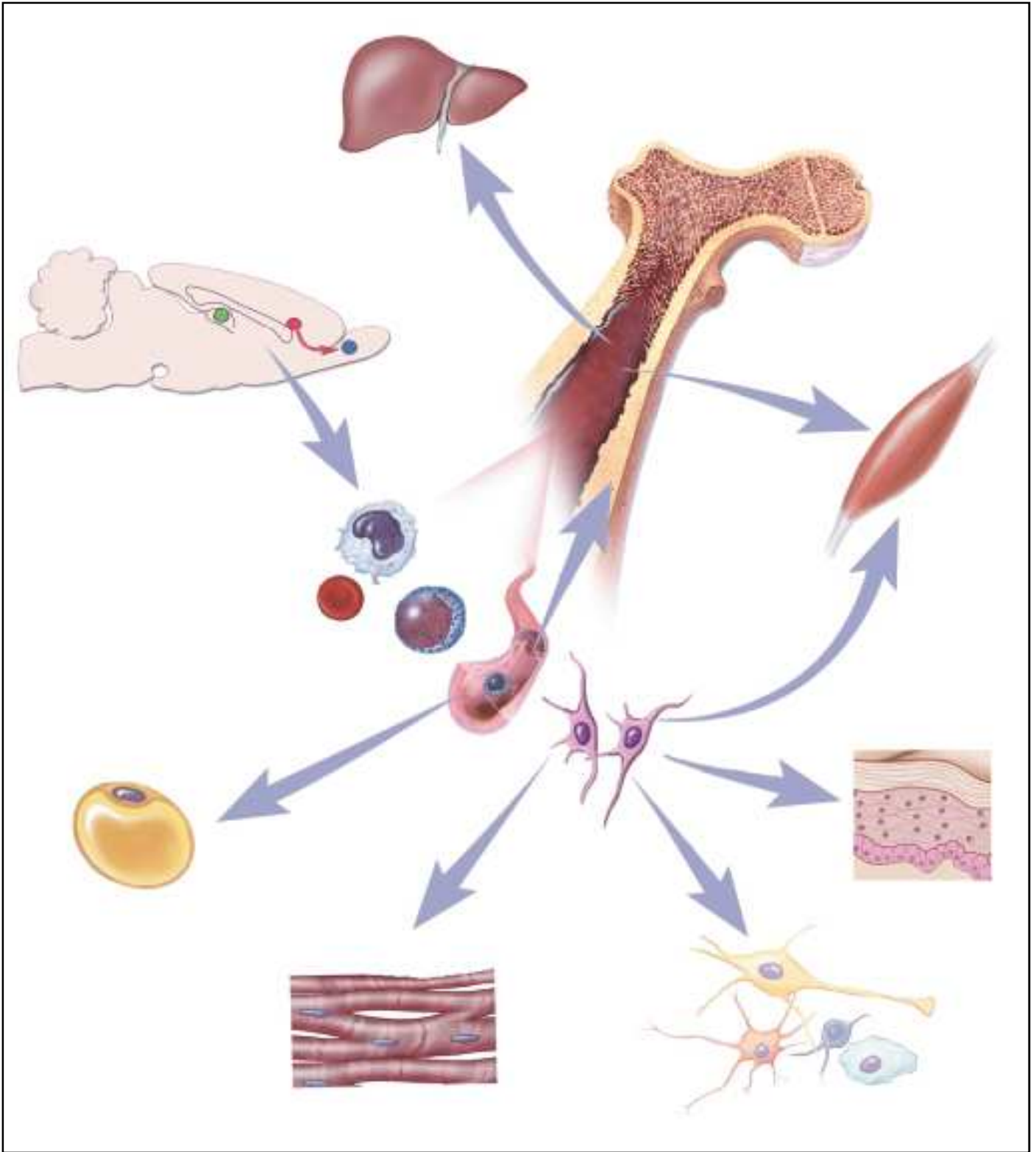


Figure 13 : la plasticité des cellules souches adultes. [19]

- **Plasticité par transdifférenciation.**

La plasticité par « transdifférenciation » caractérise le processus par lequel un précurseur voire une cellule différenciée se transforme en une cellule différenciée d'un autre type cellulaire ; (Figure 14) [51]

Ce phénomène paraît peu probable, malgré la documentation des phénomènes de transdifférenciation essentiellement *in vitro*. [47]

Dans la littérature, par manque de consensus des définitions et de concepts concernant les cellules souches, les notions de « multipotence » « transdifférenciation » « plasticité » sont souvent amalgamées.

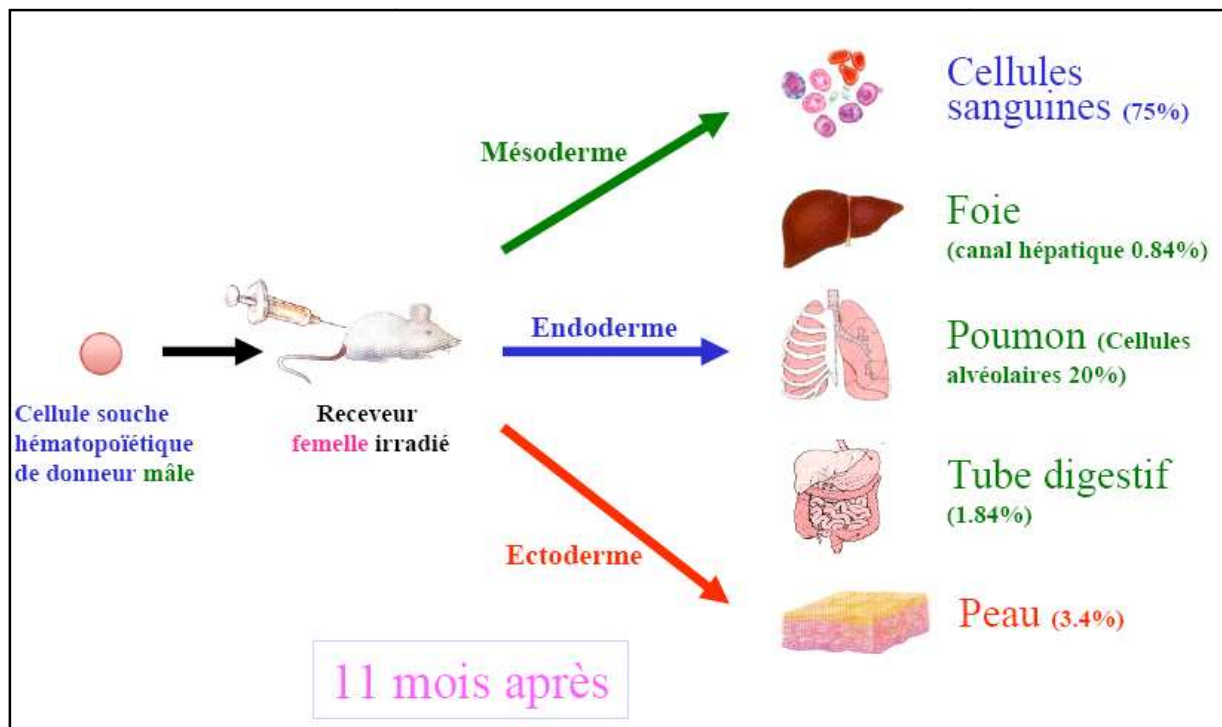


Figure 14 : le phénomène de transdifférenciation. [51]

- **Plasticité par dédifférenciation.**

La dédifférenciation caractérise le processus par lequel une cellule différenciée se transforme en une cellule différenciée d'un autre type cellulaire à condition qu'elle se dédifférencie en progéniteur ; (Figure 15) [52]

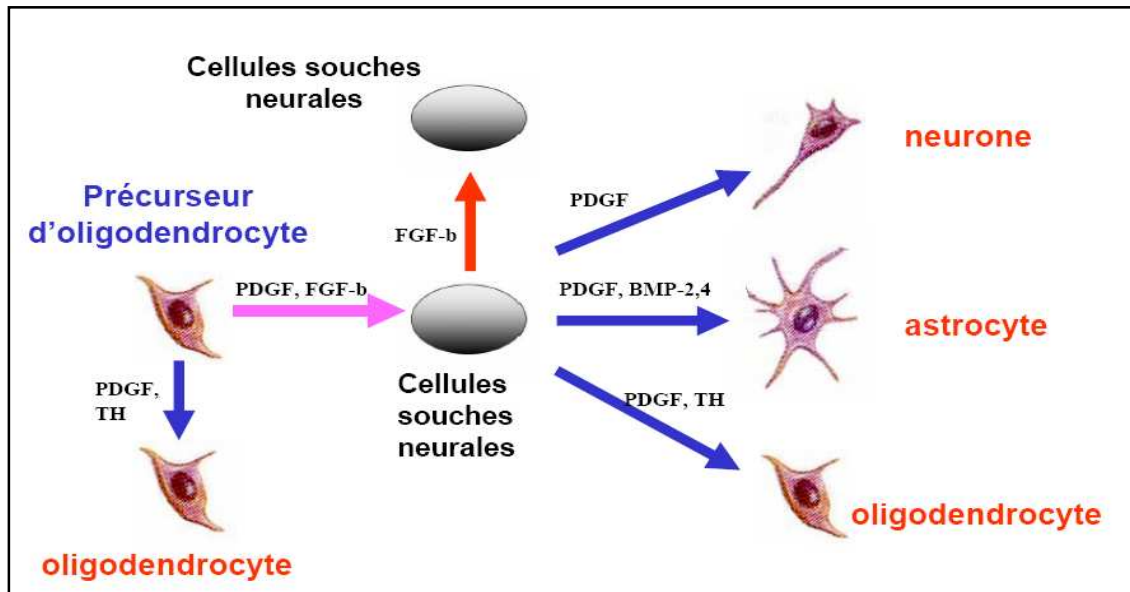


Figure 15 : Le phénomène de dédifférenciation. [52]

- **Le mécanisme de fusion cellulaire.**

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

La confusion peut donc s'installer entre le phénomène de la plasticité suspectée et les phénomènes de fusions observées. En effet, des cellules souches transplantées ont présenté une fréquence de fusion élevée avec les cellules du parenchyme tout en acquérant le phénotype de ces dernières, donnant l'illusion d'une plasticité ou d'une «trans-différenciation »

Comme exemple, il s'agit du repeuplement du foie d'une souris malade par des cellules souches hématopoïétiques d'une souris normale. Néanmoins, les chercheurs estiment que la fréquence spontanée des phénomènes de fusion cellulaire apparaît très faible, au moins dans les tissus normaux et ne semble pas en mesure d'expliquer tous les résultats publiés. [53, 54]

e- Les différents types des cellules souches adultes.

✓ les cellules souches adultes présentes dans la moelle osseuse.

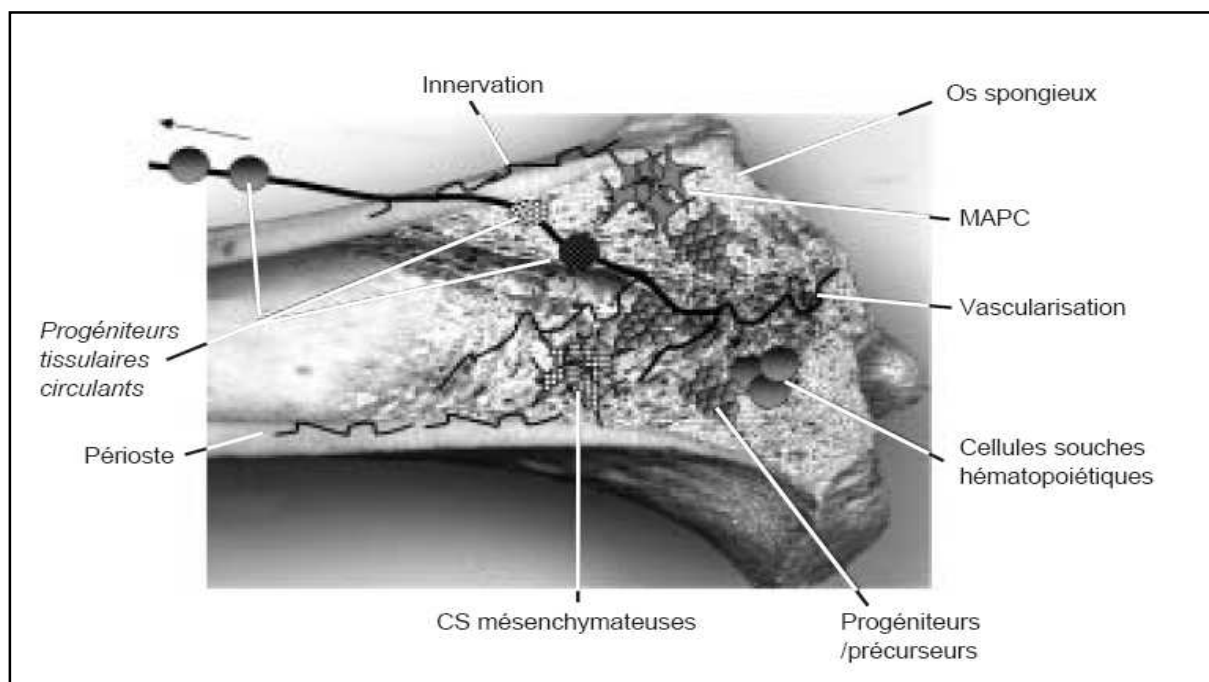


Figure 16 : Différentes populations de cellules souches identifiables dans la moelle osseuse. [43]

- **Les cellules souches hématopoïétiques.**

Elles sont les plus connues. Elles sont capables de se différencier en globules blancs, en globules rouges et en plaquettes. Placées dans un organe ou un tissu différent, les cellules souches hématopoïétiques peuvent aussi engendrer du muscle, du foie ou des cellules nerveuses ; [19 ,43] (Figure 17)

Ces cellules peuvent être extraites de la moelle osseuse ou du sang périphérique d'un patient pour lui être injectées autant qu'il en a besoin. On peut envisager la même pratique à partir d'un donneur apparenté ou non, et mieux à partir de sang de cordon.

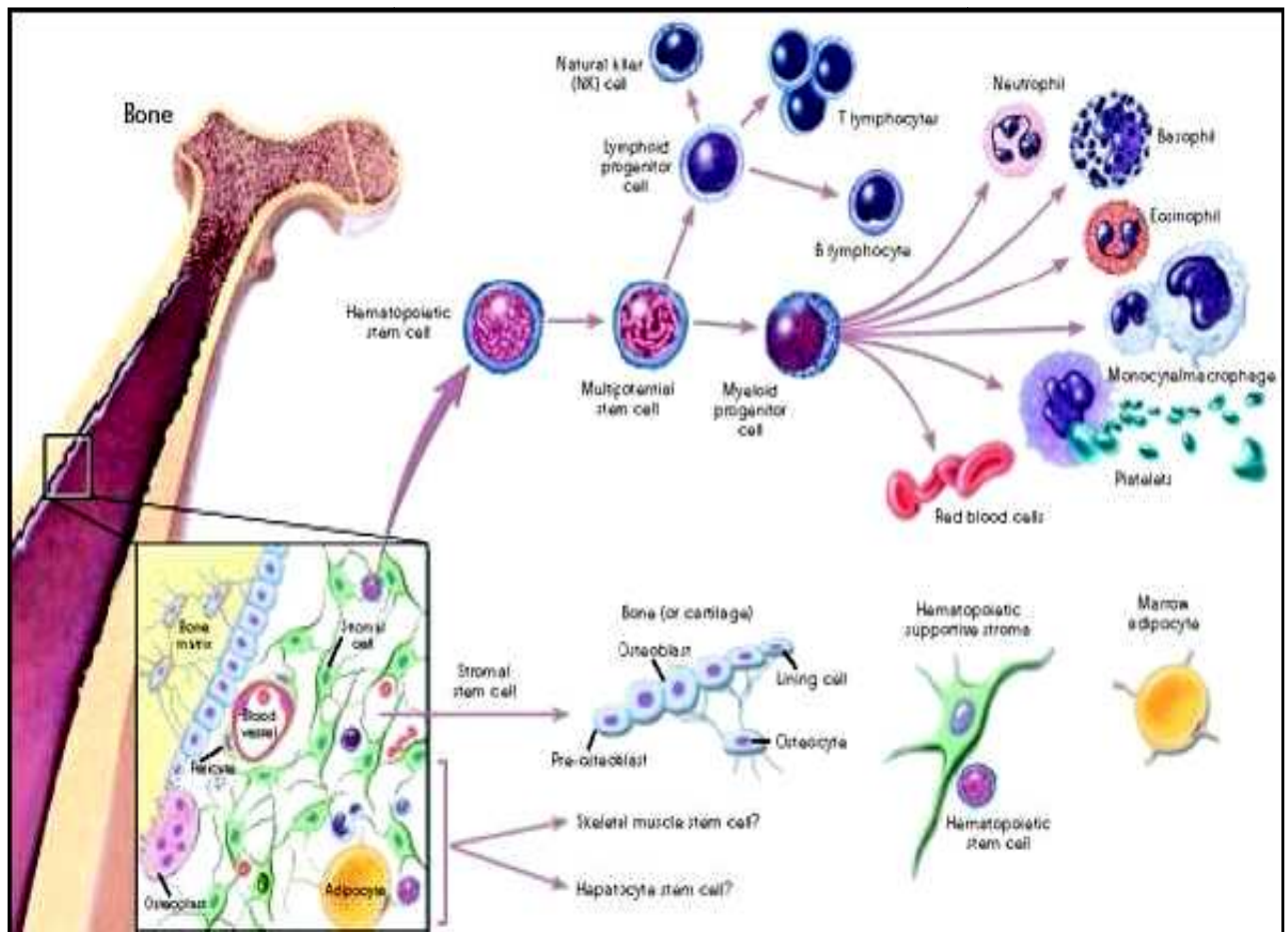


Figure 17 : les cellules souches hématopoïétiques. [19]

- **Les cellules souches mésenchymateuses.**

Ce sont des cellules d'origine embryonnaire. Elles proviennent de cette structure particulière de l'embryon que l'on appelle le mésenchyme, elles peuvent se différencier en différents tissus tels que le muscle, le tissu conjonctif ou le sang. On sait aussi depuis un article publié en 1999, qu'elles peuvent engendrer du cartilage, de l'os, des tendons et même du tissu adipeux [43 ,55].

Les résultats de ces expériences pratiquées chez l'animal pourraient ouvrir des perspectives très prometteuses s'ils se confirmaient chez l'homme.

- **Les progéniteurs des cellules endothéliales.**

Il semble aussi que des progéniteurs des cellules endothéliales aient été identifiés dans la moelle. Néanmoins, un nombre d'expériences chez l'animal confirment les possibilités ouvertes pour leur utilisation. Ainsi, chez l'animal, l'injection de cellules souches médullaires, contenant par conséquent ces progéniteurs endothéliaux, s'est montrée bénéfique pour favoriser la revascularisation, soit le rétablissement de la circulation sanguine, dans des lésions cérébrales, rétinienes et cardiaques. [43 ,56]

- ✓ **Les cellules souches qui renouvellent la peau et le muscle**

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

l'épiderme mais aussi celles des glandes sudoripares, des glandes sébacées et des phanères (poils, ongles).

Le **muscle** fournit aussi un modèle d'organe doté de très grandes capacités régénératrices. [43]

✓ *L'intestin, le poumon, le foie et les reins.*

La bonne connaissance des cellules souches intestinales n'a d'égale que la mauvaise caractérisation des cellules souches hépatiques ainsi que des cellules souches du poumon et du rein. Cependant des résultats encourageants ont néanmoins été obtenus chez l'animal.

La présence des cellules souches dans la muqueuse de l'**intestin** permet probablement la régénération des entérocytes, des glandes muqueuses et des autres structures de l'intestin. [43]

✓ *Des découvertes récentes : le coeur, l'oeil et le pancréas*

Des travaux de recherches avaient indiqué que des cellules souches ont été découvertes dans le **coeur**. Néanmoins, les essais cliniques actuels pour trouver une thérapeutique à des maladies cardiaques tel que l'infarctus, utilisent des cellules souches adultes de **moelle osseuse**. L'application pratique de cette méthode, rend nécessaires de nombreux essais complémentaires. [57]

Selon de récentes publications, des cellules précurseurs pouvant se transformer en îlots de Langerhans – les cellules responsables de la sécrétion d'insuline dans le **pancréas**- auraient été identifiées. Toutefois, si l'on était capable d'isoler des cellules précurseurs responsables de la sécrétion d'insuline, d'extraordinaires perspectives thérapeutiques de traitement du diabète pourraient être envisagées.

Les recherches actuelles à un stade fondamental, ne permettent pas d'ouvrir de telles perspectives. [43]

Enfin, des chercheurs ont prouvé que des cellules souches adultes ont été localisées dans la zone ciliaire de **l'oeil**. [58]

f- Des cellules souches adultes au potentiel pluripotent

La pluripotence de certaines cellules souches adultes semblent avoir été mise en évidence à travers les *Multipotent Adult Progenitor Cells* (MAPC) par un certain nombre d'équipes qui tentent actuellement à démontrer que des cellules souches aux caractéristiques proches de celles des cellules souches embryonnaires existent toujours chez l'adulte, localisées dans divers tissus, elles seraient cependant très rares.

Les résultats les plus notables sont ceux obtenus par l'équipe d'une biologiste belge à l'université de Minneapolis, Catherine Verfaillie. Dans un article paru en 2002, son équipe démontre qu'il existe dans la moelle osseuse, voire dans tous les organes, un type de cellules précurseurs qui ne peuvent pas vraiment être distinguées des cellules souches mésenchymateuses. Ces cellules souches, en vertu des définitions données précédemment ne sont pas seulement multipotentes mais bien **pluripotentes**, comme les cellules souches embryonnaires. Elles ont été nommées donc les MAPC.

Cette découverte, bien que très difficilement reproductible, a suscité un vif intérêt dans la communauté scientifique, militant en faveur de la recherche sur les cellules souches adultes dont les potentialités sont peut être plus importantes que ce qui est attendu. Elles représentent donc de formidables perspectives pour la médecine régénératrice dans l'avenir. [59]

g- Avantages et inconvénients :

✓ *Les avantages des cellules souches adultes*

Les cellules souches adultes pourraient s'avérer être le meilleur choix pour la thérapie cellulaire vu leurs multiples avantages :

▪ Une meilleure tolérance immunitaire dans certains cas.

Tout processus de greffe allogénique de cellules souches adultes comporte des risques de rejet puisque les antigènes du système majeur d'histocompatibilité (HLA) sont clairement exprimés à leurs surfaces membranaires. Cette difficulté ne se pose évidemment pas lorsqu'il s'agit d'une autogreffe. [33]

▪ Une plus grande stabilité chromosomique.

Les cellules souches embryonnaires possèdent un fort potentiel régénérateur mais leur instabilité chromosomique tolérée pose un problème pour l'efficacité thérapeutique. Les cellules souches adultes ne se heurtent pas aux mêmes difficultés du fait de leur plus grande différenciation. Il est techniquement plus facile de maîtriser leur évolution. [60]

▪ Des réticences éthiques moins problématiques

Les techniques de récolte comme les lieux d'obtention de la majeure partie des cellules souches adultes ne posent pas problème : les procédures d'application étant codifiées, le prélèvement de telles cellules relève légalement du don d'un adulte informé et consentant. [32]

- **possibilités de reprogrammation des cellules souches adultes**

De plus, il pourrait s'avérer possible ultimement de bénéficier de leur plasticité et les reprogrammer pour qu'elles abandonnent leur spécialisation et redeviennent des cellules souches, ou de contraindre des cellules spécialisées d'autres types tissulaires. [42]

- ✓ *les inconvénients des cellules souches adultes ; des défis pour l'avenir*

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

- **Les difficultés de localisation des cellules souches dans les tissus et les organes.**

La première difficulté posée par la récolte des cellules souches adultes concerne leur localisation et leur rareté. L'absence de **marqueurs spécifiques** de ce type de cellules complique leur identification. Même si on présuppose leur présence dans l'ensemble des organes du corps humain, les recherches sont encore dans l'impossibilité de le démontrer. [43]

- **La faible capacité de prolifération *in vitro*.**

Il apparaît très difficile, à ce jour, de produire de bons milieux favorables à la prolifération des cellules souches adultes. Ces cellules perdent, en culture *ex vivo*, une part de leur potentiel d'autorenouvellement mais aussi de leur caractère multipotent. Elles sont, de plus, très difficiles à conserver.

▪ **Une moindre efficacité.**

- elles ne permettent pas de couvrir l'ensemble des pathologies potentiellement accessibles à la thérapie cellulaire,
- elles paraissent efficaces pour traiter des lésions peu étendues, elles se révèlent décevantes pour les maladies neuro-dégénératives graves,
- elles ont **une faible** capacité de homing (aptitude des cellules greffées et redifférenciées à se diriger et à se localiser dans les **zones tissulaires ou organiques** à traiter). [43, 61]
- diminuent en nombre au fur et à mesure du vieillissement du sujet.

▪ **Un risque cancérigène faible mais présent**

Le risque de développement d'un cancer après greffe autologue de cellules souches est souvent lié à leur rareté dans les prélèvements effectués qui pousse à devoir les cultiver *in vitro* pour les faire proliférer : la probabilité de faire apparaître en culture des cellules cancéreuses est vraisemblablement proportionnelle au nombre de divisions successives auxquelles on doit soumettre ces cellules pour en récolter des nombres suffisants pour l'action thérapeutique envisagée. La cancérogenèse dépend peut être de l'emballement incontrôlé de cette multiplication. Ce risque semble moins élevé avec des cellules souches adultes différenciées, qu'avec des cellules souches embryonnaires.

En situation de greffe allogénique adulte, il existe un risque carcinogène spécifique tenant à la transmission au receveur de cellules malades éventuellement présentes auparavant chez le donneur. [34]

h- notion de niche cellulaire.

Les cellules souches adultes sont souvent localisées dans des environnements cellulaires qui les protègent, appelés **niches**. Ces niches sont composées non seulement des cellules souches elles-mêmes, mais également d'autres types cellulaires de soutien qui génèrent un environnement riche en facteurs et molécules **servant à maintenir l'état indifférencié des cellules souches**.

La plupart des cellules souches sont localisées dans des niches complexes (qu'il s'agisse des cellules stromales de la moelle osseuse, ou des cellules des cryptes intestinales) ; (Figure 18)

Certaines cellules souches ne sont pas entourées de cet environnement cellulaire particulier. On cite les cellules satellites du muscle adulte, qui sont quiescentes et se positionnent sous une membrane basale accolée à la fibre musculaire. [62]

Aujourd'hui, les laboratoires de recherche déploient des efforts très importants pour améliorer les connaissances sur les niches afin de pouvoir les reconstituer *in vitro* et pouvoir cultiver les cellules souches adultes au laboratoire, pour leur utilisation en thérapie cellulaire.

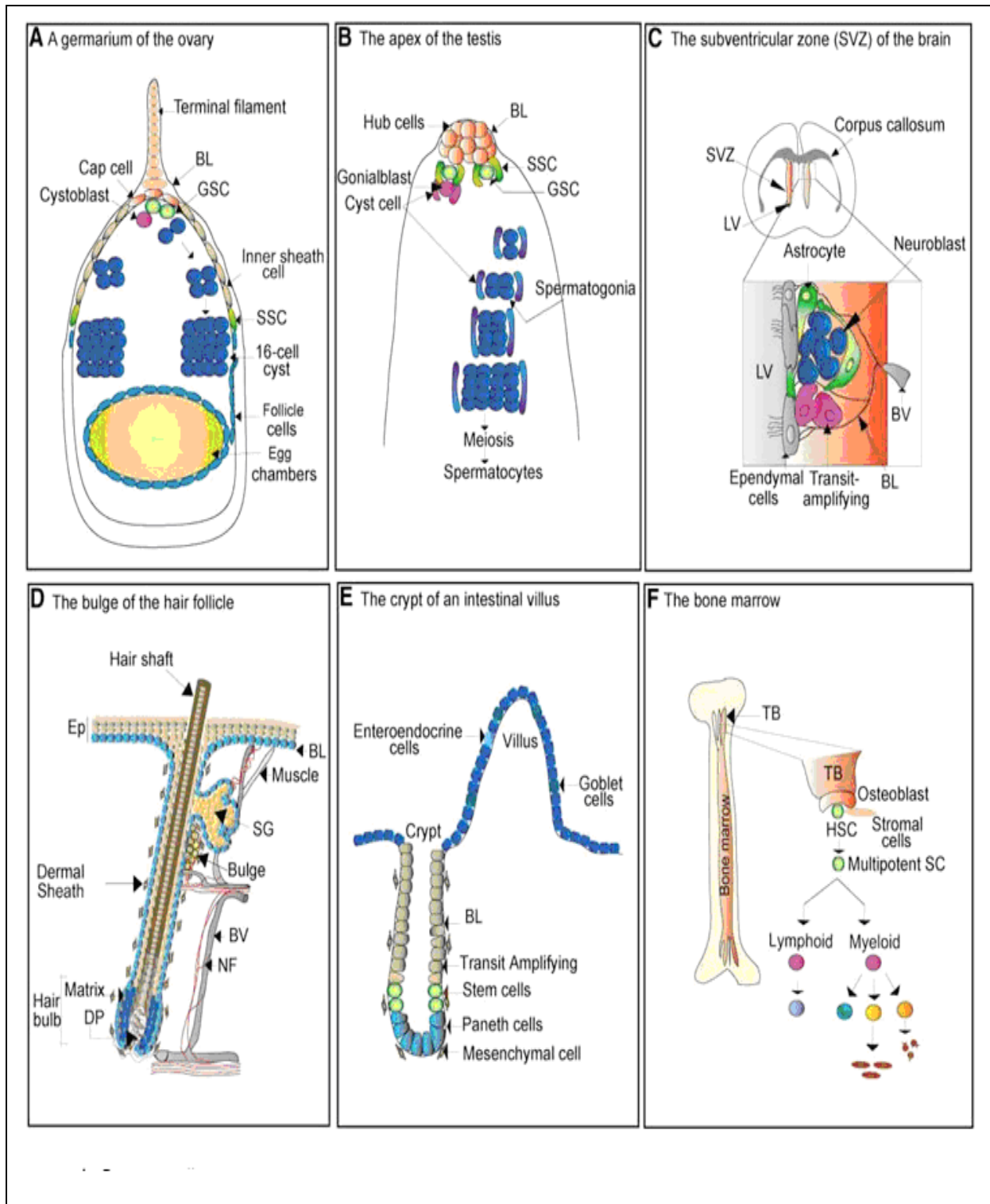


Figure 18 : cellules souches et leurs niches [62]



2EME PARTIE :

*THÉRAPIE CELLULAIRE ET
MÉDECINE RÉGÉNÉRATRICE*



1. Définition.

La thérapie cellulaire concerne les produits biologiques à effet thérapeutique issus de préparation de cellules vivantes humaines ou animales. En pratique, la thérapie cellulaire consiste en l'injection de cellules humaines dans le but de prévenir, traiter ou atténuer une maladie. Il s'agit de réparer des tissus lésés grâce à de nouvelles cellules qui vont les reconstruire : on utilise des cellules pour réparer des tissus endommagés, ou des cellules transformées pour apporter dans des tissus des molécules manquantes. [63, 64]

2. Enjeux et perspectives.

La thérapie cellulaire constitue une alternative aux greffes d'organes et de tissus, qui ne permettent de soigner que certains cas. En effet, de nombreuses maladies entraînent une destruction cellulaire pour laquelle la seule solution serait une greffe. Aux problèmes de compatibilité, s'ajoute la faible offre de greffons par rapport au nombre de personnes malades. Si on arriverait à produire des tissus à partir de cellules souches adultes provenant de la personne elle-même (cellules «autologues»), on résoudrait le problème du donneur et on écarterait les risques de rejet ! La finalité de ce projet est tout aussi simple qu'ambitieuse :

- greffer des cellules plutôt que remplacer des organes ou des tissus
- préserver un capital fonctionnel
- éviter les traitements immunosuppresseurs à vie...

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

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

Les avancées déjà réalisées sont nombreuses, celles attendues et espérées le sont plus encore. On peut s'attendre à un développement considérable de la thérapie cellulaire dans les prochaines années, offrant des possibilités thérapeutiques pour des pathologies encore sans solution. [65, 66]

3. Différentes applications thérapeutiques.

Conceptuellement, il n'y a pas de domaine « interdit » à la thérapie cellulaire. Cependant, l'extrême complexité structurelle et fonctionnelle des cellules, des tissus et des organes de notre corps nuance les perspectives. [63]

Néanmoins, les domaines thérapeutiques dans lesquels les perspectives d'utilisation de la thérapie cellulaire semblent réalistes sont nombreux : hématologie, dermatologie, rhumatologie, cancérologie, ophtalmologie, neurologie, cardiologie, hépatologie... tableau II

Tableau I : Les principales applications en thérapie cellulaire. [63]

Cellules souches transformées en :	Applications :
Cellules nerveuses spécialisées (Neurones, cellules gliales, ...)	<u>Maladie de Parkinson</u> , maladie d'Alzheimer et autres maladies neurodégénératives, traumatismes de la moelle épinière, sclérose en plaques...
Cellules du muscle cardiaque (cardiomyocytes)	<u>Infarctus du myocarde</u> , insuffisance cardiaque, consolidation du muscle cardiaque (cardiomyoplastie) dans des malformations cardiaques.
Cellules produisant de l'insuline (Ilots de Langerhans)	<u>Diabète</u>
Cellules du cartilage (chondrocytes)	Arthrite, arthrose
Cellules sanguines	Cancer, immunodéficience, leucémie, maladie sanguine génétique
Cellules du foie (hépatocytes)	Hépatite aiguë ou chronique, cirrhose, cancer du foie
Cellules de la peau	<u>Brûlures</u> , cicatrisation des blessures
Cellules osseuses	Pertes osseuses (tumeurs, métastases), fractures, Ostéoporose
Cellules de la rétine	Dégénérescence maculaire liée à l'âge, cécités héréditaires
Cellules des muscles squelettiques	Dystrophie musculaire, amyotrophies, pertes musculaires de diverses causes ...

3. Exemples de projets de recherches.

Dans cette logique, nous proposons de distinguer, dans cette partie de notre étude entre :

- une application déjà éprouvée de la thérapie cellulaire qu'est la **greffe de cellules de la peau**.
- les applications expérimentales pour la réalisation des greffes de cellules fœtales et adultes notamment pour le traitement des maladies neurodégénératives telle la maladie de **parkinson** et la régénération du **cœur infarci**.
- et une dernière application où les résultats sont encore au stade théorique et ne sont expérimentés que chez les rats « le repeuplement des îlots de langerhans pour le traitement du **diabète type1** ».

1. Définition

La peau est un organe complexe recouvrant le corps en entier. Son poids totalise environ 15 % du poids total du corps adulte, ce qui lui vaut le titre du plus grand et du plus important organe du corps humain. Elle assure plusieurs fonctions nécessaires à la survie de l'organisme comme la protection contre les agressions physiques, chimiques et biologiques extérieures.

Elle a aussi un rôle dans la régulation thermique, l'excrétion, l'immunité, la synthèse de la vitamine D et elle constitue un excellent capteur d'informations extérieures grâce aux milliers de terminaisons nerveuses qu'elle contient. De plus, les nombreux vaisseaux sanguins qui traversent le derme transportent de 8 à 10 % du sang en circulation dans le corps, ce qui fait de la peau un important réservoir sanguin. [67]

L'âge, la race, le sexe viennent modifier l'apparence de la peau, mais sa structure de base demeure toujours la même.

En effet, la peau est composée de trois couches principales : l'épiderme, le derme et l'hypoderme ; dont les cellules interagissent ensemble afin d'assurer les différentes fonctions de la peau. La partie la plus superficielle, l'épiderme, est mince et composée d'un épithélium pavimenteux stratifié et kératinisé. Elle est attachée à une couche interne plus épaisse, formée de tissu conjonctif, le derme. La dernière couche, l'hypoderme, est la couche sous-cutanée, composée

de tissus conjonctifs auréolaires et adipeux. Les fibres du derme s'y rattachent et fixent ainsi la peau puisque l'hypoderme est lui-même fermement attaché aux tissus et organes sous-jacents [67]

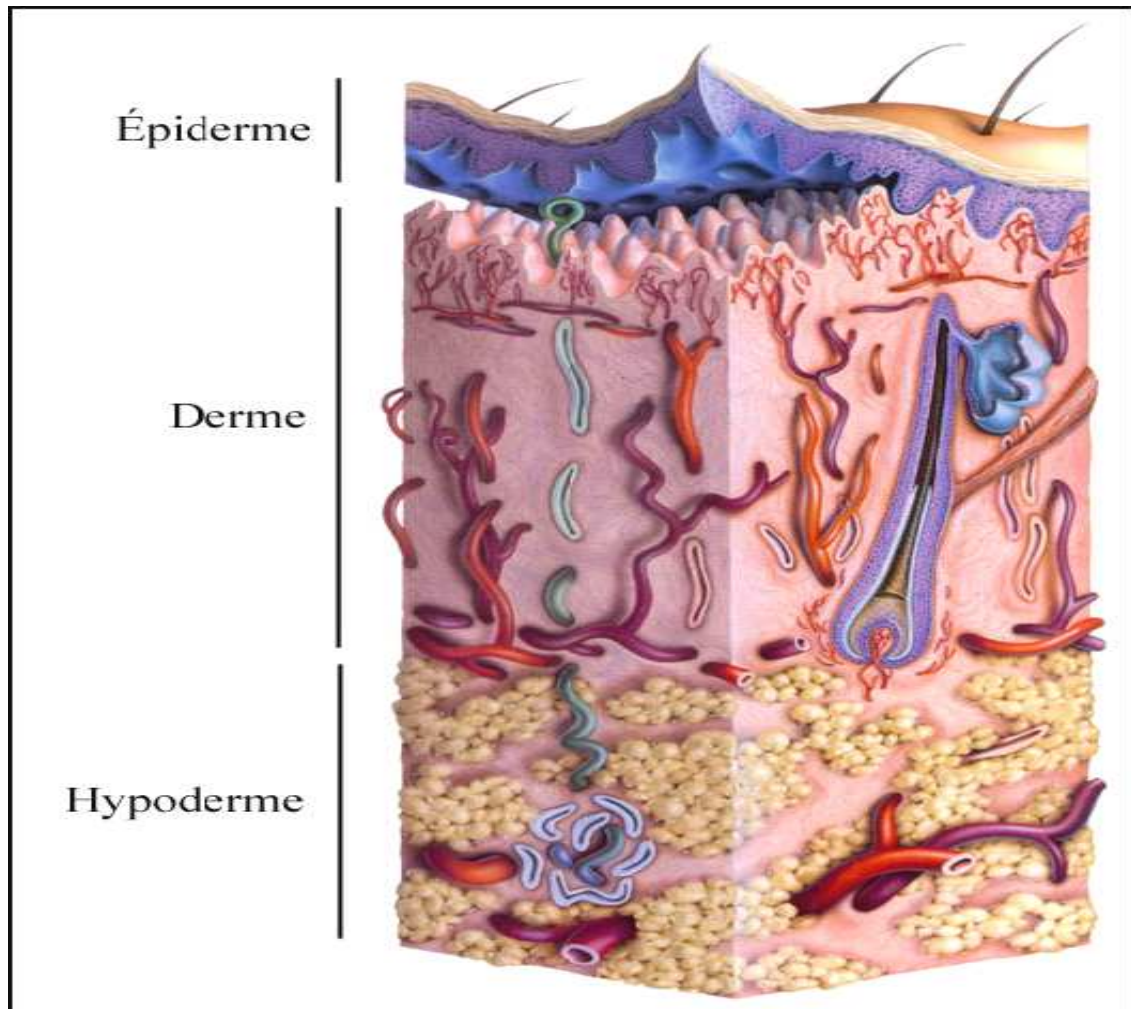


Figure 19 : La peau normale humaine [67]

Ainsi la zone germinative responsable du renouvellement de la peau se trouve dans l'épiderme où les cellules basales, qui sont le siège de mitoses continues, migrent progressivement vers la surface et deviennent des kératinocytes assurant le renouvellement de la peau en 27 jours, puis meurent du fait de la kératinisation progressive, et deviennent des cornéocytes. [43,68]

2. Historique de traitement des grands brûlés

Le pronostic vital du brûlé grave est directement menacé par le maintien en place de vastes placards de nécrose cutanée. Leur excision chirurgicale est donc une nécessité. Mais ce principe n'est devenu réalité que dans les années 1970, quand les progrès de la réanimation ont significativement réduit la mortalité opératoire. Une véritable révolution culturelle a alors suivi, qui a bouleversé la prise en charge du brûlé grave, il s'agit de la greffe de peau.

Le traitement de ces patients nécessite donc le recouvrement des parties brûlées le plus vite possible par la greffe de peau autologue, qui consiste à enlever la peau d'un endroit et de la transplanter à un autre sur le même individu. Le manque de sites donneurs, pour les patients qui sont brûlés sur de grandes surfaces, a rapidement obligé les médecins à trouver des solutions de rechange, telle la peau de cadavre qui a été utilisée pour longtemps comme recouvrement temporaire. Elle est essentielle pour les patients atteints de blessures sévères de nature chimique, mais elle représente une solution provisoire. Les allogreffes (peau enlevée d'une personne et transplantée sur un autre individu génétiquement non identique) sont sujettes au rejet, car les antigènes présents dans le tissu donneur peuvent déclencher une réaction immunitaire chez le receveur. [69]

De nos jours, la thérapie cellulaire est devenue une application courante utilisée chez les grands brûlés par la greffe de feuillets épidermiques autologues ou équivalents cutanés préparés *in vitro* remédiant ainsi les problèmes cités au dessus .

3. La thérapie cellulaire

La thérapie cellulaire est devenue une solution très intéressante pour la réparation de tissus dégénérés ou endommagés. Son objectif est de répondre à un certain nombre de besoins thérapeutiques actuellement non satisfaits.

Des applications concrètes sont d'ores et déjà disponibles dans le domaine des brûlures et des plaies cutanées chroniques grâce à l'utilisation de **greffons de feuillets épidermiques** composés de kératinocytes autologues cultivés. Bien qu'effective, la greffe reste imparfaite et certains annexes cutanés comme les glandes sébacées et sudoripares ne se reforment pas.

Une régénération plus rapide et de meilleure qualité de la peau consisterait à greffer des **cellules souches adultes**, ce qui nécessiterait de disposer d'un grand nombre de ces cellules. Dans ce but, il importe de pouvoir isoler ces cellules souches à partir de kératinocytes adultes en culture, l'identification des cellules souches cutanées chez l'homme se révèle toutefois très délicate. Ces cellules sont en effet rares et souvent confinées dans des zones bien précises. Par ailleurs, la majorité des travaux ont été réalisés chez la souris et les résultats ne sont pas forcément superposables à l'homme, car la structure des follicules est assez différente entre les deux espèces. En effet, la définition des cellules souches est essentiellement fonctionnelle ou non morphologique ou liée à tel ou tel marqueur. Il faut par ailleurs se méfier des raccourcis trompeurs : certains **marqueurs** initialement considérés comme fiables et spécifiques ont été abandonnés au fur et à mesure des avancées techniques. [70]

Dans de récents travaux les chercheurs montrent également la possibilité d'utilisation des cellules souches issues de la moelle au lieu de cellules souches présentes dans l'épiderme, ce qui est porteur de potentialités innovantes en terme de cicatrisation cutanée.

Néanmoins, **les cellules ES** sont considérées parmi les cellules candidates. La réalisation de leur perspective thérapeutique n'est pas toujours éthiquement acceptée. [70, 71]

3.1 Les équivalents cutanés

Un substitut ou un équivalent cutané est un tissu naturel ou semi synthétique capable de remplacer provisoirement la peau brûlée. Cette technique est pratiquée aujourd'hui de façon courante. Ces greffes tirent profit des capacités de régénération dont sont dotées les cellules souches de l'épiderme. On sait qu'une assise cellulaire épidermique s'élimine toutes les 24 à 48 heures par desquamation de la couche cornée et que l'épiderme se renouvelle en totalité en quelques dizaines de jours.

Ces greffes sont, en règle générale, autologues : on prélève par biopsie sur le patient un fragment de peau de très faible dimension que l'on met en culture afin d'en accroître la surface. Le greffon peut ensuite être placé sur la plaie sans susciter de réactions immunitaires. [69, 70, 71, 72]

Schématiquement les solutions actuellement proposées dérivent plus ou moins directement de 3 techniques : [69]

- 1- les substituts épidermique : Culture de kératinocytes sur une couche nourricière de fibroblastes irradiés aboutissant à la formation **de feuillets d'épiderme** ; les substituts autologues ou culture d'épithélium autologue (CEA) [Epibase®, Epicel®] : plusieurs techniques de culture en laboratoire et d'application in situ sont disponibles : CEA en couches multiples, sur support de transfert ou en suspension [74], ou allogéniques [CryoCeal® et TransDerm®].
- 2- les substituts dermiques : sont faits de matrice de collagène et protéoglycane (acellulaire) recouverte d'une feuille de silastic (silicone) ["Integra®"; Integra Life Sciences Technology®] ; (Figure 28). Ou, cellulaire [Transcyte®] qui est cryoconservé et [Dermagraft®, Alloderm®] issu de peau de donneur et donc sans trame synthétique. [74]



Fig 20A: Greffe de peau artificielle
Intégra®

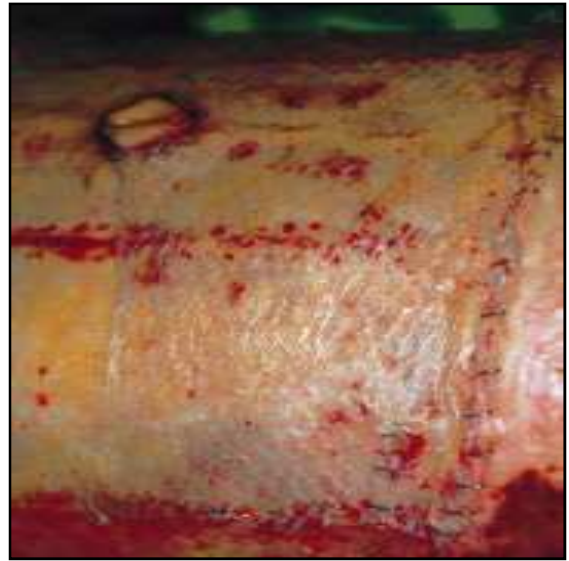


Fig 20B : Aspect de la peau après
l'autogreffe



Fig 20C : Aspect cicatriciel de l'Intégra®
à 5 semaines après la greffe



Fig 20D: Aspect cicatriciel de l'Intégra®
5 mois après la greffe

Figure 28 (A .B.C.D) : les aspects cicatriciels de l'Intégra® [69]

3- les substituts dermoépidermiques : la culture de fibroblastes dans un réseau de collagène aboutit, après contraction du réseau, à la formation d'un "derme équivalent" ;(Figure 29) qui peut être recouvert d'une culture de kératinocytes (épiderme) [Apligraf®; Polyactive™ et OrCel™].

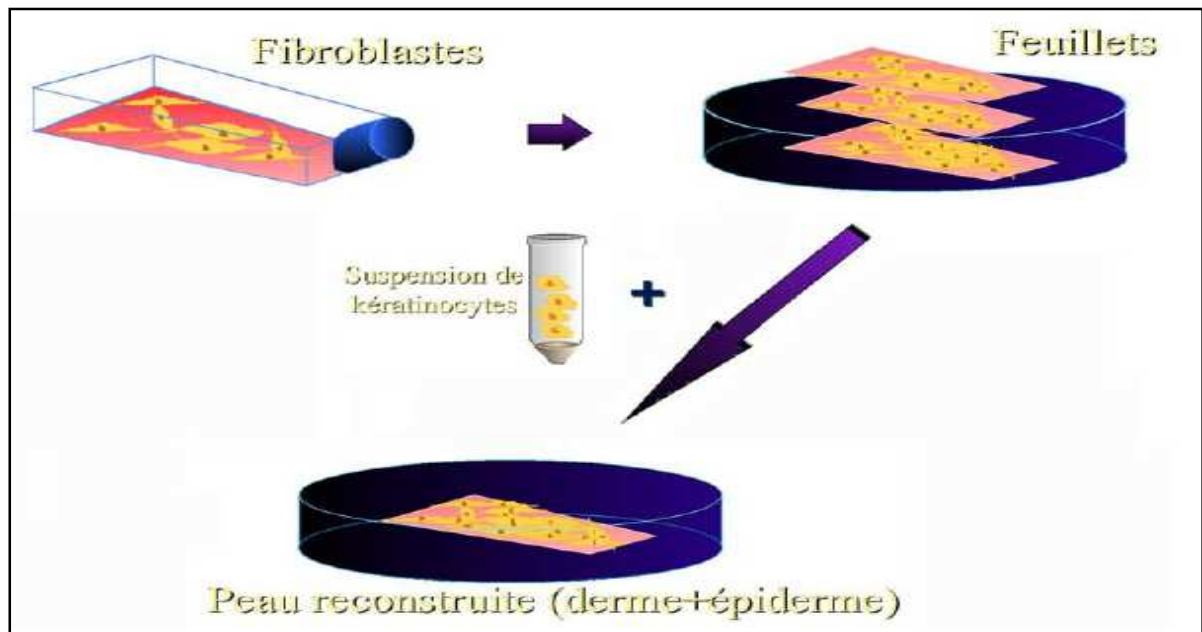


Figure 21 : production de peau «derme équivalent » [69]

Aussi dans le tableau ci contre, on trouve les différents substituts cutanés disponibles dans le marché, cependant aucun des modèles n'est universel. Il est à noter que les coûts de production des peaux reconstruites sont toujours aussi élevés et que les délais de fabrication sont aussi longs (environ un mois).

Tandis que, d'autres modèles plus complexes ont été élaborés, plutôt dans un but de recherche (avec cellules de langerhans, ou mélanocytes, ou cellules endothéliales ...). [70]

Tableau II : récapitulatif des différents substituts cutanés disponibles [70]

Nom du substitut	Type de substitut	Remarque
Epichel®	Epidermique	Autologue
Epibase®	Epidermique	Autologue
Transderm®	Epidermique	Allogénique
Cryoceal®	Epidermique	Cryoconservé
Integra ®	Dermique	Acellulaire
Dermagraft®	Dermique	Cellulaire
Transcyte®	Dermique	Cryoconservé
Alloderm®	Dermique	Issu de peau de don (cadavre)
Dermagen®	Dermique	En cours d'évaluation
Apligraf®	Dermoépidermique	Fibroblaste cultivé dans une solution de collagène
orCel®	Dermoépidermique	Fibroblaste cultivé dans une éponge poreuse préformé
Polyactive®	Dermoépidermique	Cryoconservé

En conclusion, il est possible de fabriquer artificiellement de l'épiderme. En revanche, il reste difficile de reconstituer tous les composants indispensables de la peau : fonction respiratoire, transpiration, sensibilité, capacités immunitaires, poils...De plus, en culture cellulaire, il est assez difficile de produire une peau sur une chaîne de montage. L'intervention humaine est donc requise avec les avantages et les complications que cela apporte. [70]

3.2 Les cellules souches adultes

➤ Les cellules souches épidermiques

L'équipe de Michèle Martin publie dans la revue scientifique *Stem Cells* leurs travaux sur la présence de cellules souches dans des cultures de peau humaine. Les chercheurs ont mis au point une technique permettant d'isoler les cellules souches à partir des kératinocytes (cellules de l'épiderme) d'adultes.

Michèle Martin explique "*une fois isolées, nous avons démontré que ces cellules souches avaient un potentiel de prolifération extraordinaire. Elles sont capables en culture de générer une descendance et même de recouvrir la totalité du revêtement cutané d'un être humain, soit près de deux mètres carrés, à partir d'un petit prélèvement de peau équivalent à deux timbres-poste*". Ces cellules peuvent également reformer un épiderme pendant douze mois alors que les kératinocytes en sont capables seulement pendant 30 jours. [75, 76]

Chez l'homme, la greffe des cellules souches adultes issues de kératinocytes serait une alternative prometteuse pour le traitement des grands brûlés et de certains cancers de la peau, mais aussi pour la recherche fondamentale.

➤ Les cellules souches mésenchymateuses

En mars 2006, en France, un succès thérapeutique a été obtenu dans le cadre d'une greffe cellulaire sur une main irradiée. La nouveauté réside dans l'utilisation de cellules souches issues de la moelle au lieu de cellules souches présentes dans l'épiderme ; (Figure 30)

Celles-ci ont été retenues à cause de l'importance et de la gravité des lésions qui

avaient probablement détruit les cellules souches de l'épiderme, très sensibles aux radiations. De plus, il s'agissait de profiter de la plus grande flexibilité qu'on leur prêtait.

Ces CSM humaines sont injectées par voie intraveineuse vingt quatre heures après irradiation. L'analyse du score clinique montre une diminution significative de la sévérité des lésions. Six semaines après l'exposition, la présence de cellules dérivées des CSM humaines est détectée dans les zones cicatricielles par PCR quantitative et en histologie. La main du patient a retrouvé un aspect structurel normal et a récupéré ses fonctions sensorielles. [79]

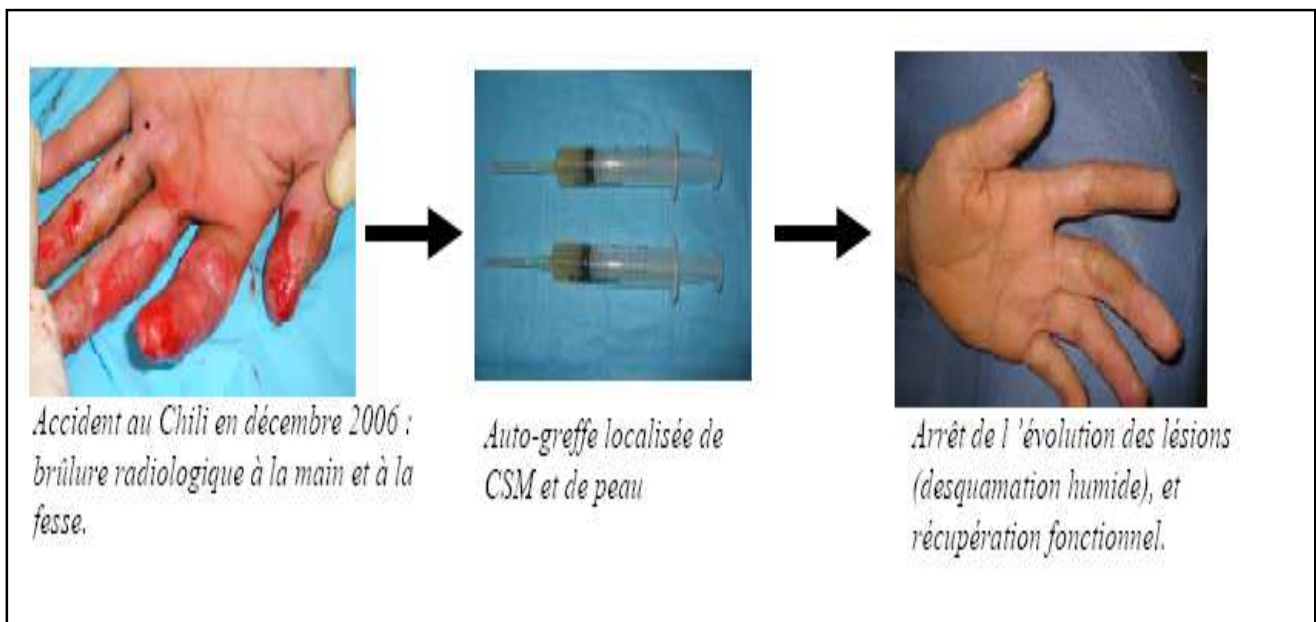


Figure 22 : Utilisation des cellules souches mésenchymateuses pour la reconstruction tissulaire et la récupération fonctionnelle après irradiation. [80]

Cependant, l'opération a plus consisté à fabriquer un pansement cellulaire donnant aux cellules du patient le temps de se reconstituer, plutôt qu'une réelle régénération.

Ces premiers résultats montrent toujours que les CSM injectées sont capables de migrer vers une lésion cutanée et de participer directement à sa réparation.

De telles observations sont en faveur de l'utilisation des cellules souches mésenchymateuses (CSM) en thérapie cellulaire et suscitent depuis lors un très grand intérêt de la part de nombreux laboratoires de recherche. [79 ,80]

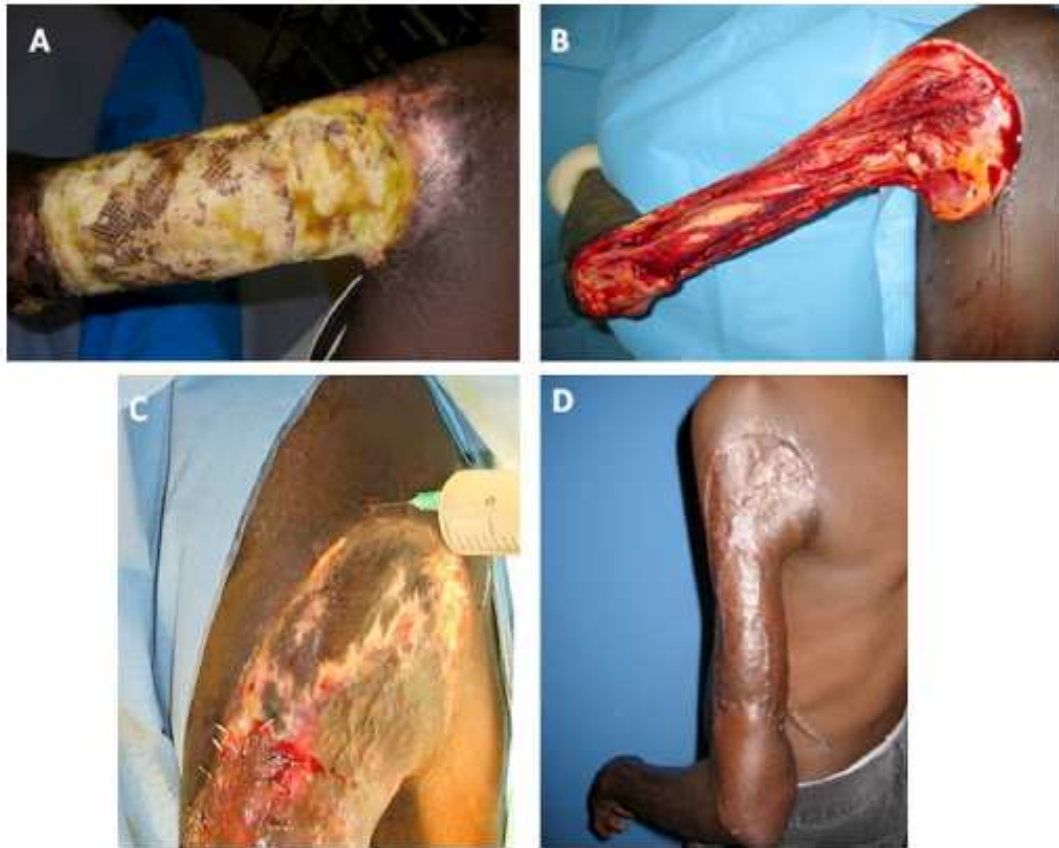


Figure 23 : Thérapie cellulaire de lésion de brûlure cutanée radio-induite

A. Lésion nécrotique de la face postérieure du bras

B. Exérèse des tissus nécrotiques musculo-cutanés

C. Injection locale de cellules souches médullaires autologues de culture associée à une autogreffe d'épiderme

D. Evolution favorable de la lésion au dixième mois [75]

3-3 Les cellules souches fœtales

Le recours à des greffons de tissus fabriqués à partir de cellules de peau foetale a permis de traiter rapidement huit enfants gravement brûlés. Ils étaient candidats à une autogreffe de peau, qui consiste à prélever des petits morceaux de peau saine sur un endroit du corps du patient pour les greffer sur les lésions afin que le revêtement cutané puisse se reformer. L'autogreffe s'adresse aux brûlures profondes, notamment celles du troisième degré (brûlure de toute l'épaisseur du derme) ne permettant pas une cicatrisation spontanée.

Dans le but d'améliorer la cicatrisation de telles brûlures, l'équipe du professeur Patrick Hohlfeld, de l'hôpital universitaire de Lausanne, en Suisse, s'est intéressée à l'obtention de peau grâce aux biotechnologies. Elle a ainsi développé une banque de cellules de peau foetale à partir d'un don de 4 cm² de peau foetale. Après interruption d'une grossesse de 14 semaines, une femme a donné son consentement au prélèvement sur le fœtus et l'équipe a reçu l'approbation d'un comité d'éthique.

Les scientifiques notent que plusieurs millions de morceaux cutanés (9 x 12cm) convenant à un usage thérapeutique peuvent être produits à partir de ce seul don d'organe. Les médecins ont placé les greffons, petits morceaux de tissus cutanés d'origine foetale sur les lésions des petits brûlés. De tels pansements cutanés ont été ensuite régulièrement ajoutés. Les blessures des enfants se sont refermées en à peine plus de deux semaines sans qu'il y ait eu besoin de recourir aux greffes traditionnelles, selon les auteurs. [81]

Il a été démontré alors que la peau foetale est un substitut de peau biologique de très haute qualité en peu de temps pour les brûlés, sans besoin de techniques de greffes additionnelles. Les cellules de peau foetale pourraient avoir un grand potentiel thérapeutique pour les brûlures ou d'autres blessures, selon cette expérience qui relève sa "simplicité d'application".

3.4 Les cellules souches embryonnaires

Les cellules souches embryonnaires (ES) sont aussi un formidable outil pour récapituler in vitro les étapes essentielles, moléculaires et génétiques pour reconstituer la peau. Les chercheurs ont montré que les effets synergiques d'une matrice extracellulaire mésenchymateuse et du morphogène BMP-4 (protéine osseuse morphogénétique) induisent de manière significative la différenciation des cellules ES en kératinocytes capables de former in vitro un épiderme pluristratifié ; (Figure 24) [72]

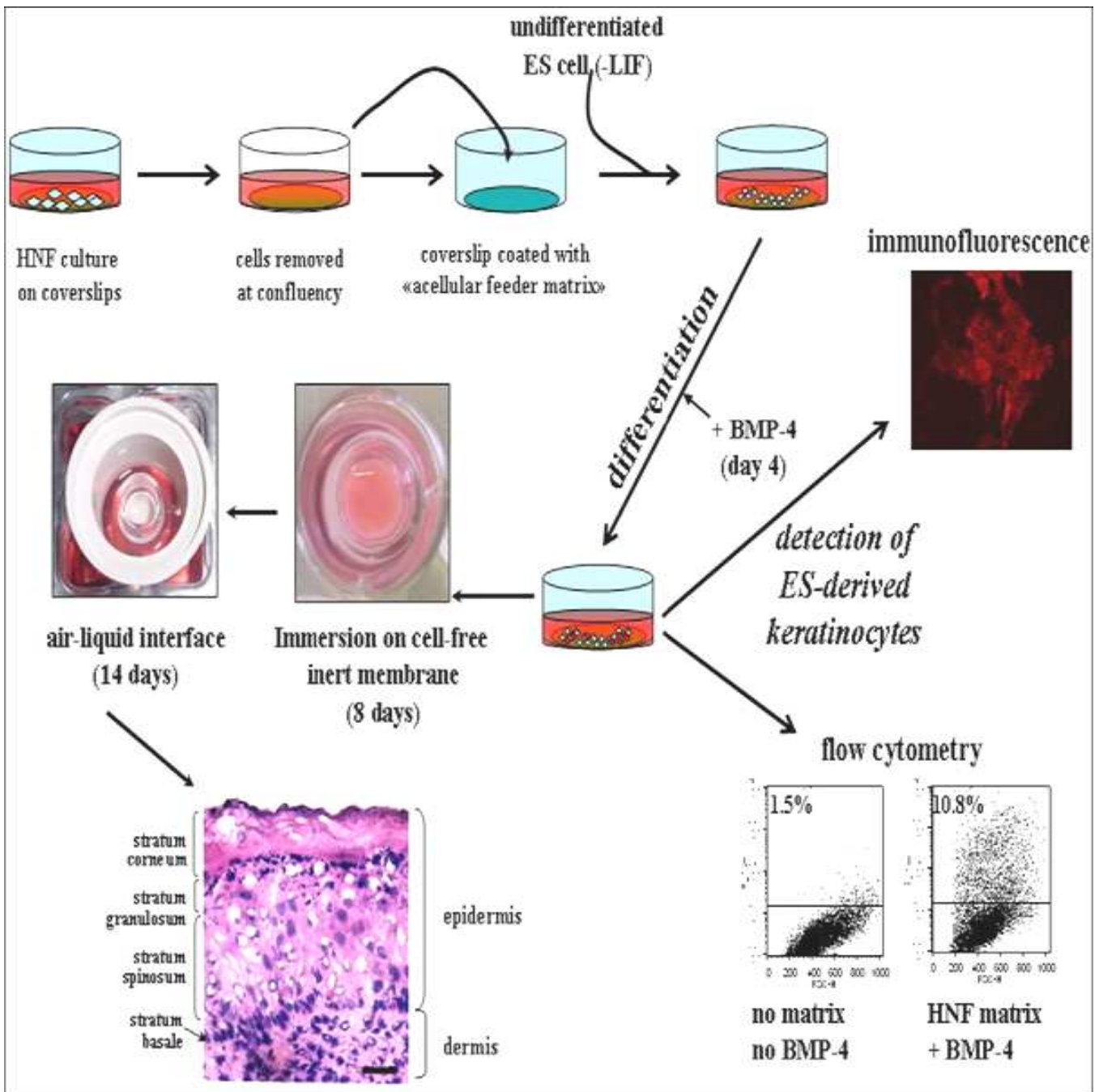


Figure 24: la différenciation *in vitro* des cellules ES en épiderme pluristratifié.

[72]

Application sur la maladie de parkinson

1. Définition

La maladie de Parkinson a été décrite pour la première fois en 1817. C'est une maladie neurodégénérative, chronique du système nerveux central dont l'étiologie reste inconnue.

Elle est responsable d'un handicap important, en particulier en raison des troubles et du déficit moteur qu'elle induit. Elle est caractérisée par une dégénérescence progressive, accélérée et prématurée des neurones dopaminergiques d'une région du tronc cérébral, la substance noire (locus niger). Ces neurones sont connectés à une région sous-corticale, le striatum, qui est impliqué dans la motricité. La dégénérescence de ces neurones entraîne une diminution de la synthèse et de la libération de dopamine dans le striatum, ce qui a pour conséquence un déficit en dopamine dans cette partie du système nerveux central, il en résulte les principaux signes et symptômes moteurs qui caractérisent la maladie de Parkinson : tremblements des membres au repos, hypertonie (rigidité musculaire), akinésie ou bradykinésie qui sont à l'origine des troubles de la marche et de l'équilibre. Outre les symptômes moteurs, apparaissent aussi parfois des atteintes intellectuelles.

Dans le monde, il y a environ 4 millions de personnes atteintes de la maladie de Parkinson et chaque année 8000 nouveaux cas sont découverts. Elle

débutent généralement entre 55 et 65 ans et affecte 1 à 3% des individus âgés de plus de 65 ans, 5 à 10% des patients sont atteints entre 30 et 55 ans. [82]

A l'heure actuelle, il n'y a pas encore de traitement capable de guérir ces patients ; il n'y a qu'un traitement symptomatique.

Une approche thérapeutique consiste à restaurer la fonction du striatum en transplantant des cellules neurales capables, à terme, de remplacer les neurones nigraux perdus. Des essais cliniques appliquant cette stratégie dite «substitutive » sont menés depuis maintenant près de 15 ans. [83,84]

2. Thérapie cellulaire

Après le sang, le système nerveux pourrait être le grand bénéficiaire des technologies utilisant les cellules souches. Ce qui pourrait bien révolutionner le traitement des maladies neurologiques.

L'objectif de la thérapie cellulaire est de pouvoir remplacer par des cellules saines, les neurones détruits par la maladie. Les cellules qu'on veut introduire dans le cerveau sont des cellules souches embryonnaires, fœtales, ou adultes. Ces cellules, une fois introduites dans le cerveau, ont la capacité de se spécialiser selon le milieu où elles se trouvent. C'est-à-dire qu'elles reprendraient les fonctions des cellules nerveuses perdues, et guériraient ainsi les personnes atteintes par des maladies neurodégénératives.

Cependant les rares expérimentations appliquées en faveur de la maladie de parkinson portent seulement sur les **cellules souches fœtales** [84]

2.1 Les cellules candidates de thérapie neuronale

✓ *les cellules souches embryonnaires*

Les cellules ES d'origine humaine constituent une source idéale de greffons pour des applications cliniques de thérapie cellulaire, mais seulement si l'on sait diriger efficacement leur croissance et leur différenciation vers les types cellulaires souhaités. Depuis quelques années, plusieurs équipes ont réussi à différencier des cellules ES murines, génétiquement modifiées ou non, en neurones dopaminergiques; (Figure 25) [85]

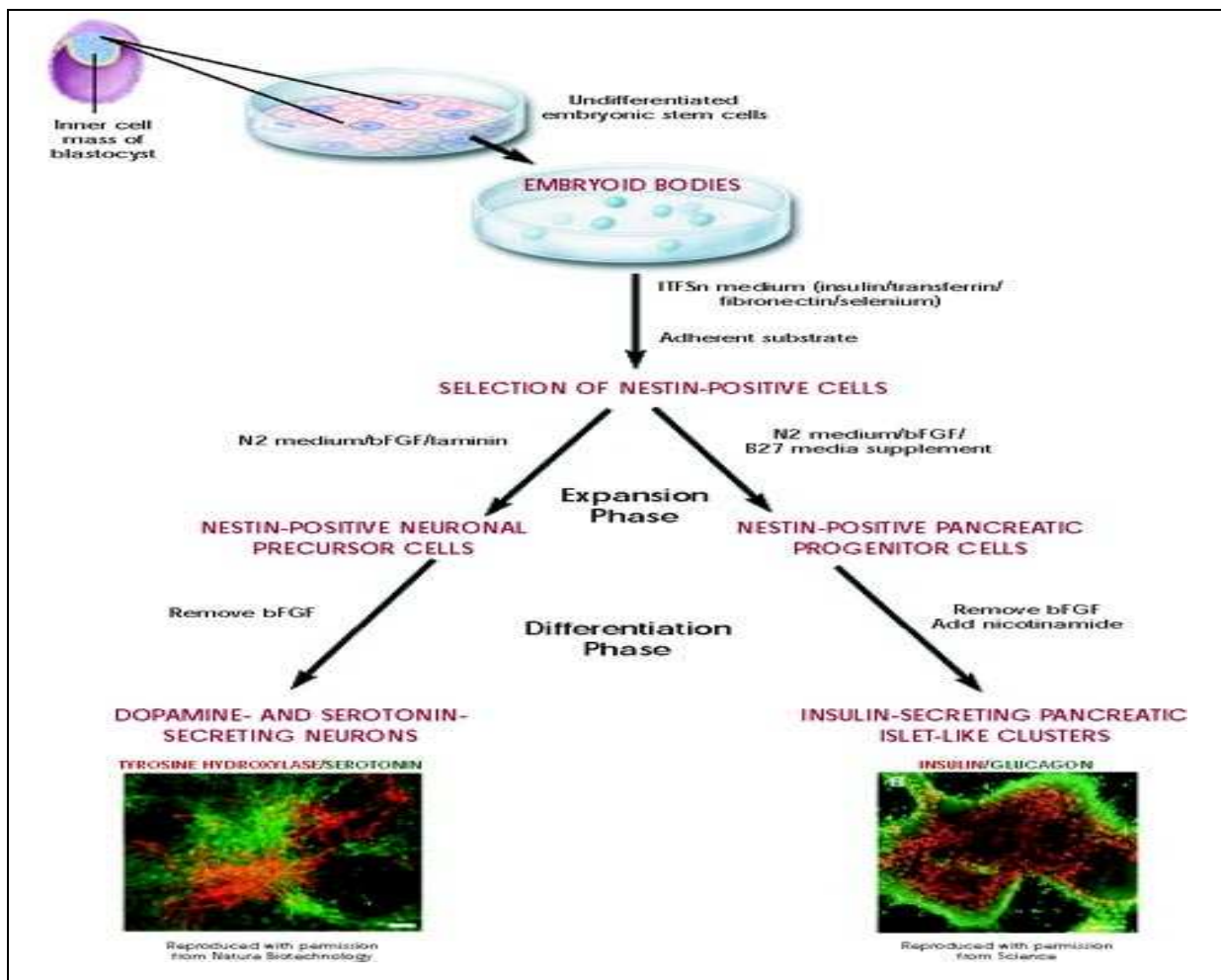


Figure 25 : la différenciation des cellules ES en neurones dopaminergiques.

[85]

Les neurones ainsi obtenus des cellules ES ont montré chez le rat parkinsonien, un potentiel thérapeutique très proche de celui des tissus fœtaux [85. 86]

Jusqu'à présent, les divers essais de différenciation neurale des cellules ES humaines n'avaient permis de produire que très marginalement des neurones exprimant au moins un marqueur dopaminergique.

Dans un article récemment publié dans les *Proceedings of the National Academy of Sciences (USA)*, l'équipe de L. Studer décrit un nouveau protocole permettant l'obtention de grandes quantités de neurones dopaminergiques mésencéphaliques à partir de différentes lignées des cellules ES humaines. Les auteurs montrent que les voies de différenciation et de signalisation clés au cours du développement du mésencéphale, *in vivo*, peuvent être reproduites de manière systématique afin de diriger avec succès la différenciation des cellules ES en neurones dopaminergiques. Le premier mois de différenciation *in vitro* des cellules ES humaines permet d'obtenir des progéniteurs neuronaux ayant une forte capacité proliférative.

L'induction neuronale est déclenchée en cultivant les cellules à très faible densité sur une couche de cellules stromales de moelle osseuse. Cette propriété des cellules stromales est similaire à celle observée auprès de lignées de cellules ES de souris ou de singe avec plusieurs lignées de cellules stromales d'origine similaire (PA6, MS5, S17, S2). [85 ,87]

À la différence de ce qui est obtenu en utilisant des cellules ES murines, la différenciation neuronale des cellules ES humaines sur des cellules stromales

(MS5) engendre des colonies des cellules neuro-épithéliales constituées de centaines de structures cellulaires circulaires désignées sous le terme de rosettes neurales ; (Figure 34A).

Dans ces colonies, l'induction neurale se caractérise par l'apparition d'îlots cellulaires (préfigurant les futures rosettes) qui cessent d'exprimer des marqueurs de cellules souches embryonnaires tels que Oct-4, Nanog ou Cripto, et commencent à exprimer des marqueurs neuraux tels que le filament intermédiaire nestine ; (Figure 34 B), les facteurs de transcription Sox-1 ou Pax-6, ou encore la molécule d'adhérence cellulaire neurale NCAM. [85, 88]

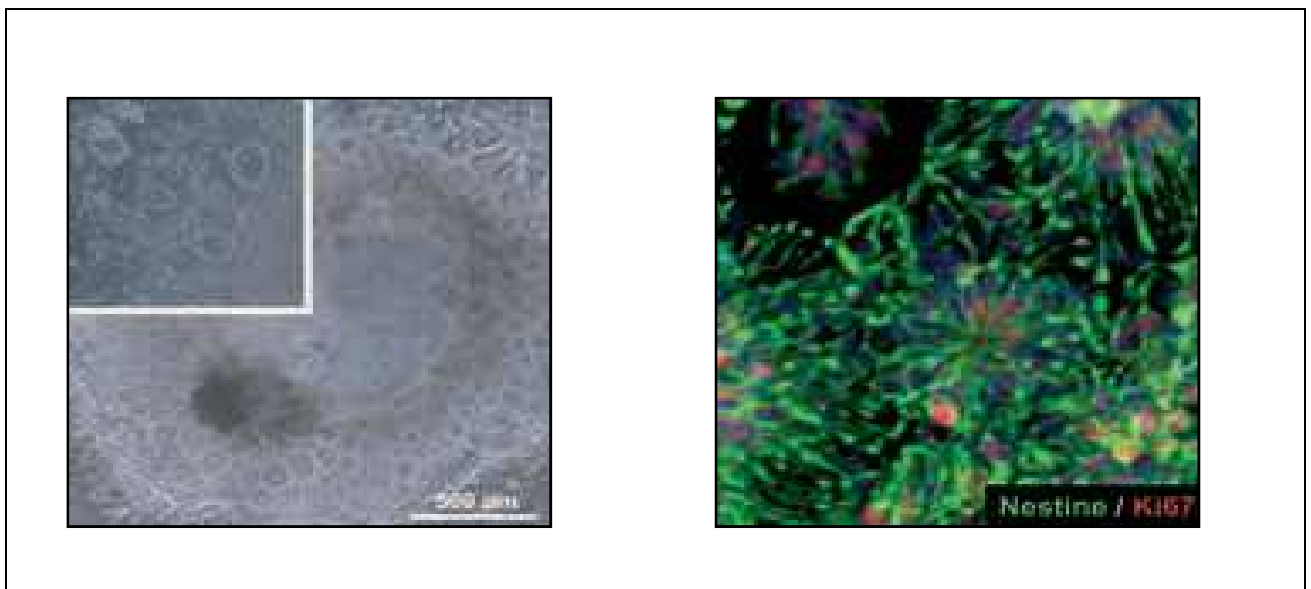


Fig 26A: structure cellulaire en rosette

Fig 26B: immunodétection
de la nestine en vert

Figure 26 (A.B) : Induction neurale de cellules ES humaines déclenchée par
des cellules stromales de moelle osseuse [85]

Les essais cliniques de thérapie cellulaire de la maladie de Parkinson à partir de tissus foetaux ont montré que la qualité tout autant que la quantité des tissus à transplanter étaient essentielles à l'obtention de bons résultats thérapeutiques. La possibilité de produire des neurones dopaminergiques à partir de cellules ES humaines 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 cellules ES humaines. Plusieurs propriétés importantes du greffon nécessitent en particulier d'être confirmées: [89]

- une absence totale de formation de tumeur doit être observée, démontrant l'absence de contamination par des cellules ES non différenciées, fortement tumorigènes.
- les cellules greffées doivent survivre et maintenir, ou même développer durablement, leur phénotype neuronal et dopaminergique *in situ* après la transplantation.
- enfin, les neurones du greffon doivent s'intégrer fonctionnellement dans le cerveau hôte, en commençant par réinnervier le striatum de la manière la plus complète possible. [85, 89]

Les étapes ultérieures consistent ensuite en des tests de comportement permettant de mesurer l'efficacité thérapeutique (diminution durable des déficits moteurs) des greffons dans des modèles animaux de la maladie de Parkinson ; (Figure 27) [90]

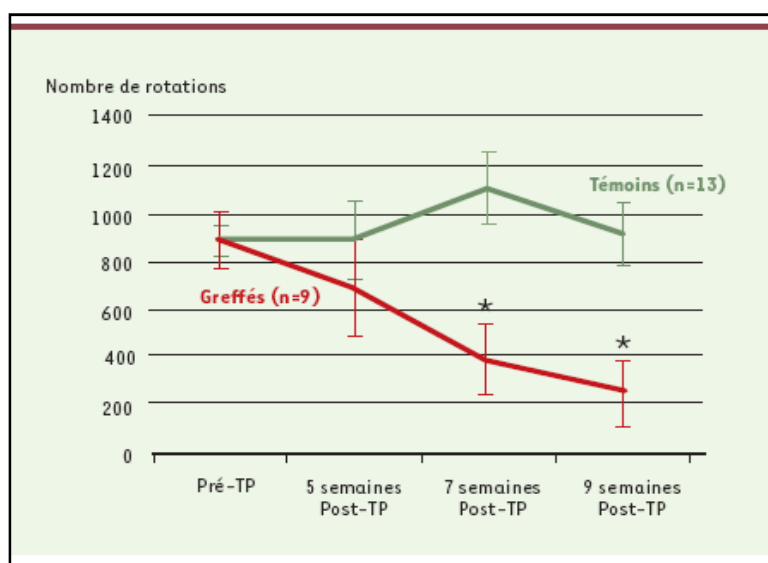


Figure 27 : Analyse du comportement des rats parkinsoniens après greffe des cellules ES [90]

le Nombre de rotations effectuées en 30 minutes par deux groupes de rats dont un striatum a été lésé par injection de 6-OHDA, et qui ont reçu ensuite une implantation intra-striatale soit de 2 000 cellules ES (greffées) soit de sérum physiologique (témoins). Le nombre de tours étant identique avant la transplantation, le groupe traité présente après l'implantation une nette amélioration progressive, devenant significative à 7 semaines et s'amplifiant encore à 9. [90]

Enfin, en offrant la possibilité de standardiser les greffons, les cellules ES humaines permettront d'évaluer avec beaucoup plus de rigueur et de facilité, voire d'accroître, les bénéfices thérapeutiques d'une approche substitutive de thérapie cellulaire de la maladie de Parkinson. Il est toutefois encore trop tôt

pour déterminer si cette stratégie pourra, à terme, apporter des améliorations des symptômes, meilleures et plus stables que celles apportées par d'autres approches thérapeutiques, pharmacologiques ou chirurgicales, comme par exemple, les stimulations cérébrales profondes.

Le travail sur les cellules ES humaines, reste sous l'angle éthique sujet de grands controverses. [85, 90]

✓ *Cellules souches fœtales*

Les progéniteurs pluripotents des couches germinatives de l'ectoderme foetal représentent une source de cellules déjà largement étudiées à partir de tissus animaux et déjà utilisés chez l'homme. De nombreux résultats permettent de penser que ces cellules sont potentiellement différenciables en neurones dopaminergiques et implantables. L'utilisation de cellules provenant de foetus humains présente l'intérêt de contourner les interdictions légales, puisque le fœtus issu d'IVG est considéré comme un individu potentiel "mort" et tombe donc sous le coup des lois gérant les prélèvements d'organes. [91, 92]

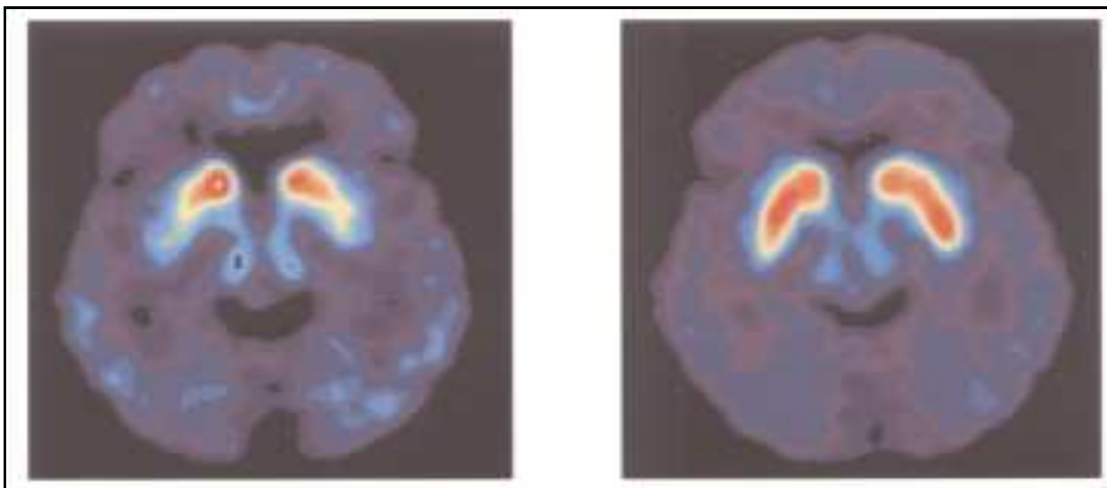


Figure 28: imagerie par TEP d'un parkinsonien avant et après transplantation des cellules souches fœtales. [19]

✓ *Les cellules souches adultes*

▪ Cellules souches neurales

L'utilisation de cellules souches provenant de cerveaux adultes à des fins de prélèvement pour réimplantation semble exclue. En effet, on peut envisager de façon réaliste deux donneurs : le patient à traiter lui-même, et des personnes en état de mort cérébrale. Dans le premier cas, le geste neurochirurgical nécessaire au prélèvement présente un risque considérable (en particulier pour les cellules souches les plus nombreuses, qui sont situées au voisinage immédiat de la paroi ventriculaire que le chirurgien aurait toutes les chances de léser avec des conséquences pathologiques majeures) ; (Figure 29). Dans le second, la probabilité de récupération de cellules souches vivantes dans un cerveau légalement réputé mort depuis 24 heures paraît faible.

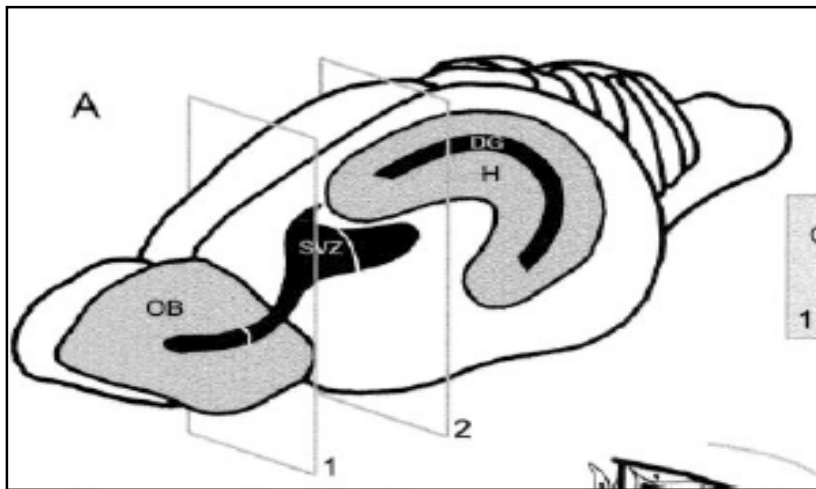


Figure 29: les régions qui contiennent les cellules souches (en noir): [93]

- OB : *Bulbe olfactif*
- H : *Hippocampe*
- SVZ: *Zone subventriculaire*
- DG : *Gyrus denté*

En théorie, les chercheurs ont imaginé de stimuler le repeuplement des régions affectées par la maladie à partir de cellules souches qui seraient stimulées par voie pharmacologique chez le malade. Il n'existe malheureusement pas, à ce jour, de données qui permettent de faire passer cette idée de la science fiction à la science tout court et on voit mal autour de quels axes pourrait être lancé un appel d'offres sur le sujet. [93]

- Les cellules souches stromales

On parle actuellement des cellules souches stromales de la moelle osseuse dans plusieurs articles récents qui indiquent qu'elles peuvent être guidées vers une différenciation neuronale - ou gliale - et que leur implantation intracérébrale les force vers ce type de différenciation. Il s'agit d'une source cellulaire particulièrement intéressante dans la mesure où elle pourrait être utilisée de façon autologue. [92 ,94]

- Les cellules souches de la peau

Les recherches les plus récentes portent sur les cellules souches adultes, qui se trouvent dans la peau. Il a été découvert que certaines cellules de la peau produisaient de la nestine, une protéine caractéristique des cellules souches neuronales, et lorsque ces cellules ont été mises en culture, elles ont produit des protéines qui sont des marqueurs typiques des neurones matures.

Ces cellules souches de la peau représentent de grands espoirs, parce qu'elles permettraient de traiter une personne atteinte d'une maladie neurodégénérative à l'aide de ses propres cellules souches. Cette méthode

éviterait les problèmes d'ordre éthique causés par les cellules souches embryonnaires et les cellules foetales, et elle permettrait surtout de ne pas avoir les problèmes de rejet, puisque les cellules seraient reconnues par le système immunitaire du receveur, qui serait en même temps le donneur. [95]

2.2 Les essais réalisés chez l'homme.

Les **allogreffes intracérébrales de neurones foetaux** ont démontré leur valeur pour le traitement de la **maladie de Parkinson** chez la majorité des quelques centaines de patients qui en ont bénéficié au cours des 15 dernières années. Le besoin d'une thérapie neurochirurgicale (qu'elle soit par greffe neuronale ou par stimulation électrique centrale) intervient lorsque le traitement médicamenteux, d'abord très efficace, provoque des troubles secondaires invalidants (donc chez des patients à un stade déjà évolué).

L'allogreffe de neurones foetaux vise à la substitution de l'innervation dopaminergique défaillante chez les patients par l'implantation dans leur cerveau de cellules très jeunes, donc très plastiques. Les résultats cliniques publiés par la demi-douzaine d'équipes de recherche spécialisées qui ont mené des protocoles scientifiquement solides, vont tous dans le sens d'une nette amélioration de l'état des patients au cours du temps. Elles ont montré une augmentation de la dopamine et une disparition des symptômes. Un petit nombre de patients ont été ainsi traités et présentent une amélioration fonctionnelle. En outre, il a été clairement démontré, qu'il existe un lien entre la réinnervation dopaminergique et les effets cliniques observés. (Il faut quelques

mois au tissu foetal pour acquérir les fonctions d'un tissu adulte), lorsque la quantité de tissu implanté a été suffisante, ce que l'on estime aujourd'hui à 3 mésencéphales ventraux complets (3 foetus) par striatum, soit 6 par patient.

Le bilan clinique de cette technique d'application relativement simple étant globalement positif, on pourrait s'étonner de la voir cantonnée depuis 15 ans, dans une poignée de centres de recherche spécialisés.

La raison essentielle de l'absence d'expansion de cette technique est sa lourdeur logistique et le caractère éthique du prélèvement humain. [97]

Deux voies de recherche permettent d'envisager une solution réelle à ce problème. Il s'agit d'une part de l'utilisation de tissu mésencéphalique ventral provenant d'animaux, donc de xénogreffes, et d'autre part de cellules différenciées à partir de cellules souches humaines (allogreffes). [96,97]

- ❖ La première transplantation de cellules neuronales d'origine foetale pour le traitement de la maladie de Parkinson a été inaugurée en Suède à partir de 1989 et s'est développée ensuite aux Etats-Unis, en France et en Belgique. Elle a été pratiquée, les premiers temps, de façon unilatérale (c'est-à-dire sur un seul hémisphère cérébral), sur des patients sévèrement atteints et présentant les principales complications de la maladie (fluctuations motrices et dyskinésies). [97]
- ❖ La première greffe française a été réalisée, en juin 1991, à l'hôpital Henri-Mondor de Créteil par l'équipe du professeur Pierre CESARO. Depuis cette date, 25 interventions portant sur les deux hémisphères cérébraux ont été pratiquées sur 13 malades parkinsoniens. [97]

- ❖ une étude clinique américaine « randomisée » avec groupe contrôle et réalisée sur fonds fédéraux par les équipes de Curt FREED (Université de Denver, Colorado) et de Stanley FAHN (Columbia-Presbyterian Medical Center, New York) a été communiquée en avril 1999 par le National Institute of Neurological Disorders and Stroke, a connu une augmentation significative de la production de dopamine de plus de la moitié des transplantés mais la durée et la persistance de cet effet restent à préciser. D'autre part, seules les personnes traitées de moins de 60 ans, soit 9 patients, ont connu une amélioration significative de leur état. « *L'ancienneté et la sévérité de la maladie influent incontestablement sur l'efficacité du traitement.* » [97]
- ❖ Plus récemment, une équipe britannico-suédoise a rapporté les résultats obtenus sur un des 17 patients traités, qui avait fait l'objet en 1989 d'une greffe unilatérale. L'administration de L-Dopa a pu être interrompue au bout de 32 mois et le traitement immunosuppresseur suspendu après 64 mois. Six ans plus tard, une dose réduite de L-Dopa a dû être réadministrée pour soigner les symptômes provenant de l'hémisphère cérébral non greffé. Cette expérience a permis de constater sur une période de dix ans le maintien en activité des neurones implantés et une innervation normale du striatum par ces derniers alors que cette innervation a disparu dans la partie non traitée. Ces données confirment l'intérêt de la greffe de neurones foetaux mais ne sauraient conduire à sous-estimer la longueur du chemin que l'expérimentation clinique doit encore parcourir en ce domaine. [97]

3. Conclusion

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

Il faudra donc d'autres essais cliniques pour que les scientifiques cernent davantage les caractéristiques des cellules souches neurales et pour mettre à l'épreuve les diverses stratégies de multiplication et de différenciation des cellules souches in vitro et in vivo. [97]

Si ces stratégies thérapeutiques de remplacement et de régénération de cellules s'avèrent être un succès pour rétablir les fonctions normales du système nerveux, elles pourraient aussi s'appliquer à l'accident vasculaire cérébrale, à la lésion médullaire, au cancer et à d'autres maladies dégénératives.

Le **cœur** est un organe essentiel à la vie, son fonctionnement est complexe. Il est soumis à une importante régulation par le système nerveux autonome et par les hormones. Les pathologies liées au fonctionnement du cœur sont très graves et peuvent être fatales. [99]

C'est pour cela que les scientifiques et les industries pharmaceutiques se sont intéressés à ces pathologies. De nombreux laboratoires de recherche travaillent sur ce sujet. Plus récemment, des laboratoires ont développé des projets de recherche sur des essais en thérapie cellulaire afin de pouvoir pallier à ce type de pathologie.

1. Description des cardiopathies :

Le cœur est un muscle qui fonctionne toute la vie sans arrêt, il a un métabolisme uniquement aérobie. Ses besoins en oxygène et en glucose sont très importants, il a donc besoin d'être fortement irrigué. Les **artères coronaires** délivrent le sang au muscle cardiaque, elles sont les seuls vaisseaux à assurer ce rôle. Il existe différentes formes de cardiopathies.

Dans cette partie nous nous intéresserons aux cardiopathies ischémiques et coronariennes et à leurs conséquences, qu'est l'infarctus du myocarde et puis l'insuffisance cardiaque et toutes les complications.

Une **ischémie** est la diminution de l'apport sanguin artériel à un organe. Cette diminution entraîne essentiellement une baisse de l'oxygénation des tissus de l'organe en deçà de ses besoins, l'organe est en hypoxie, ce qui peut provoquer des dommages de l'organe en question, voire l'arrêt de sa fonction. Les principales causes d'ischémie sont **l'athérosclérose**.

Les symptômes de la cardiopathie ischémique ne sont perçus que longtemps après son apparition, la plupart des individus atteints par cette pathologie ne présentent aucun symptôme pendant des décennies. Souvent les individus sont touchés par un **infarctus** soudainement qui révèle la diminution de l'apport sanguin au coeur.

En effet La diminution du débit sanguin au niveau du coeur a les conséquences suivantes :

Tout d'abord, si les cellules n'ont plus de sang oxygéné durant 10 à 15 minutes elles meurent par **nécrose**, car elles ne peuvent plus répondre à leurs demandes métaboliques. Par la suite, les impulsions électriques du coeur, qui provoquent ces contractions, diminuent, le coeur bat donc beaucoup plus lentement. Si on perd une grande partie de **cardiomyocytes**, qui sont les cellules qui composent le coeur, à la suite d'un infarctus, l'activité du coeur diminue à long terme. On peut aussi voir apparaître des **arythmies cardiaques**, ceci peut être mortel, notamment lorsque le coeur est en tachycardie. Enfin des dommages structuraux peuvent apparaître comme une insuffisance des valves par rupture des muscles papillaires ou un amincissement des parois des ventricules ce qui conduit à une **insuffisance cardiaque**.

Les traitements courants pour cette pathologie visent à rétablir un débit artériel suffisant vers le coeur. L'**angioplastie**, consiste à insérer au niveau des artères coronaires des petits ressort afin d'augmenter le diamètre de celles-ci. Un autre traitement peut être proposé, il s'agit d'une thrombolyse ou fibrinolyse qui consiste à dégrader enzymatiquement l'agrégat obstruant l'artère. De plus, les patients doivent suivre un traitement d'entretien à vie [100, 101, 102]

2. La thérapie cellulaire.

L'**insuffisance cardiaque** devient un problème majeur de santé publique et avec l'accroissement de la longévité, elle deviendra la première cause de mortalité au XXI^e siècle. C'est ainsi que de nombreuses équipes de recherches associant cliniciens et biologistes ont développé depuis déjà une dizaine d'années le concept de **thérapie cellulaire**. Les objectifs de la thérapie cellulaire sont multiples et non exclusifs. La transplantation de cellules devrait aboutir à la formation d'un tissu d'une fonctionnalité supérieure à celle de la zone lésée.

On peut ainsi espérer remplacer le tissu cicatriciel par un tissu vivant, qui restaure la contractilité myocardique. Les cellules transplantées devant être le moins immunogéniques possible, la voie de la greffe autologue sera préférée.

Les **premiers essais** ont été rapportés au début des années 1970 ; comme il se doit ; les approches sont pluridisciplinaires, associant la biologie cellulaire, la cardiologie, la chirurgie, l'immunologie, l'imagerie, la physiologie, la biologie moléculaire et l'histologie. [103]

1.1 Des concepts aux essais cliniques :

Afin de mettre au point un essai clinique, plusieurs questions doivent être résolues concernant les aspects fondamentaux, techniques et cliniques de l'approche

✓ *Les différents types de modèles animaux utilisables*

Un grand nombre d'espèces animales peut être utilisé comme modèle (rat, souris, mouton, cochon, chien, lapin, singe,...), même si aucun des modèles utilisés ne représente une évolution similaire complète de l'insuffisance cardiaque humaine.

Ces animaux doivent subir une ligature des coronaires, une embolisation ou une cryogénie afin de créer une ischémie au niveau d'une zone cardiaque. Il est possible d'utiliser également des animaux présentant une insuffisance cardiaque d'origine génétique (hamster syrien développant une sarcoglycanopathie, souris transgénique,...). Des cardiopathies peuvent être aussi induites par injection d'anthracyclines. [104]

✓ *Détermination du suivi des cellules transplantées ou injectées :*

- Utilisation de coloration histologique classique afin d'obtenir des informations d'ordre morphologique.
- Utilisation d'anticorps spécifiques si les cellules transplantées sont de nature différente du tissu cardiaque receveur.

- Utilisation d'un marquage métabolique de mitose par exemple (BrDU), mais ce marqueur peut se diluer au cours des divisions cellulaires.
- Utilisation de cellules transgéniques dans lesquelles un marqueur génique (gène de la β galactosidase) est activé par un promoteur spécifique de la différenciation cardiaque. [104]

✓ *Évaluation de la fonction cardiaque*

Celle-ci doit être effectuée avant et après la transplantation, et comparée à celle d'animaux témoins. De nombreuses méthodologies ont été développées pour les petits et gros modèles animaux, permettant la quantification de multiples paramètres *ex vivo* (coeur isolé-reperfusé) et *in vivo* (échocardiographie, Doppler, sonomicrométrie, tomoscintigraphie, RMN, PET-Scan [tomographie par émission de positons]...). [104]

✓ *Protocole d'administration*

Les différents types cellulaires administrés sont injectés par voie trans-épicaire, mais la réalisation de micro-thoracotomies est envisagée afin de diminuer le caractère invasif d'une opération à thorax ouvert. D'autres protocoles d'injection par cathéter sont en cours de validation.

[104]

2.2 Les différentes cellules utilisées en thérapie cellulaire :

Il existe différents types cellulaires qui pourraient être utilisés pour améliorer les problèmes consécutifs à une ischémie cardiaque. Quel que soit le type cellulaire envisagé, il faut que ces cellules viennent reconstruire du tissu vivants au niveau de la zone lésée, soutenir les cardiomyocytes restant ou néo synthétisés, ou se différencier elles-mêmes en cardiomyocytes afin d'être ensuite transplantées. [105]

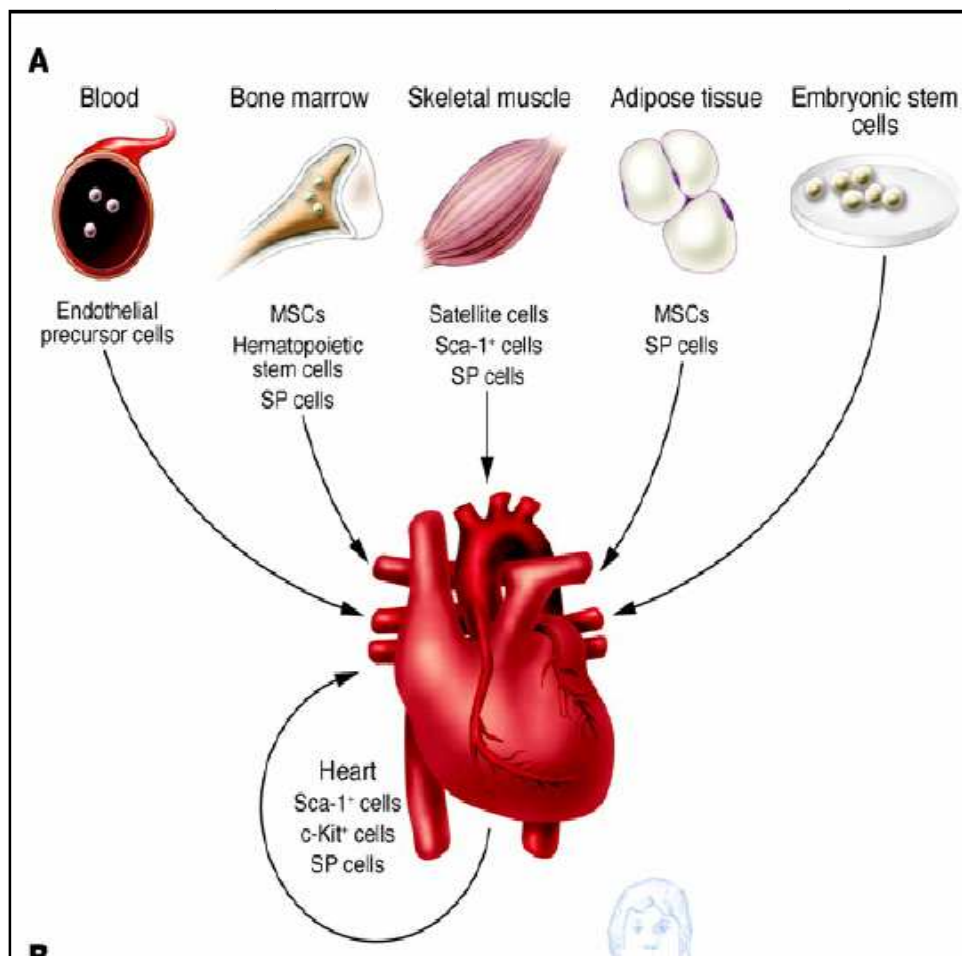


Figure 30 : cellules utilisables pour la thérapie cellulaire [19]

✓ *Les cellules souches embryonnaires*

Les cellules ES sont depuis longtemps considérées comme une source possible de cellules cardiaques. En culture, elles sont à l'origine d'un grand nombre de types cellulaires et tissulaires, et des conditions particulières ont été mises au point pour la préparation des cardiomyocytes. Les cellules ainsi obtenues présentent des caractéristiques phénotypiques très voisines de celles des cardiomyocytes adultes, même si un risque arythmogène a été décrit.

Les premières études de transplantation *in vivo* de cellules ES se sont soldées par le développement de tumeur. La **transplantation** de cellules ES induites *in vitro* vers la différenciation en cardiomyocytes et rigoureusement sélectionnées pourrait permettre de franchir cet obstacle. La question des réactions immunologiques attendues en raison de l'allogénicité de ces cellules est discutée, du fait de leur caractère réputé peu immunogène.

Les recherches de tels développements biothérapeutiques sont réalisées à l'aide de cellules ES humaines dans les pays où **la loi le permet**. L'équipe du Professeur Kehat a transplanté des cellules ES dérivées d'embryon humain dans la paroi du ventricule gauche d'un coeur de porc ayant subi un infarctus ; (Figure 31). Les cellules se sont différenciées et ont pallié au déficit fonctionnel qu'avait ce coeur. Entre autres, ce coeur a récupéré **un rythme cardiaque compatible avec la vie**. Cette expérience met en évidence l'incroyable capacité des cellules ES humaines. [104, 105, 106]

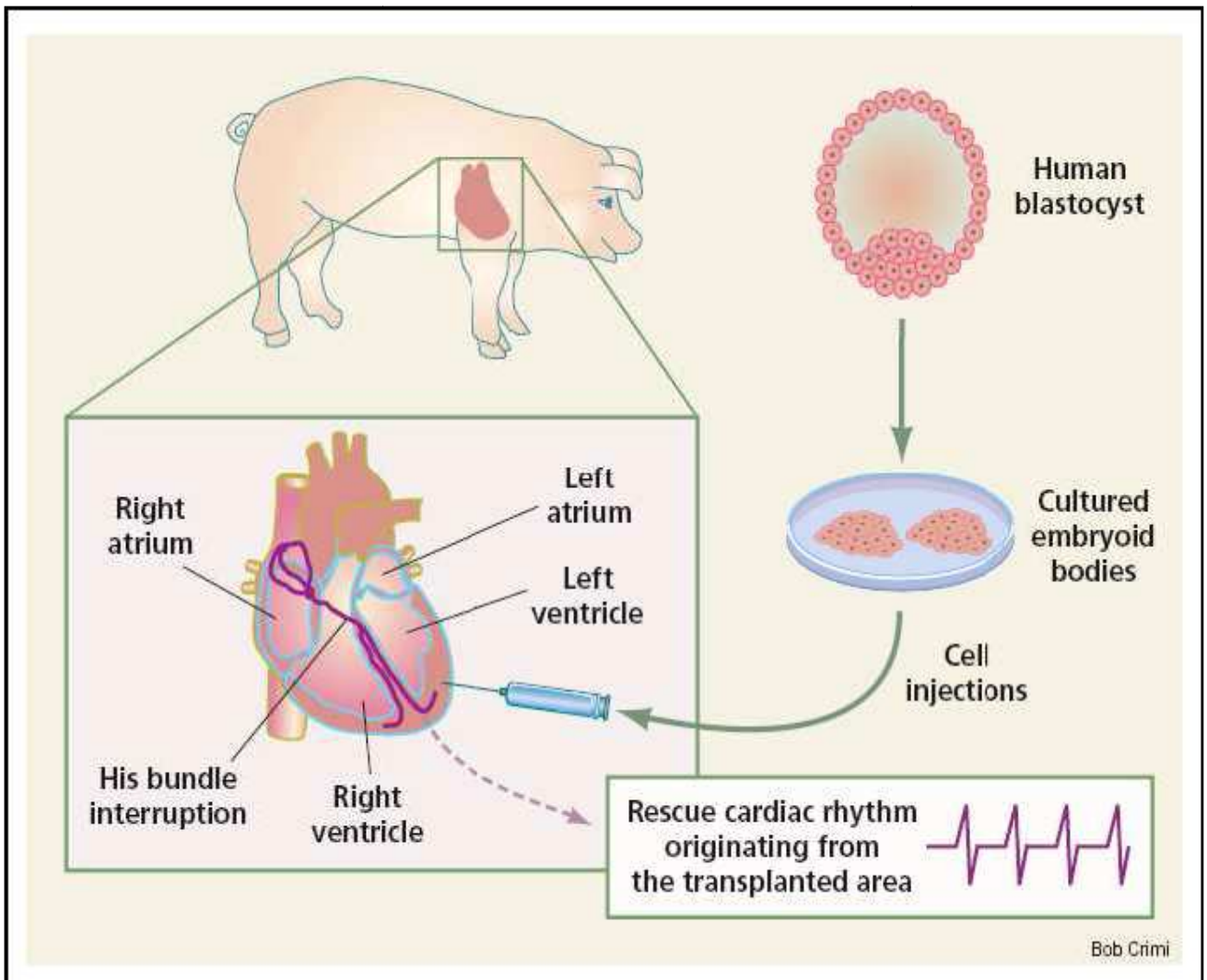


Figure 31: Transplantation de cellules ES humaines dans le coeur d'un porc [19]

✓ *Les cellules souches fœtales*

Les **cellules fœtales** ont été utilisées dans les expériences de transfert car les cardiomyocytes adultes ne prolifèrent pas *in vitro*. L'implantation de **cardiomyocytes fœtaux ou néonataux** a été réalisée par de nombreux groupes. Les cellules transplantées sont capables de s'intégrer au sein du tissu receveur et selon les cas d'établir des jonctions communicantes avec les cellules résidentes, lorsque celles-ci sont accessibles, ou de s'assembler en amas isolés au sein du tissu fibreux. Ces cellules sont contractiles et produisent des potentiels d'action. Elles améliorent la fonction globale du myocarde défaillant à la suite d'un infarctus, puisqu'elles augmentent le volume d'éjection et donc la contractilité du ventricule gauche.

Toutefois, l'utilisation de cellules fœtales dans un contexte clinique pose des problèmes d'ordre immunologique, puisqu'il s'agirait alors d'allogreffes, d'ordre quantitatif car la masse de tissu foetal à utiliser pour repeupler un myocarde adulte doit être très important et enfin d'ordre éthique. [104 ,105]

✓ *les cellules souches adultes*

La comparaison des différentes cellules souches adultes utilisables, avec leur utilisation et leurs problèmes potentiels, est présentée dans le tableau ci-dessous : [104 ,107]

Tableau III: les différentes cellules souches adultes candidates pour le cœur
[104]

Types cellulaires Utilisables	Spécificités et principe d'utilisation	Problèmes potentiels soulevés
Cellules souches cardiaques	Ces cellules appelées cellules SP (Side Population) peuvent être isolées à partir de moelle osseuse, de muscle squelettique, de cœur, mais sans que l'on sache si elles proviennent de ces organes, ou d'un flux circulant commun. Ces cellules se différencient en cardiomyocytes lorsqu'elles sont placées en coculture avec des cardiomyocytes.	Si des cellules précurseurs de cardiomyocytes existent au sein d'un cœur adulte, la régénération de la zone lésée lors d'un infarctus reste très partielle, rendant leur utilisation restreinte.
Cellules souches hématopoïétiques	Ces cellules présentes dans la moelle osseuse sont des précurseurs des cellules sanguines et immunitaires. Ces cellules favoriseraient l'angiogenèse et la cariogenèses.	les cellules injectées ne se différencient pas en cardiomyocytes, mais en cellules de leur lignage originel. donc ces cellules n'ont pas été conservées pour l'essai clinique.
Cellules mésenchymateuses	Ces cellules peuvent se différencier en cardiomyocytes in vitro en présence de 5-azacytidine, ou in vivo (mais en proportion restreinte). La partie mésenchymateuse du tissu adipeux engendre, in vitro, des cellules dotées de capacité contractile	Problème relatif à l'efficacité de la différenciation et aux quantités tissulaires obtenues.

	<p>automatique et exprimant des gènes spécifiques de cardiomyocytes. Le tissu adipeux pourrait constituer un réservoir important de cellules.</p>	
<p>cellules endothéliales</p>	<p>Certains chercheurs ont pensé qu'il pourrait être important de restaurer une perfusion sanguine dans le cœur en induisant une néo-angiogenèse, plutôt que de restaurer la zone cardiomyocytaire détruite.</p> <p>Des cellules endothéliales précurseurs, présentes dans le sang et la moelle osseuse, peuvent être préparées et amplifiées in vitro. Leur injection dans des zones cardiaques ischémiques a augmenté la perfusion sanguine et ainsi le recrutement des cardiomyocytes en sommeil situés au voisinage de cette zone.</p> <p>Ces cellules peuvent également se différencier en cardiomyocytes, in vitro en présence de cardiomyocytes fœtaux, ou in vivo, à la suite d'une injection dans le myocarde</p>	<p>La production de ces cellules, leur caractérisation et leur administration posent encore des problèmes actuellement.</p>
<p>Cellules musculaires lisses</p>	<p>Ces cellules améliorent le fonctionnement du cœur lorsqu'elles sont injectées chez des animaux ayant un cœur infarcté.</p> <p>Elles permettent de reconstituer une zone vivante au niveau de la cicatrice fibreuse.</p>	<p>La préparation de ces cellules pose un problème en liaison avec les biopsies qui devraient être</p>

		réalisées chez la personne pour les récupérer.
Cellules myoblastiques striées	<p>Les cellules myoblastiques ont une grande capacité à se régénérer en cas de destruction partielle des fibres musculaires squelettiques. Ces potentialités reposent sur la présence de cellules dites satellites présentent sous la lame basale des fibres, à l'état quiescent. Ces cellules différenciées, facilement accessibles et productibles in vivo de façon autologue constituent de bons candidats. Même si leur nombre diminue avec le temps, leur durée de vie est longue, et certaines des cellules transplantées restent satellites et donnent des néocellules squelettiques plusieurs mois après. Il semble que ces cellules, outre le renouvellement du tissu contractile, consolident la trame de collagène améliorant ainsi les adhésions des cardiomyocytes rémanents. Un effet trophique des myoblastes sur l'angiogenèse, via les βFGF et VEGF a été mis en évidence. Les myoblastes pourraient avoir une action inotropique positive (augmentation de la force de contraction cardiomyocytaire) sur les cardiomyocytes voisins, via l'IGF-1.</p>	<p>Les mécanismes qui seraient à l'origine des effets des myoblastes ne sont pas bien connus.</p> <p>Si les myoblastes possèdent la capacité de se contracter, il n'existe pas de couplage de nature électrique ou mécanique entre le tissu cardiaque et ces cellules transplantées.</p> <p>Certains problèmes d'arythmie ont été soulevés.</p>

2-3 Analyses des essais cliniques réalisés.

Quels que soient les modèles animaux, la voie d'administration et la méthodologie d'exploration fonctionnelle, **les essais précliniques** d'injections des cellules candidates ont démontré la faisabilité de la préparation des cellules, leur implantation histologique et une amélioration fonctionnelle. [104,108, 109]

✓ *Utilisation de cellules souches hématopoïétiques ou endothéliales.*

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. [106 ,110]

Les essais actuels visent à isoler les cellules possédant le meilleur potentiel de transdifférenciation, et à trouver la voie d'administration la moins délétère.

✓ *Utilisation des cellules myoblastiques.*

Les protocoles cliniques concernant ces cellules se déroulent en trois phases :

- la réalisation de la biopsie musculaire pour l'obtention des cellules autologues, au bloc opératoire.
- la mise en culture des cellules au laboratoire.
- l'acheminement des cellules au bloc et leur injection dans la zone cicatricielle.

La première greffe intramyocardique de cellules myoblastiques autologues a été réalisée le 15 juin 2000, sur 10 patients, lors d'une opération à thorax ouvert. Des examens ultérieurs ont mis en évidence une amélioration du raccourcissement systolique et une reprise de l'activité métabolique de la zone lésée ; (Figure 32)

Sur les 10 patients, 4 ont souffert d'arythmies ventriculaires et ont dû être appareillés par un défibrillateur automatique. L'origine de ces arythmies n'est pas connue, mais des troubles rythmiques peuvent être liés au pontage, sans que l'on puisse écarter un problème causé par la greffe. [104, 111]

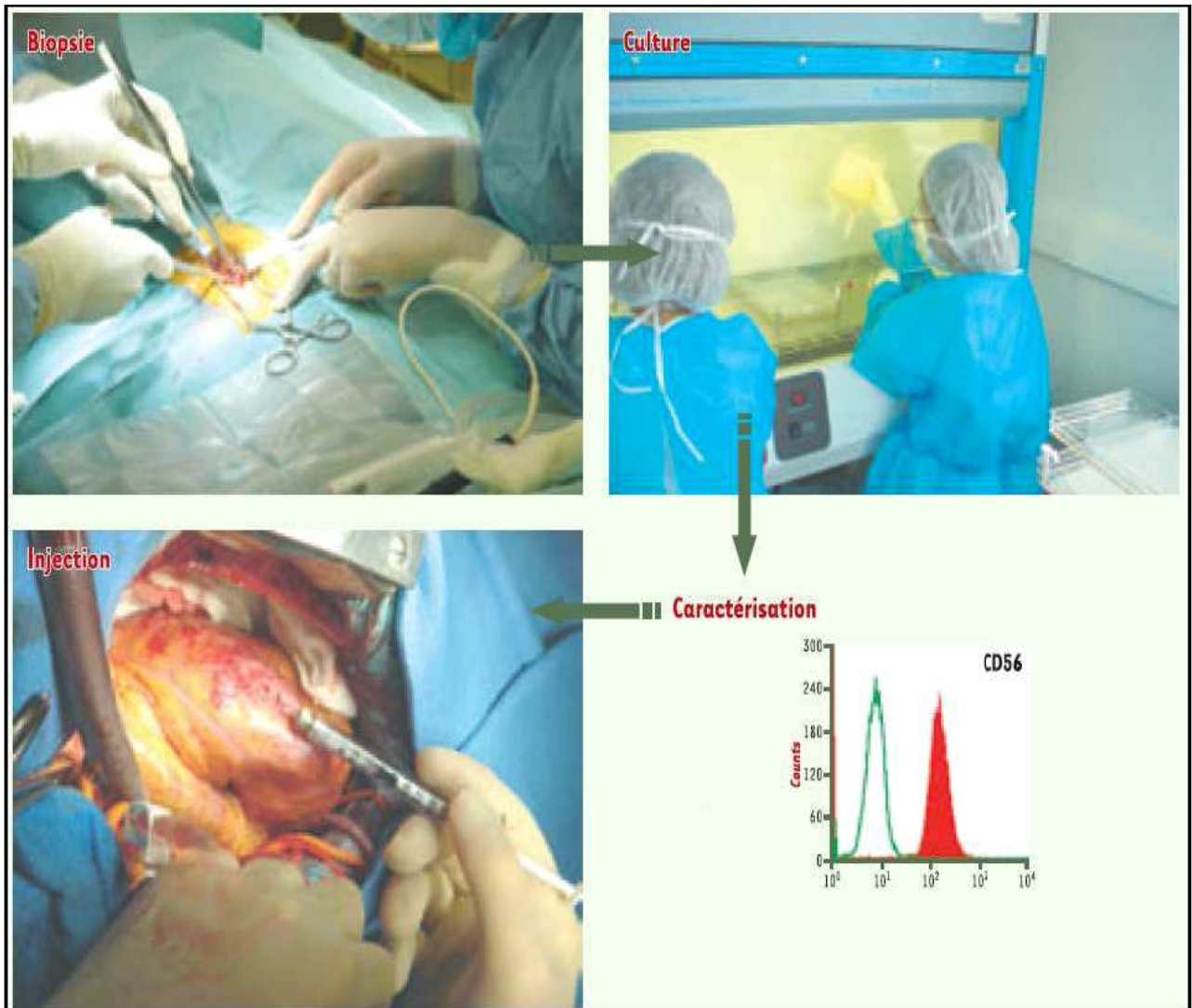


Figure 32 : Essai clinique de thérapie cellulaire par greffe autologue de myoblastes dans la cicatrice d'un infarctus. [104]

3. Conclusion :

La thérapie cellulaire se révèle être une solution prometteuse pour pallier aux insuffisances cardiaques. De nombreux problèmes doivent néanmoins être réglés, comme les méthodes d'administration des cellules, la caractérisation des cellules possédant le meilleur potentiel de transdifférenciation, la quantité de cellules à injecter, l'amélioration du temps de survie des cellules au cours des premiers jours suivant leur injection, l'amélioration de la capacité migratoire des cellules injectées...

Le développement d'un grand nombre d'équipes travaillant sur ces problèmes et la mise en place d'essais cliniques solides devraient ouvrir la voie à de belles perspectives pour cette histoire de cœur... [112]

1. Présentation générale du pancréas

Le pancréas est une glande formée de 3 compartiments épithéliaux comprenant :

- 1) le système canalaire
- 2) le compartiment exocrine ou acini
- 3) les amas cellulaires endocrines.

Le pancréas remplit deux fonctions essentielles.

- Fonction exocrine : La sécrétion de nombreux sucs (ou enzymes) nécessaires à la transformation des aliments en substances simples.
- Fonction endocrine : La sécrétion des hormones
 - les cellules alpha sécrètent le glucagon.
 - les cellules bêta qui sont responsables de la sécrétion d'insuline.
 - les cellules delta sécrètent la somatostatine.
 - et les cellules gamma qui sont responsables de la sécrétion du peptide pancréatique. [113]

2. Le diabète de type 1 :

2.1 Définition

Autrefois appelé **diabète insulino-dépendant** (ou encore **diabète juvénile**), cette maladie apparaît le plus souvent de manière brutale chez l'enfant ou chez le jeune adulte. Elle se caractérise par une émission d'urine excessive (polyurie) et une soif intense (polydipsie).

Le diabète de type 1 est une **maladie auto-immune** aboutissant à une destruction totale des **cellules bêta des îlots de Langerhans** qui sont responsables de la production de **l'insuline** ; (Figure 33)

Chez les mammifères, la sécrétion d'insuline par ces cellules joue un rôle majeur dans l'homéostasie énergétique et le contrôle de la glycémie. Une augmentation du débit de sécrétion de l'insuline est le seul moyen dont l'organisme dispose pour lutter contre l'hyperglycémie, alors qu'il existe plusieurs facteurs nerveux ou hormonaux hyperglycémiant dont la libération est déclenchée par l'hypoglycémie.

La destruction de ces cellules situées dans le pancréas a pour conséquence une absence d'insuline dans le sang. Les diabétiques de type 1 doivent donc s'injecter de l'insuline plusieurs fois par jour tout au long de leur vie.

Les contraintes liées à cette maladie sont grandes. De nombreuses recherches sont faites pour tenter de trouver un traitement moins contraignant. De nos jours, la thérapie cellulaire utilisant les cellules souches suscite de plus en plus d'espoir. En effet, ces cellules pourraient permettre le remplacement des cellules non fonctionnelles. [114 ,115]

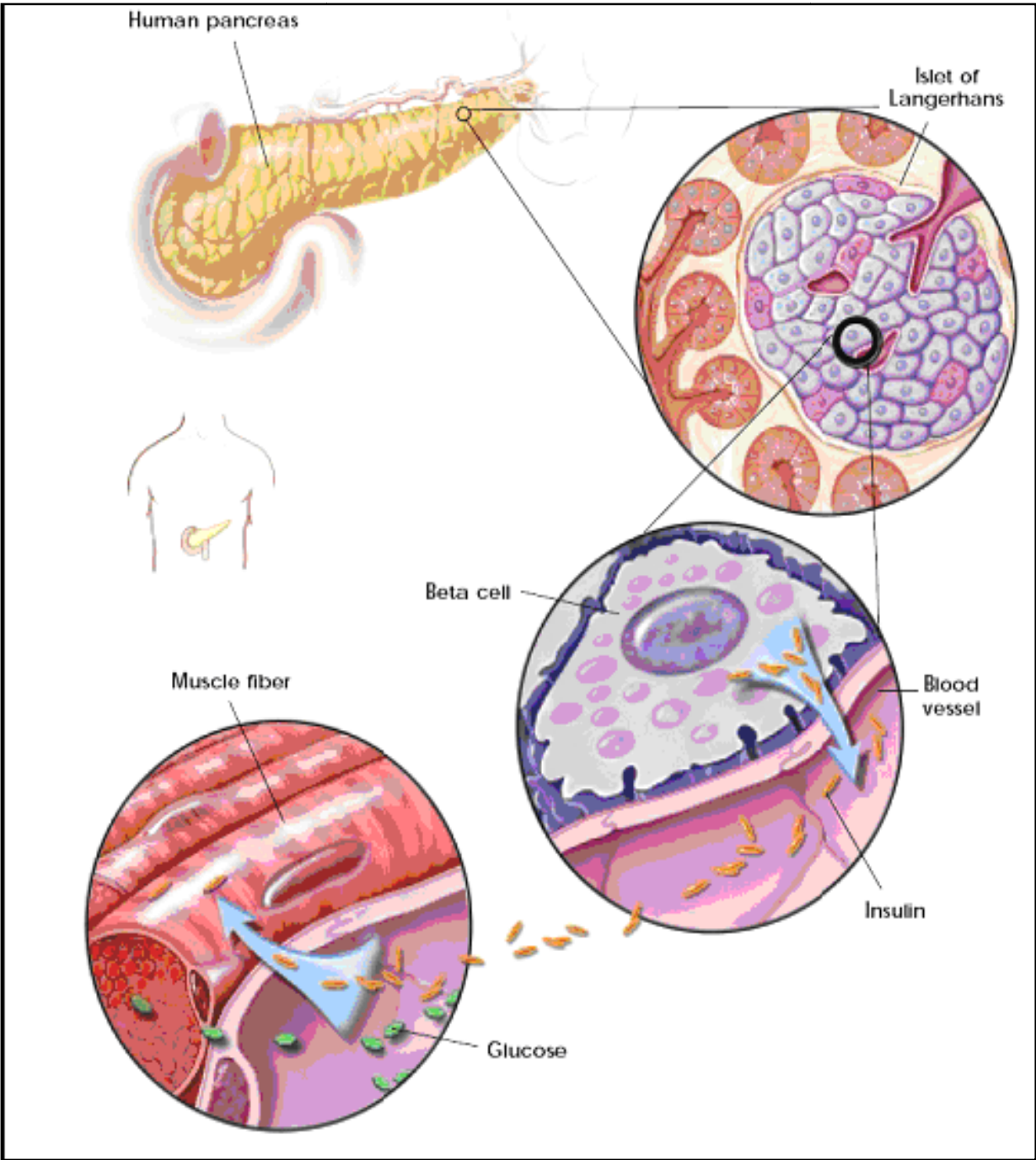


Figure 33: Production d'insuline dans le pancréas humain [19]

2.2 Historique de la thérapie cellulaire du diabète de type 1 :

Le diabète de type 1 est une maladie connue depuis des siècles, les importantes découvertes permettent l'avancée des recherches. [116]

Tableau IV : historique de la thérapie cellulaire du diabète.

1966	Alan Chaya	Allogreffe du tissu cellulaire d'ilots chez le chien.
1967	Paul Laucy	Isole des ilots de langerhans de rat.
1974	Sutheland	Isole des ilots de langerhans humains.
1980	Sutheland	Première allogreffe d'ilots chez le diabétique.
2000	James Shapiro	La greffe d'ilots devient une réalité dans le traitement du diabète.
L'avenir		L'autogreffe de cellules souches pancréatiques restaure l'insulino-sécrétion chez le diabétique.

3. La thérapie cellulaire :

La **transplantation d'îlots** comme traitement potentiel du diabète a été explorée intensivement depuis ces quinze dernières années. Le but de la greffe d'îlots est d'améliorer l'équilibre glycémique du receveur, dans l'espoir d'améliorer sa qualité de vie et de le protéger des complications liées au diabète. Ceci se fait au prix d'un traitement immunosuppresseur (anti-rejet) potentiellement à vie. La transplantation d'organes provenant d'humain a montré des résultats satisfaisants. Cependant, la « disponibilité des organes » pose de gros problèmes. En effet, la proportion donneur / receveur est très faible. Les chercheurs ont tenté de trouver des solutions à cette « pénurie » d'organes. [115, 117, 118]

Actuellement, il **existe trois sources** principales de cellules renouvelables qui peuvent être utilisés.

1. Les xeno-îlots.
 2. Les lignées tumorales ou les lignées transformées
 3. Les cellules souches.
- Concernant les **xeno-îlots**, le porc a été identifié comme le donneur animal le plus adapté. Cependant, en plus du rejet de greffes, le risque de contamination virale est un problème supplémentaire des xéno transplantations.
 - En ce qui concerne les **lignées tumorales ou transformées**, d'origine pancréatique, leur utilisation dans la thérapie cellulaire du diabète est restreinte par plusieurs inconvénients comme par exemple une grande sensibilité au glucose, pour des concentrations faibles en celui-ci.
 - Et la dernière alternative utilisée pour la transplantation d'organes ou de tissus est l'utilisation de **cellules souches**, qui comme nous avons pu le voir

précédemment sont des cellules capables **d'auto-renouvellement** et de **différenciation multi-lignage**. [115, 118]

Le concept de remplacement des cellules bêta par des cellules souches a été proposé pour la première fois par **Paul Laucy** en 1967. [119]

Plusieurs groupes de chercheurs ont rapporté par la suite des résultats encourageants en montrant la possibilité d'obtenir des cellules sécrétant de l'insuline à partir de cellules souches embryonnaires et aussi à partir de cellules souches adultes ; (Figure 34)

L'utilisation de cellules souches en tant que source potentielle des cellules bêta permettrait de résoudre le problème de la quantité d'îlots disponibles. Cette voie de recherche est à l'heure la plus prometteuse.

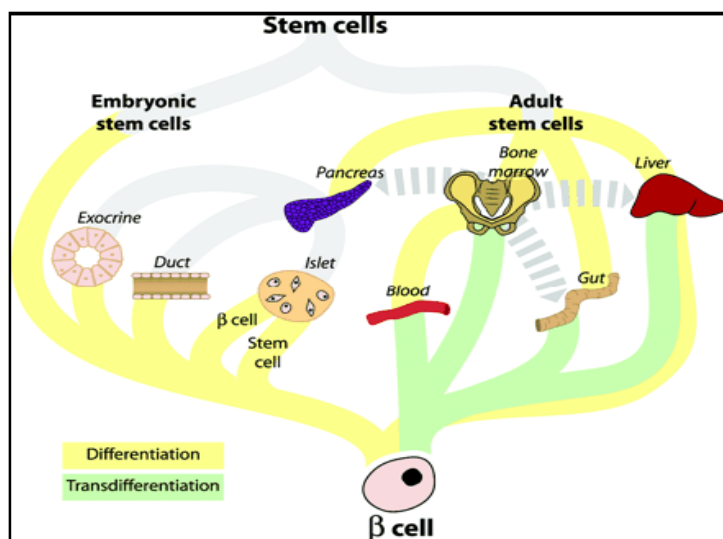


Figure 34 : Obtention de cellules bêta du pancréas [19]

3.1 Utilisation des cellules souches embryonnaires :

Les cellules ES sont considérées comme une source potentiellement illimitée de cellules appropriées à la génération des cellules sécrétant de l'insuline.

La découverte des méthodes pour isoler et accroître les cellules souches embryonnaires humaines en 1998 a donné beaucoup d'espoir aux médecins, aux chercheurs, aux patients et à leurs familles.

Des études récentes chez les souris ont montré que des cellules souches embryonnaires peuvent se différencier en cellules bêta. [115, 120]

En effet, ces cellules sont capables de **normaliser l'homéostasie du glucose** lorsqu'elles sont transplantées dans un modèle expérimental de diabète ; (Figure 35)

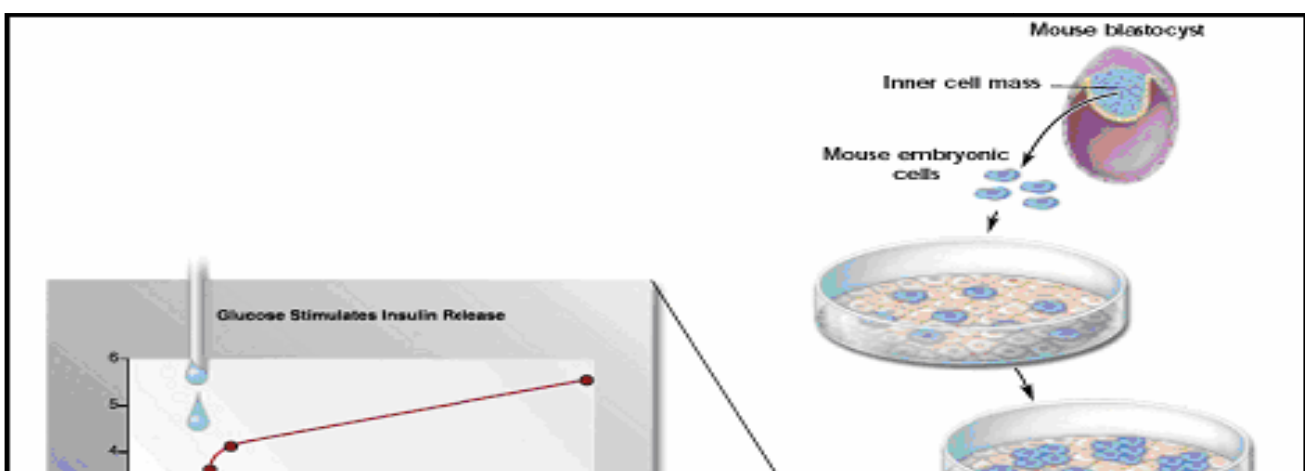


Figure 35 : Production de cellules sécrétant de l'insuline à partir de cellules
ES issues de souris [19]

Afin d'obtenir ces cellules qui ont la capacité de sécréter de l'insuline, trois étapes sont nécessaires :

- La différenciation
- La sélection de lignage
- La maturation

Le processus de différenciation commence avec des ES non différenciées pluripotentes qui sont cultivées en l'absence de facteur inhibiteur de leucémie (FIL) et cultivées dans des plaques bactériennes, formant des corps embryoides (CE). Les CE expriment des transcriptions de gènes spécifiques endocrines (insuline, glucagon et Peptide pancréatique) et exocrines (amylase, élastase et carbopeptidase), suggérant que les facteurs transcriptionnels impliqués dans leur régulation sont fonctionnels dans ces cellules souches embryonnaires.

Pour améliorer la différenciation, il faudra utiliser des conditions de culture adéquate afin d'augmenter la proportion des précurseurs d'îlots. En effet, lorsque les cellules ES se différencient en l'absence de facteurs de différenciation spécifiques, une fraction faible de cellules possède les caractéristiques des cellules bêta.

La stratégie de sélection de lignage cellulaire est basée **sur l'expression de l'insuline**. Les cellules ES sont transfectées par une construction chimérique contenant le gène de la néomycine (antibiotique) et le gène de la bêta-galactosidase. Ces deux gènes sont sous le contrôle de la région promotrice du gène de l'insuline. Ceci permet donc la sélection de cellules sécrétant l'insuline. (Figure 36)

De plus, l'expression de la β -galactosidase rend possible **l'identification histochimique** de cellules transplantées. Le système de sélection de lignage cellulaire peut avoir de multiples variants, comme l'utilisation de région promotrice d'autres marqueurs, par exemple Pdx-1

(pancreatic duodenum homeobox) et PP (polypeptide pancréatique).

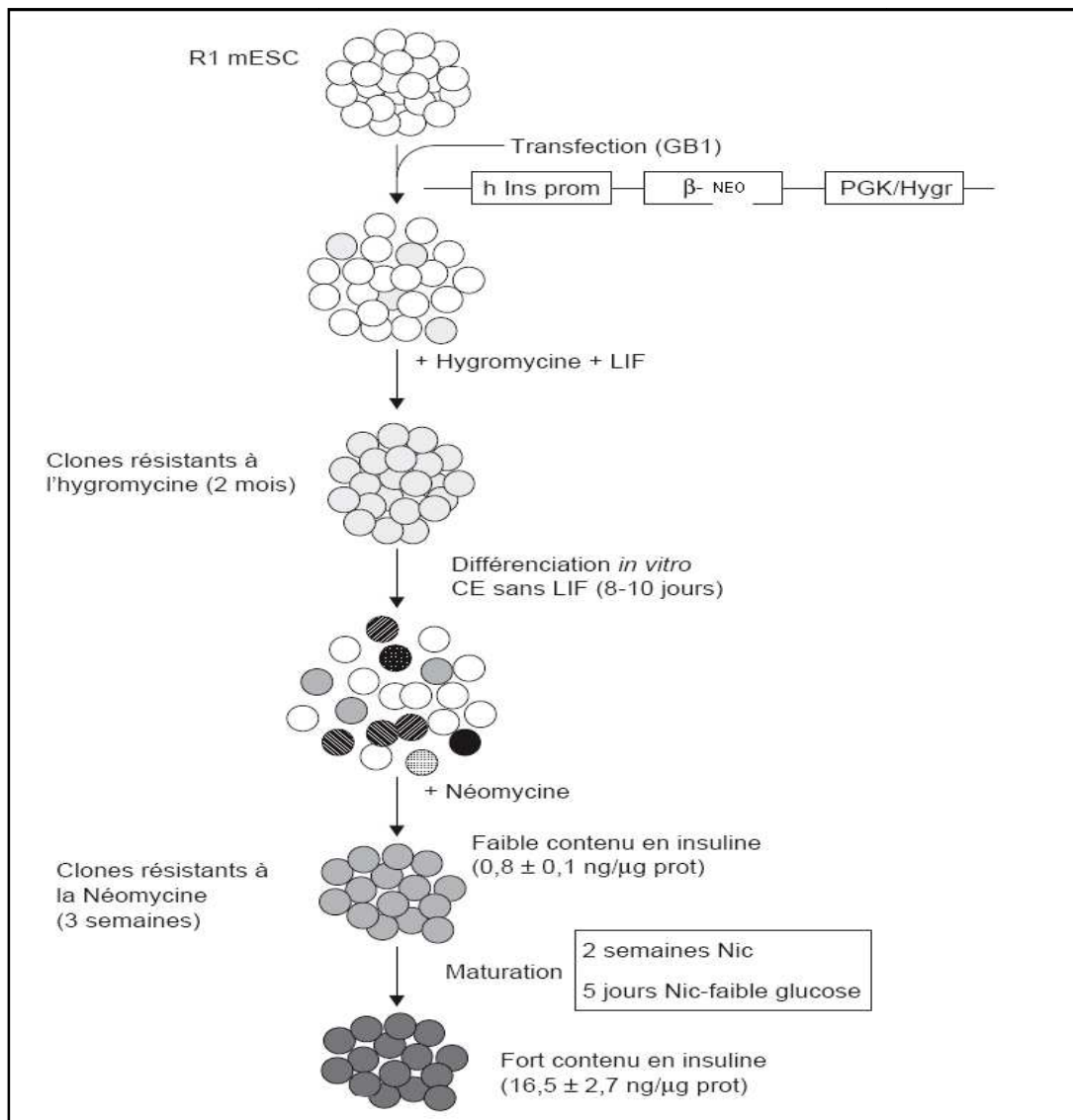


Figure 36 : Production *in vitro* de cellules sécrétant de l'insuline [115]

Le point le plus difficile est d'atteindre **un équilibre** entre la **prolifération** des précurseurs, nécessaire pour obtenir une masse adéquate, et le processus de **maturation** de cellules. Les signaux qui favorisent la prolifération ne rendent pas les cellules mûres.

Bien que les étapes exactes à travers lesquelles les cellules passent pendant la différenciation *in vitro* soient inconnues, la différenciation *in vitro* peut récapituler certaines étapes du développement *in vivo*. Par conséquent, la majorité des protocoles de maturation sont basés sur les connaissances acquises lors d'études sur les îlots foetaux, la régénération pancréatique du rat et les cellules adultes du canal pancréatique. Les meilleurs résultats ont été obtenus en exposant les cultures de cellules proliférantes à 10 mM de nicotinamide + 25 mM de glucose pendant 2 semaines puis 10 mM de nicotinamide + 5 mM de glucose pendant 5 jours. Ce protocole a donné des cellules ayant un fort contenu en insuline.

Quand ces cellules contenant de l'insuline ont été transplantées à des souris diabétiques, **leur glycémie se normalisait** dans la semaine et le poids corporel se rétablissait en quatre semaines. Le suivi à long terme de ces animaux montrait que le glucose restait à des taux normaux après 40 semaines. De plus, l'immunohistochimie retrouvait des cellules positives pour l'insuline 4 mois après la greffe.

Les travaux de Blyszczuk et al en 2003, montrent que certains facteurs sont nécessaires pour obtenir des cellules sécrétrices d'insuline. Parmi ceux-ci, on cite **Pdx1** et **Pax-4**. Leur implication a été démontrée chez des souris.

En effet, les souris possédant Pdx-1 mutant ne développent pas de pancréas. De plus, les souris déficientes en Pax-4 sont toutes diabétiques. Les auteurs ont donc analysé l'influence de l'expression constitutive des gènes Pdx1 et Pax4 sur la différenciation des cellules ES en cellules pancréatiques.

Pour induire la formation de cellules sécrétrices d'insuline, les chercheurs ont utilisé une stratégie permettant la surexpression du gène Pax4 dans les cellules ES.

Cette stratégie a permis d'obtenir un nombre important de cellules sécrétant de l'insuline. Ces résultats prouvent que le **gène Pax1** doit jouer un rôle important dans la **différenciation des cellules ES en cellules bêta pancréatiques**. De plus, le fait que les cellules alpha et bêta se développent à partir de précurseur positif Pdx-1 suggère que toutes les cellules des îlots de Langerhans proviennent d'un **progéniteur endocrine commun**. [115, 120]

3.2 Utilisation de cellules souches foetales :

Plusieurs groupes de chercheurs étudient l'utilisation du **tissu foetal** comme source potentielle pour la production de cellules composant les îlots de Langerhans. Par exemple, les chercheurs ont transplanté des îlots foetaux d'humains isolés ou le tissu entier chez des souris Nude.

Les chercheurs ont conclu que les **cellules précurseurs** des îlots cultivés pouvaient **proliférer** et se **différencier** en un tissu fonctionnel. Cependant, les cellules extraites des îlots (donc déjà différenciées) ne pouvaient plus se proliférer une fois greffées. Malgré ces résultats encourageants, les chercheurs ont trouvé qu'il était également difficile de réaliser des cultures de cellules foetales capables de se différencier en îlots.

L'utilisation de **cellules souches foetales** pour la **production** de cellules pancréatiques est donc **limitée**. [115, 121]

3.3 Utilisation des cellules souches adultes :

La possibilité de générer une nouvelle cellule bêta à partir de cellules souches adultes isolées permettrait d'éviter les **problèmes d'éthique** liés à l'utilisation des cellules ES :

✓ Les MAPC

Ces cellules souches issues de la moelle osseuse sont capables, *in vitro* et *in vivo*, de se **différencier** en cellules avec des caractéristiques viscérales mésodermiques, neuroectodermiques et endodermiques comme expliqué plus haut. Ces cellules présentent des **sources potentielles** pour de nouvelles **cellules des îlots**. Le manque de marqueurs concluants et de systèmes d'essais fiables a rendu difficile la caractérisation et la vérification de telles cellules. [122]

✓ Le mécanisme de fusion cellulaire

Une équipe de chercheur a proposé des expériences de « fusion cellulaire ». Les résultats ont permis de conclure que ce phénomène de fusion de cellules pourrait être considéré comme une possibilité de produire des cellules bêta fonctionnelles. En effet, la fusion des cellules transplantées avec les cellules endommagées pourrait être considérée comme un moyen de produire des cellules bêta fonctionnelles. Cependant, le pancréas est constitué d'un environnement difficile à atteindre. Les expériences *in vivo* semblent difficiles à réaliser. [119]

✓ **Les candidats proposés sont :**

- **les cellules « nestin-positives »** isolées d'îlots murins et humains ;
- **des cellules précurseurs intra-îlot** exprimant la somatostatine et le facteur de transcription Pdx-1 ;
- **les cellules souches adultes hépatiques** (cellules ovales);
- **les cellules des canaux.**

Parmi tous ces candidats, **les cellules souches pancréatiques** semblent être les **cellules des canaux**. Bonner-Weir et coll. ont démontré que le tissu des canaux de pancréas humain peut être étalé en culture et puis être dirigé vers une différenciation en tissu des îlots répondant au glucose *in vitro*. Les «bourgeons» d'îlots humains obtenus à partir de cellules des canaux pancréatiques humains exprimaient plusieurs facteurs de transcription qui sont normalement observés dans l'ontogenèse pancréatique. De plus, les « bourgeons » multipliaient par deux l'insuline sécrétée quand ils étaient exposés à des concentrations stimulantes de glucose. Donc, l'identité des cellules souches adultes pancréatiques est encore **inconnue**, mais une meilleure caractérisation des candidats cellulaires mentionnés ci-dessus (particulièrement les précurseurs cellulaires obtenus à partir des cellules des canaux) devrait permettre l'identification correcte des cellules souches adultes pancréatiques. [115, 122]

Ces cellules ont pu, par le passé, être générées *in vitro* à partir de cellules souches indifférenciées, mais des lignées cellulaires stables et fonctionnelles n'avaient jamais pu être établies, en dépit d'efforts intensifs.

Des chercheurs de l'INSERM et du CNRS semblent avoir enfin résolu ce défi, en décrivant un protocole expérimental aboutissant à l'établissement des premières lignées de cellules pancréatiques humaines productrices et sécrétrices d'insuline.

Ce protocole a été initialement transféré sur un tissu pancréatique foetal, un gène viral immortalisant (SV40LT), par l'intermédiaire d'un vecteur lentiviral. Ce gène a été placé de façon astucieuse sous le contrôle du promoteur du gène codant l'insuline, conférant ainsi un avantage sélectif aux cellules sécrétant l'hormone. Les cellules ainsi modifiées ont ensuite été greffées sur une souris immunodéficente, où elles ont pu se différencier et former des îlots pancréatiques fonctionnels.

Après quelques mois, les amas cellulaires ont été réimplantés sur d'autres souris puis amplifiés en culture avant de donner naissance à des lignées de cellules stables.

Une de ces lignées, qui présentait des caractéristiques moléculaires et fonctionnelles en tout point similaires à celles d'une cellule humaine adulte, a été transplantée dans un modèle de souris diabétique. Les animaux greffés ont rapidement normalisé leur glycémie, ce qui a confirmé l'efficacité du clone cellulaire injectée. [123]

4. Conclusion :

En conclusion, nous pouvons dire que les **cellules souches embryonnaires et adultes** sont des sources potentielles pour la production de cellules sécrétrices d'insuline. A présent, il est difficile de dire quelle est la

source la plus prometteuse car la différenciation des cellules bêta est complexe. Il semblerait tout de même que les cellules souches adultes (particulièrement celles provenant du pancréas) aurait une meilleure capacité à se différencier en cellules bêta. Par contre, les cellules embryonnaires possèdent une grande capacité de prolifération mais la différenciation semble être un réel problème.

Les recherches continuent sur les deux types de cellules souches car les avancées concernant les cellules souches embryonnaires pourraient aider à améliorer les recherches faites sur les cellules souches adultes et vice versa. Avant que le potentiel et les capacités des cellules souches soient développés pour le traitement du diabète, de nombreuses recherches sur la biologie des cellules souches doivent être réalisées pour comprendre les phénomènes de prolifération, de différenciation et de reprogrammation de ces cellules. [124]

Enfin, nous pouvons dire que la thérapie cellulaire du diabète de type 1 représente une alternative potentielle aux injections quotidiennes d'insuline, et donc, une amélioration conséquente des conditions de vie des patients.



4 EME PARTIE :

*« ASPECTS ETHIQUES, JURIDIQUES ET
RELIGIEUX DE LA RECHERCHE SUR LES
CELLULES SOUCHES HUMAINES »*



La recherche sur les cellules souches humaines est une vraie illustration des conflits de valeurs bioéthiques, juridiques ainsi que religieuses d'une part et des espoirs et perspectives que présente l'utilisation de ces cellules qui offre une alternative aux dons d'organes et de tissus et aux problèmes de rejet de greffon , d'autre part .

1. Contexte éthique

Éthique : vient des termes « ithos » qui signifie la tenue de l'âme et « ethos », complémentaire du précédent, pour désigner l'ensemble des normes ou des habitudes communes nées du respect. Le but de l'éthique en ce qui concerne le domaine scientifique, est de signaler les différents problèmes potentiels mais aussi d'indiquer les objectifs ainsi que les progrès envisageables grâce aux expériences. L'éthique doit indiquer à la société quelles sont les limites et prévenir les applications dangereuses du monde scientifique, mais elle doit également apporter son soutien à ce qui est raisonnable et nécessaire. Ceci est difficilement applicable dans la réalité puisque le problème est justement de savoir où poser les limites. [129]

Il importe de rappeler **les principes éthiques fondamentaux** [125]

- Le principe du respect de la dignité humaine.
- Le principe de l'autonomie individuelle qui exige l'obtention d'un consentement éclairé, et le respect de la vie privée et de la confidentialité des données personnelles.
- Le principe de justice et de bienfaisance plus précisément, sous l'angle de l'amélioration et de la protection de la santé.
- Le principe de la liberté de la recherche qui doit être conciliable avec les autres principes fondamentaux.

- Le principe de proportionnalité notamment le fait que les méthodes de recherche soient indispensables aux objectifs poursuivis et qu'il n'existe pas d'autres méthodes plus acceptables.

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

1.1) Pour le stade embryonnaire :

Les recherches sur l'embryon et sur les cellules souches embryonnaires sont emblématiques des débats de bioéthiques actuels dans le monde.

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

✓ Les arguments en faveur d'un interdit absolu. [126,127]

- *Le concept du continuum de la vie*

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

- *L'embryon est protégé par le principe de dignité*

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

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

Face à ces positions restrictives quant à de possibles recherches, s'expriment des appréciations différentes qui permettent d'envisager, plus ou moins largement, la recherche sur les embryons et la création de lignées de cellules souches embryonnaires. [126]

- *L'embryon ne peut être réduit aux cellules souches embryonnaires.*

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

- *Embryon et thérapeutique*

Les recherches impliquant l'utilisation de cellules ES pourraient être justifiées par leur finalité thérapeutique indépendamment de la nature et du statut conférés à l'embryon. C'est la position défendue notamment par quelque chercheurs qui refusent de voir l'embryon comme un simple « grumeau cellulaire » tout en considérant les bénéfices potentiels en termes de progrès scientifiques et médicaux qui pourraient permettre de soigner des maladies graves souvent incurables avec nos techniques actuelles et permettre ainsi de telles recherches.

1.2) Le prélèvement fœtal

Les cellules fœtales prélevées à l'issue d'interruptions volontaires de grossesse (IVG) peuvent soulever des questions éthiques, dont les conditions d'obtention peuvent susciter des interrogations quant au respect du consentement de la femme. Il faut en effet veiller à ce que les informations sur l'IVG et celles concernant les prélèvements sur le fœtus, soient clairement dissociées afin d'éviter tout risque d'influence d'une opération sur l'autre. [32, 126,129]

1.3) Les prélèvements post natals ou les cellules souches adultes

L'utilisation des cellules souches adultes à des fins scientifiques, thérapeutiques ou de recherche biomédicale, ne soulève pas en soi de problème éthique ou juridique majeur. Cette affirmation se vérifie particulièrement dans le cadre de la thérapie cellulaire autologue. Mais, il est nécessaire d'avoir un protocole ayant l'approbation d'un Comité de protection des personnes,

Lorsque les cellules souches sont prélevées en situation allogénique, les questions éthiques qui surgissent sont similaires à celles que pose le don d'éléments du corps humain. Elles portent essentiellement sur le consentement libre et éclairé du donneur ainsi que sur le respect de son anonymat.

Du point de vue du receveur, c'est la question de la sécurité sanitaire des interventions et des produits prélevés qui se posent en premier. Elle peut désormais être perçue comme un droit de la personne malade. [32, 126]

1.4) le clonage thérapeutique

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

Comme elle peut poser également de gros problèmes d'éthique si elle tombe dans la dérive du clonage reproductif.

Une autre dérive concernant le clonage est la possible commercialisation des ovocytes. En effet, puisque la technique de clonage a besoin d'ovocytes, le risque est de sombrer dans un trafic d'ovocytes, par la rémunération et/ou l'exploitation de femmes donneuses. Ce risque existe tout particulièrement pour les femmes des pays en voie de développement. [125,126]

2. Le contexte juridique

2.1) Situation juridique au niveau national

Il n'y a pas de loi réglementant spécifiquement la recherche sur les cellules souches dans notre pays.

2.2) Situation juridique dans les pays européens [134,130]

Au niveau du conseil de l'Europe, la convention sur les droits de l'homme et la biomédecine, signée à Oviedo en 1997, prévoit à l'article 18, qu'il appartient à chaque pays de décider d'autoriser ou non la recherche sur l'embryon, chaque pays est seulement tenu au respect de 2 conditions : assurer « une protection adéquate de l'embryon » c'est à dire adopter une législation qui fixe les conditions et les limites de cette recherche, et interdire « la constitution d'embryons humains aux fins de recherche ».

Différentes législations sont adoptées selon les pays :

- L'Irlande est le seul pays de l'union européenne dont la constitution consacre le droit à la vie de l'enfant « à naître », qui est égal au droit à la vie de la mère.
- Certains pays ne disposent d'aucune législation en matière de recherche

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

- Dans les pays où la recherche sur l'embryon est régie par une législation, celle-ci interdit toute sorte de recherche dans ce domaine « Autriche, Allemagne » ou l'autorise sous certaines conditions « Finlande, Espagne, Suède et Royaume Uni » ; en France, où la recherche sur l'embryon est toujours interdite, la loi autorise les études sur l'embryon sous réserve qu'elles ne portent pas atteinte à son intégrité , ainsi la loi du 6 août 2004 relative à la bioéthique permet que des lignées de cellules souches embryonnaires soient dérivées d'embryons surnuméraires conservés et ne faisant pas l'objet d'un projet parental, sous réserve du consentement informé du couple.
- Dans d'autre pays, des projets de loi prévoient la possibilité de créer des embryons par transfert nucléaire, aux seules fins de la recherche sur les cellules souches, c'est le cas en Belgique et au Royaume Uni « dans ce dernier pays, la législation autorisait la création d'embryons pour les besoins de la recherche, mais limitée au traitement de la stérilité, à la contraception ou à la prévention des maladies génétiques ».

2-3) Situation juridique aux Etats -Unis

La situation aux Etats Unis contraste avec celle de l'Europe, l'une des différences notables est la nette distinction qui est opérée entre le secteur public et le secteur privé, depuis 1995 le congrès américain adopte chaque

année une disposition de projet de loi des finances qui interdit le financement public de la recherche sur l'embryon, de la sorte, les National Institutes of Health « NIH » ne peuvent effectuer de recherche sur l'embryon, recherche qui, faute de législation en la matière reste libre dans le secteur privé où elle continue à échapper à tout contrôle.

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

Toutefois de nouveaux principes directeurs des NIH ont été publiés en août 2000 aux termes desquels la recherche sur les cellules ES humaines peut être financée sur des ressources publiques sous réserve du respect des conditions citées plus haut. [130]



Figure 37: Pays autorisant la recherche sur les cellules souches embryonnaires
« en marron » [133]

3. Contexte religieux

Nous avons choisi de donner le point de vue des 3 grandes religions Islam, judaïsme et catholicisme.

3-1 Islam

La notion sacrée de la personne humaine prime dans l'abord de l'embryon. Elle part du principe que la vie est un don de Dieu et que nous sommes chargés de l'entretenir et de ne pas lui porter atteinte.

Les juristes musulmans ont par ailleurs introduit des textes qui complètent le Coran (texte saint) et le Hadith (tradition selon les paroles du Prophète Mohammed), afin d'éliminer toute solution figée et d'autoriser 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.

Alors que 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.

Et d'autres voient que si l'islam permet pour la mère « tronc », en cas extrême de nécessité, de perdre l'enfant « branche », il vaudrait mieux sacrifier des « branches », ici des embryons surnuméraires, pour permettre à des « troncs », des milliers de malades, de guérir. [131,132]

3-2 Le Judaïsme

En judaïsme ; l'être humain est considéré dans son unité, c'est à dire que le corps et l'esprit forment un tout inséparable. Le respect de la vie est donc sacré et absolu. La vie humaine a une valeur infinie, car elle est un don de Dieu et 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. [128,133]

3.3 Le Catholicisme

L'opposition la plus forte dans l'utilisation de l'embryon à des fins thérapeutiques ou de recherche se rencontre sans doute dans la tradition catholique.

	ISLAM	JUDAÏSME	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. [128,133]

Tableau V : l'avis des grandes religions dominantes dans le monde [131,133]

Recherche sur les cellules souches adultes	acceptée	acceptée car toute recherche thérapeutique est un acte pieux	Acceptée car ne met en jeu la vie d'aucun être humain
Cellules souches embryonnaires prélevées sur des embryons « surnuméraires »	acceptée pour les embryons avortés médicalement ou perdus en fausses couches et encore discutée pour les embryons surnuméraires issus de la FIV	acceptée car in vitro les embryons ne sont pas une personne humaine potentielle	refusée car cela entraîne la destruction de ces embryons or l'embryon est un être humain quelque soit le projet des adultes sur lui.
Cellules souches embryonnaires obtenues par clonage thérapeutique	refusée car il s'agit d'un détournement de l'ovule de sa voie naturelle	acceptée car il n'y a pas utilisation de sperme.	Refusée comme précédent

4 .Conclusion

Après avoir abordé l'aspect éthique, juridique et religieux concernant les cellules souches, nous avons pu constater qu'il est bien difficile de savoir dans quelle

mesure il faut réguler les recherches sur l'embryon humain. En effet, il s'avère exister une multitude d'arguments en faveur, tout comme en défaveur, de l'utilisation des embryons à des fins thérapeutiques. Toutefois, avec le peu d'expérience et de connaissances que nous avons à ce propos, on a tenté de discuter de la pertinence des différents points de vue, sans pour autant prendre catégoriquement position.



Conclusion



A l'issue de ce travail, on peut dire que l'identification des cellules souches constitue une innovation majeure de la recherche en biologie comme en médecine régénérative, on en a pour preuve le nombre grandissant des articles

qui traitent les avancées et l'évolution des travaux fondamentaux ces dernières années dans ce domaine, ouvrant ainsi des perspectives extrêmement importantes et on se trouve peut-être au seuil d'une révolution fantastique de la médecine de demain qui nourrit les espoirs les plus fous : guérir des maladies neuro-dégénératives ; la maladie de Parkinson ..., trouver des traitements plus pertinents pour le diabète, les infarctus, les brûlures et d'autres , tout cela serait possible dans un futur plus ou moins proche.

Toutefois, il reste difficile d'établir une hiérarchie en matière de cellules souches. Il n'existe actuellement aucune donnée scientifique attestant de la supériorité d'un certain type de cellules sur un autre. Donc, j'ai essayé de développer toutes les particularités, les avantages et les inconvénients des différents types de cellules souches en matière de thérapie régénératrice dans ce rapport, il n'est certes pas exhaustif, mais, il a essayé de présenter toutes les questions importantes qui se posent avec leurs évolutions les plus récentes. Beaucoup d'autres questions restent à élucider. Les chercheurs doivent encore étudier la façon d'isoler directement les cellules souches, le processus qui régit l'absence de rejet des greffes... Autant de mystères qui ne permettent pas toujours aux scientifiques d'entamer des essais cliniques. Les nombreux espoirs que les médecins et les malades fondent sur la thérapie cellulaire ne sont pas pour autant irréalistes.

Ce rapport a aussi mis l'accent sur les problèmes éthiques, politiques et idéologiques surtout lorsqu'il s'agit de travaux effectués sur des embryons et des foetus avortés. La législation doit également pouvoir évoluer avec ces nouvelles

recherches et ces nouvelles applications thérapeutiques, tout comme elle doit pouvoir encadrer les essais cliniques sur les humains.

L'impression finale qu'on garde c'est que la recherche dans ce domaine reste pleine d'incertitudes et de mystères toutefois très prometteurs. Il y'a donc toujours un très grand besoin de recherche fondamentale dans ce domaine. , qui est en cours et dont l'accélération est prévisible dans les cinq années à venir pour pouvoir valider les champs thérapeutiques réels d'utilisation des différentes cellules souches.



Résumé



Résumé

Titre : thérapie cellulaire : applications et perspectives

Auteur : Fatima Ezzahra MOUJIDI

Mots clés : thérapie cellulaire, cellules souches, greffe tissulaire, greffe cellulaire

La découverte des cellules souches ou cellules de « l'espoir » a fait un véritable big bang biologique. En ouvrant la voie à la possibilité de réparer n'importe quel organe endommagé. Ces cellules ont inventé par conséquent une nouvelle médecine qui est la médecine régénératrice.

Trois principaux types de cellules souches sont disponibles : Les cellules souches embryonnaires provenant de la masse interne du blastocyste, ces cellules ont un grand potentiel de prolifération et de différenciation. Ensuite, les cellules souches fœtales isolées à partir de tissus fœtaux ou du cordon ombilical. Enfin, celles présentes dans le tissu sain adulte, ces cellules possèdent une grande plasticité c'est-à-dire qu'elles peuvent se différencier en d'autres cellules que celles des tissus dans lesquels elles sont présentes.

Leur utilisation en matière de thérapie cellulaire est très large. Cependant, l'extrême complexité structurelle et fonctionnelle des cellules, tissus et organes de notre corps nuance les perspectives. A l'heure actuelle, l'application de ces techniques ne s'est intéressée qu'à l'hématologie et le traitement des brûlures où cette thérapie a fait ses preuves, et on n'ignore pas leurs promesses fabuleuses et très prochaines dans le traitement de la maladie de parkinson, du diabète de type 1 et dans le traitement de l'insuffisance cardiaque ainsi que dans d'autres applications...

Il faut aussi noter que l'utilisation de ces cellules souches et surtout les cellules souches embryonnaires et germinales soulève un débat d'ordre éthique, juridique ainsi que religieux qui limite un peu les avancées des recherches d'où l'importance majeure de prendre des décisions conscientes et lucides pour pouvoir évoluer avec ces nouvelles approches thérapeutiques, et encadrer les essais cliniques sur les humains en tenant compte du droit des malades et du droit des chercheurs.

Summary

Title: cellular therapy: applications and perspectives

Author: Fatima Ezzahra MOUJIDI

Key words : cellular therapy, original cells, tissue graft, cellular graft

The discovery of the original cells or cells of the hope made true a veritable big bang biologic, by opening the way with the possibility of repairing any damaged body, inventing consequently a new medicine which is regenerating medicine.

Three principal types of stem cells are available. The embryonic stem cells coming from the blastocyst inside mass, these cells have a great potential of proliferation and differentiation. Then, the foetal stem cells isolated starting from foetal tissue or from the umbilical cord. Lastly, those present in adult healthy fabric, these cells have a big plasticity because they can be different in other cells that those from the fabrics in which they are present.

Their use as regards cellular therapy as large, therefore, extreme complexity structural and functional of the cells, fabrics and bodies of our body moderates the prospects, one then notes just their current application in haematology as in treatment of burn which already made proof in many work, but one is not unaware of their fabulous promises and very next in the treatment of Parkinson, the diabetes of type1 and in the treatment of cardiac failure like in other applications...

We should also note that the use of these original cells and especially the original cells embryonic and germinal reveal an ethical debate of order, legal like monk which limits a little the projections of research from where importance major to make conscious and lucid decisions to be able to move with these therapeutic new approaches, just like they must be able to frame the clinical trials on the human ones and to take account of the right of the patients and the right of the researchers.

ملخص

العنوان: العلاج الخلوي تطبيقات و افاق

المؤلف: فاطمة الزهراء مجديدي


الكلمات الأساسية: العلاج الخلوي, الخلايا الجذعية, الزرع النسيجي, الزرع الخلوي

إن اكتشاف الخلايا الجذعية أو خلايا " الأمل " حقق انفجارا بيولوجيا كبيرا لأنه فتح الطريق أمام إصلاح أي عضو مريض، محدثا بذلك طباً جديداً وهو الطب التعويضي.


هناك ثلاث أنواع مهمة من هذه الخلايا وهي، الخلايا الجذعية الجنينية الآتية من الكتلة الداخلية للبلاتوستوسيسست وتتميز بقدرة كبيرة على التكاثر و التفريق، ثم الخلايا الجذعية الحميلية و تستخرج من نسيج الحمل أو من الحبل السري، وأخيرا الخلايا التي توجد في النسيج البالغ، و تتميز بخاصية المرونة أي أنها يمكن أن تتفرق إلى خلايا نسيج آخر غير الذي كانت فيه.

كما أن استعمال الخلايا الجذعية كعلاج ليس محصورا في مجال دون آخر، لكن التعقيدات البنوية والوظيفية للخلايا وللأعضاء في الجسم تحول دون التطلعات المنتظرة. لكن نسجل رغم ذلك استعمالها الكبير في علاج أمراض الدم و كذلك في تعويض الحروق الجلدية، كما لا نهمل الوعود اللامعة والقريبة في معالجة مرض بركنسون و مرض السكري ثم محاولة تعويض القلب بعد ذبحة صدرية و استعمالات أخرى شتى...

غير أن استعمال هذه الخلايا وخاصة الخلايا الجنينية و المشجبة يطرح تساؤلات كبيرة أخلاقية قانونية و دينية التي تحول دون تقدم الأبحاث، لذا يجب اتخاذ قرارات واعية ومسئولة حتى يمكن تطوير هذا النوع الجديد من العلاج وتقنين التجارب على الإنسان اخذين بعين الاعتبار كلا من حقوق المرضى وحقوق الباحثين.



*Références
Bibliographiques*



- 1) **Le Douarin N.** Thérapie cellulaire régénérative. *C. R. Biologies.* **2007**; 330: 457-464

- 2) **Mathé G., Amiel J.L., Schwarzenberg L., Cattan A., Schneider M.** Haematopoietic chimera in man after allogenic (homologous) bone-marrow transplantation: control of the secondary syndrome, specific tolerance due to the chimerism. *British Medical Journal.* **1963** ; 28 : 1633-1635

- 3) **Jacob F.** Cellules souches et thérapie cellulaire. *La lettre de l'Académie des sciences.* **2002** ; 4 : 5

- 4) **Thomson JA., Itskovitz-Eldor J, Shapiro SS., Waknitz, MA., Swiergiel JJ., Marshall VS. and Jones JM.** Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts. *Science.* **1998**; 282 (5395): 1827

- 5) **Andrews PW, Matin MM.** Embryonic Stem (ES) cells and embryonal carcinoma (EC) cells: opposite sides of the same coin. *Biochem Soc Trans.* **2005**; 33(6): 1526-30.

- 6) **Evans MJ, Kaufman MH.** Establishment in culture of pluripotential cells from mouse embryos. *Nature.* **1981**; 292: 154-6

- 7) **Bongos A, Fong CY, Ng SC, Ratnam S.** Isolation and culture of inner mass cells from human blastocysts. *Hum Reprod.* **1994**; 9: 2110-7

- 8) **Thomson JA, Kalishman J, Golos TG et al.** Isolation of a primate embryonic stem cell line. *PNAS (USA)*. **1995**; 90: 7844-8
- 9) **Pera MF, Reubinoff BE, Trounson A.** Human embryonic stem cells. *Science*. **2000**; 113: 5-10
- 10) **Reubinoff BE, Pera MF, Fong CY, Trounson A, Bongos A.** Embryonic stem cell lines from human blastocyst: somatic differentiation in vitro. *Nature Tech*. **2000**; 18: 399-404
- 11) **Masako M, Grothos S, Mingrui Z et al.** SHED: stem cells from exfoliated deciduous teeth. *PNAS*. **2003**; 100: 5807-12
- 12) **Hwang WS, Ryu YJ, Park JH et al.** Evidence of a Pluripotent Human Embryonic Stem Cell Line Derived from a Cloned Blastocyst. *Science*. 12 February **2004**
- 13) **ZHANG X, et al.** Derivation of human embryonic stem cells from developing and arrested embryos. *Stem Cells*, **2006**; 24 : 2 669-76
- 14) **Encha-Razavi F et Escudier E.** Embryologie humaine; de la molécules a la clinique. *Encycl Méd Chir Gynécologie/Obstétrique*. **2002**; 5-001-A-50: 26
- 15) **Brewis IA., Moore HD.** Molecular mechanisms of gamete recognition and fusion at fertilization. *Hum reprod*. **1997** ; 12 (Sup 11) : 156-65

- 16) **Samir Hamamach Glie Saliba** . Médecine et biologie de reproduction .
gynecologie obstétrique **2004**
- 17) **Edwards RG. and Hansis C.** Initial differnciation of blastomeres in 4-cell human embryos and its significance for early embryogenesis and implantation. *Reprod Biomed Online*. **2005** ; 11 (2) : 206-18
- 18) Stem Cells: Scientific Progress and Future Research Directions. Department of Health and Human Services. <http://stemcells.nih.gov/info/scireport>. June **2001**.
- 19) **Keller R.**, Cell migration during gastrulation. *Cell Biol*. **2005**; 17(5): 533-41
- 20) **Vogel G.** Embryology. Embryologists polarized over early cell fate determination. *Science*. **2005**; 308(5723): 782-3
- 21) **Edgar D. et al.** Topography, stem cell behaviour, and organogenesis. *Pediatr. Surg. Int*. **2004**; 20(10): 737-40
- 22) **Poirier J.** Atlas histologie moléculaire. **1999**
- 23) **Alberts, et al.** Molecular Biology of the Cell. *Stem cell* **2002**; 4
- 24) **Semb H.** Human embryonic stem cells: origin, properties and applications. *Stem cell* **2005**; 113(11-12): 743

- 25) **Vincent G.** Cellules ES, clonage thérapeutique et clonage reproductif discussion et discernement bioethique. *Science & culture*. **2006** ; 401
- 26) **Jacob F.** Le monde des cellules souches. *C. R. Biologies*. **2002** ; 325 : 999–1002.
- 27) **Hotzfeld A., Peiffer I., Hotzfeld J.** Les cellules souches embryonnaires humaines, probleme pratique et potentialité scientifique. *Pathologie biologie*. **2006**; 54: 94-99
- 28) **Liew CG, Moore H et al.** Human embryonic stem cells: possibilities for human cell transplantation. *Science* **2005**; 37(7): 521-32
- 29) **Brustle O, Jones K, Learich R et Coll.** Embryonic stem cell derived glial precursors; a sources of myelinating transplants. *Science* **1999**; 285: 754-756
- 30) **Kehat I., Kenyagin-Karsenti D., Snir M. et al.** Human Embryonic Stem Cells Can Differentiate into Myocytes with Structural and Functional Properties of Cardiomyocytes. *Nature* **2001**; 108, 407-414
- 31) **Pellerin D.** Cellules souches et thérapie cellulaire contribution au débat éthique. *C. R. Biologies*. **2002**; 325: 1059-1063

- 32) **Ashleigh S, Kathryn J Wood.** Transplanting stem cells: Potential targets for immune attack. Modulating the immune response against embryonic stem cell transplantation. *Adv Drug Deliv Rev.* **2005**; 57(13): 1944-69
- 33) **Gudjonsson T., Magnusson MK.** Stem cell biology and the cellular pathways of carcinogenesis. *Molecular and Cell Biology.* **2005**; 113(11-12): 922-9
- 34) **Reyftmam L. et al.** Cellules souches fœtales et du sang du cordon ombilical ; une place pour le gynécologue obstétricien. *Gynécologie obstétrique & fertilité.* **2004**; 32: 969-975
- 35) **Vescovi AL, Parati EA, Gritti A et al.** Isolation and cloning of multipotential stem cells from the embryonic human CNS and establishment of transplantable human neural stem cell lines by epigenetic stimulation. *Exp Neurol.* **1999**; 156: 71-83
- 36) **Dunnett S, Bjorklund A.** Prospects for new restorative and neuroprotective treatments in Parkinson's disease. *Nature.* **1999** ; 399:A32-9
- 37) **Andreoletti M, Pages JC, Mahieu D et al.** Preclinical studies for cell transplantation: isolation of primate fetal hepatocytes, their cryopreservation, and efficient retroviral transduction. *Hum Gene Ther.* **1997**; 8: 267-74
- 38) **Vats A., Bielby RC. et al.** Stem cells. *The Lancet.* **2005**; vol 366: 592-602

- 39) **Broxmeyer HE, Douglas GW, Hangoc G et al.** Human umbilical cord blood as a potential source of transplantable haematopoietic stem/progenitor cells. *Proc Natl Acad Sci USA*. **1989** ; 86: 3828-3832
- 40) **Eliane Gluckman** est Professeur des Universités Praticien hospitalier (PUPH), hématologue, spécialiste des cellules hématopoïétiques de sang de cordon à l'Hôpital Saint-Louis à Paris ; *rapport « cellules souches et choix éthique »* **2006**.
- 41) **Amy JW. and Irving LW.** Plasticity of Adult Stem Cells. *Annual review of cell and development biology*. **2005**; 21: 605-631
- 42) **Laure C.** Cellules souches adultes tissulaires : seing is not being. *Médecine/sciences*. **2003**; 6-7 vol 19
- 43) **Morrison SJ. White PM. Zock C. Anderson DJ.** Prospective identification, isolation by flow cytometry, and in vivo self-renewal of multipotent mammalian neural crest stem cells. *Cell*. **1999** ; 96: 737-49
- 44) **Bourin P., Gadelorge M.** Les espoirs des cellules souches mésenchymateuses en médecine régénérative. *Transfusion clinique et biologiques*. **2007** ; 14 : 120-126
- 45) **Colombel L.** Cellules souches adultes ; intérêt scientifique et avenir thérapeutique. *Gynécologie obstétrique & fertilité*. **2007** ; 35 : 806-810

- 46) **Ali T.** Hématologie « plasticité des cellules souches adultes ». *Revue John Libbey*. Mars **2003** ; vol 9 N2 : 105-16
- 47) **Verfaillie C.** Stem Cell plasticity. *Hematology*. **2005** ; 10 Suppl 1/296-6
- 48) **Ferrari G., Gusella-de Angelis G., Coletta M., Paolucci E., Stormaiuolo A., Cossu G., Maxilio F.** Muscle regeneration by bone-marrow derived myogenic progenitors. *Science* **1998**. 279: 1528-1530
- 49) **Petresen BE., Bowen WC., Patrene KD., Mars WM., Sullivan AK., Murase N., Boggs SS., Greenberger JS., Goff JP.** Bone marrow as potential source of hepatic oval cells. *Science* **1999**. 284: 1668-1170
- 50) **Krause.** La trans-différenciation. *Cell*. **2001**; 105: 369-377
- 51) **Kondo & Raff.** La dedifferentiation. *Science*. **2000**; 289: 1754
- 52) **Wang X., Willenbring H., Akkari Y. et al.** Cell Fusion is the Principal source of Bone-Marrow-Derived Hépatocytes. *Nature*. **2003**; vol 422: 897-901
- 53) **Kahn A.** Cellules souches et médecine régénérative. *Médecine/science*. **2002**; 18: 503-9

- 54) **Pittenger MF., et al**, Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells. *Science* **1999**. 284 : 143-147
- 55) **Georges U.** Les cellules souches endothéliales circulant ; utilisation potentielle en thérapie cellulaire. *Revue Française des Laboratoires*. Janvier **2003** ; 349
- 56) **Philippe M.**, PUPH est chirurgien cardiaque à l'hôpital Georges Pompidouet Directeur d'une Unité de l'INSERM sur les cellules souches musculaires et les pathologies cardiaques. *Rapport « cellules souches et choix éthique »*. **2006**
- 57) **José S.** PUPH est ophtalmologiste spécialiste de la rétine, chef de service de Quinz vingt. *Rapport « cellules souches et choix éthique »*. **2006**
- 58) **Jiang Y., Jahagirdar BN., Reinhardt RK. et al.** Pluripotency of Mesenchymal Stem Cells Derived from Adult Marrow. *Nature*. **2002** ; n°418 : 41-49
- 59) **Hatzfeld A, Peiffer I and Hatzfeld J.** Cellules souches fœtales et du sang une place pour le gynécologue obstétricien. *Pathologie biologie*. **2006** ; vol 54 : 94- 99
- 60) **Issarachai, Kawada, Ogawa, McKinney-Freeman et al.** Homing et mobilisation des cellules hématopoïétiques, un débat très bien spécialisé. *Science* **1999** ; n 15 : 295

- 61) **Fuchs E, Tumber T, Guasch G.** Socializing with the neighbors: “stem cells and their niche”. *Cell*. **2004** ; 116(6): 769-78
- 62) **Robinet E. et al.** Préparation de produits de thérapie cellulaire ; apport aux systèmes clos » M/S. *Transfusion clinique et biologique*. **1999** ; 6 : 409-17
- 63) **Robinet E. Certoux JM, Fertand C, Maples P, Hardwick A, Cahn Y, et al.** A closed culture system for the ex viva transduction and expansion of human T-lymphocytes. *Journal of Hematotherapy*. **1998**
- 64) **Camby C., Van Den Heuvel T.** Cellules souches embryonnaires humaines. Aspects législatifs. *Gynécologie Obstétrique & Fertilité*. **2007** ; 35 : 799-805
- 65) **Kahn A.** Le clonage thérapeutique. *Biofutur*. **2001** ; 213 : 45-6
- 66) Revue Française des Laboratoires « clonage thérapeutique ». Octobre **2004** ; 366
- 67) **Hayflick L, Moorhead PS.** The serial cultivation of human diploid cell strains. *Exp Cell Res*. **1961** ; 25: 585-621
- 68) **Gire Véronique** La sénescence : « Une barrière télomérique à l'immortalité ou une réponse cellulaire aux stress physiologiques? ». *Médecine sciences*. **2005** ; vol 21, n°5 ; 491-497

- 69) **Stanley JF, Pye D, MacGregor A.** Comparison of doubling numbers attained by cultured animal cells with life span of species. *Nature*. **1975**; 255: 158-159
- 70) **Sekiya I, Larson BL, Smith JR, Pochampally RR, Cui JG, Prockop DJ.** Expansion of human adult stem cells from bone marrow stroma: conditions that maximize the yields of early progenitors and evaluate their quality. *Stem Cells*. **2002**; 20: 530-4
- 71) **Muraglia A, Cancedda R, Quarto R.** Clonal mesenchymal progenitors from human bone marrow differentiate in vitro according to a hierarchical model. *J Cell Sci*. **2000**; 113: 1161-6
- 72) **Martindale JL, Holbrook NJ.** Cellular response to oxidative stress: signaling for suicide and survival. *J Cell Physiol*. **2002** ; 192: 1-15
- 73) Salpêtière : méthodologie de la biothérapie. *AP-HP fédération des maladies du système nerveux*. **2005**
- 74) **Rubio D, Garcia-Castro J, Martin MC, et al.** Spontaneous human adult stem cell transformation. *Cancer Res*. **2005**; 65: 3035-9
- 75) **Liew CG, Moore H et al.,** Human embryonic stem cells: possibilities for human cell transplantation. *Annals de pathologies* **2005** ; 37(7): 521-32

- 76) **Bertrand B.** Archevêque Centre hospitalier régional de Rimouski : cellules souches biologie et éthique. 30 Novembre **2006**
- 77) **Matthieu R.** Extrait de Dossier : Thérapie cellulaire. Fondation de l'Avenir. Juin **2007**
- 78) **Patrick H.** Domaines d'application et enjeux de l'ingénierie et de la thérapie cellulaires et tissulaires. *Transfusion Clinique et Biologique*. **2007** ; 14 : 3-9
- 79) **Martin P.** Les promesses thérapeutiques des cellules souches. *Biofutur*. Nov **2000** ; 205
- 80) **Vincent Antonin L.** Les promesses des cellules souches. Scientifiques, familles et santé publique dans la controverse autour des stems cells aux USA. *Sociologie du travail*. **2006** ; 48 : 350-366
- 81) **Mark G, Lebwohl.** Peau et maladie systémique. Atlas en dermatologie **2004**
- 82) **Hoftek M.** Kératinisation épidermique. *Ency Medi Chir*. Cosmétologie et dermatologie esthétique. **2006** ; 50-020-A-10
- 83) **Lakhel CA, Carsin H et Cantaloube D.** Indications des substituts cutanés chez le brûlé. *Encycl Méd Chir*, Techniques chirurgicales - Chirurgie plastique reconstructrice et esthétique. **2000** ; 45-158 : 6

- 84) **O. Dereure.** Cellules souches en dermatologie : concept, identification et intérêt **2012**
- 84) **Knol AC., Dréno B.** Thérapie cellulaire en dermatologie. *Encycl Méd Chir.* **2007**; 98-955-A-10
- 85) **Aberdam D. et al.** Embryonic stem cells as a cellular model for neuroectodermal commitment and skin formation. *C. R. Biologies.* **2007** ; 330 : 479-484
- 86) **Bernard C.** Rapport : Substituts cutanés et thérapie cellulaire. **2006**
- 87) **Braye F. et al.** Les substituts cutanés reconstruits en laboratoire : application au traitement des brûlés. *Pathologie Biologie.* **2005** ; 53 : 613-617
- 88) **L. Bargues, M. Prat, T. Lecrelc, E. Bey, J.-J. Lataillade** : Présent et futur de la thérapie cellulaire des brûlures. *Pathologie biologie* 59. **2011**
- 88) **Vacher D.** Thérapie cellulaire, Produit de thérapie cellulaire Dermagen® pour le traitement de plaies difficiles. *Annales Pharmaceutiques Françaises.* Juin **2005** ; 63(3) : 207-210
- 89) **Bénédicte R.** Une nouvelle source de cellules souches de l'épiderme humain. *Communiqué de presse genopole.* **2006**
- 90) Des cellules souches adultes pour régénérer la peau. *Revue de presse*

bioéthique. 2006

- 91) **Morad B., et al.** Potentiel thérapeutique des cellules souches mésenchymateuses humaines dans les lésions cutanées radio-induites. *Journal de la Société de Biologie*. Décembre **2005** ; 199(4) : 337-341
- 92) **Moubarak M.** Utilisation des Cellules Souches Mésenchymateuses humaines dans les atteintes tissulaires radio induites. *Journée des thèses IRSN à l'Université Versailles Saint-Quentin en Yvelines (UVSQ)*. 25-27 Septembre **2006**
- 93) **Hholfed J. et coll.** Des cellules souches du foetus pour soigner les brulures. *the lancet*. **2005** ; 366 : 788-790
- 94) La maladie de Parkinson : critères diagnostiques et thérapeutiques. Parkinson disease: diagnosis and treatment. *La Presse médicale* **2001** ; vol.30 N°8 : 379-385
- 95) **Féron F.** Réparation du système nerveux central : les stratégies actuelles de thérapie cellulaire. *Neurobiologie des Interactions Cellulaires et Neurophysiopathologie (NICN)*. Septembre **2007** ; 163 N°HS1 : 23-30
- 96) **Lindvall O., Hagell P.** Cell therapy and transplantation in Parkinson's disease. *Clinical chemistry and laboratory medicine*. Allemagne. **2001** ; Vol.39, N°4 : 356-361

- 97) **Anselme L. Perrier.** Des cellules souches embryonnaires humaines pour le traitement de la maladie de Parkinson?. *M/S.* Janvier **2005**; vol. 21, n°1
- 98) **Kawasaki H, Mizuseki K, Nishikawa S, et al.** Induction of midbrain dopaminergic neurons from ES cells by stromal cell-derived inducing activity. *Neuron.* **2000**; 28: 31-40
- 99) **Kim JH, Auerbach JM, Rodriguez-Gomez JA, et al.** Dopamine neurons derived from embryonic stem cells function in an animal model of Parkinson's disease. *Nature.* **2002**; 418: 50-6
- 100) **Perrier AL Tabar V Barberi T et al.** Derivation of midbrain dopamine neurons from human embryonic stem cells. *Proc Natl Acad Sci USA.* **2004**; 101: 12543-8
- 101) **Anne-Catherine F., Colette D., Pierre S.** Cellules souches embryonnaires et thérapies cellulaires du système nerveux. *M/S.* Juin-Juillet **2003** ; vol. 19, n°700 : 6-7
- 102) **Marc P.** Les cellules souches embryonnaires passent vraiment en thérapeutique expérimentale. *Medecine/Sciences.* **2002** ; 18 : 166-167
- 103) **Kopp N., Rethy M.P., Cesaro P.** Les Greffes de cellules nerveuses dans la maladie de Parkinson. *Éthique & Santé.* Novembre **2004** ; Vol 1, N°4 : 206-210

- 104) **Marc P.** Les cellules souches adultes et leurs potentialités d'utilisation en recherche et en thérapeutique comparaison avec les cellules souches embryonnaires. *Neuroplasticité et thérapeutique*, Faculté de médecine de Créteil. Novembre **2000**
- 105) **Taupin P.** Neurogenesis in the adult central nervous system. *Neuroscience C. R. Biologies.* **2006** ; 329 : 465-475
- 106) **Kubis N., Catala M.** Les cellules souches un outil thérapeutique pour le futur ?. *Neurochirurgie.* Septembre **2003** ; 49 N°4 : 449-456
- 107) **Sabrina F.** La recherche va de l'avant. *The European Dana Alliance for the Brain.* **2002**
- 108) **Lindvall O., Hagell P.** Cell therapy and transplantation in Parkinson's disease. *Clinical chemistry and laboratory medicine.* **2001** ; Vol.39, N°4 : 356-361
- 109) **Marc Peschanski, Philippe Rémy, Pierre Césaro,** Greffes de neurones chez des patients parkinsoniens : bilan et perspectives, *Médecine thérapeutique* **2002** 6:10 , 849-53

- 110) Médicament de l'ischémie myocardique. *Thèse de pharmacie à Rabat* **2004** ; N°15
- 111) **Rose G. et al.** Myocardial ischaemia risk factors and death from coronary heart disease. *Lancet*. **1977**; 15, 1(8003): 105-9
- 112) **Holt E., et al.** Mechanisms of cardiomyocyte dysfunction in heart failure following myocardial infarction in rats. *J. Mol. Cell Cardiol.* **1998** ; 30(8): 1581-93
- 113) **Menasché P.** La thérapie cellulaire en cardiologie. *C. R. Biologies.* **2007**; 330: 550–556
- 114) **Jean-Thomas V., Jean-Pierre M.** Thérapie cellulaire de l'insuffisance cardiaque. *Médecine/Sciences.* **2004**; 20: 651-62
- 115) **Gallo P.** Sources of cardiomyocytes for stem cell therapy: an update. *Pediatr Res.* **2006**; 59 (4 Pt 2): 79R-83R.
- 116) **Menasché P.** Embryonic stem cell pace the heart. *Nat. Biotechnol.* **2004** ; 22(10): 1237-8
- 117) **Braun T., Seguin T., Mira JP.** Nouvelles stratégies thérapeutiques : les cellules souches. Progéniteurs endothéliaux circulants et Réanimation » *Réanimation.* **2007** ; 16 : 132-138

- 118) **Piot C.** Thérapie cellulaire cardiaque : de la théorie à la pratique. *La Revue de médecine interne.* **2007**; 28: S6-S5
- 119) **Wollert KC., Drexler H.** Clinical applications of stem cell for the heart. *Circ Res.* **2005**; 96 (2): 151-63
- 120) **Agbulut O.** Comparison of human skeletal myoblasts and bone marrow-derived CD133+ progenitors for the repair of infarcted myocardium. *J. An. Coll. Cardiol.* **2004** ; 44 (2): 458-63
- 121) **Menasché P.** Skeletal myoblast transplantation for cardiac repair. *Expert Rev. Cardiovasc. Ther.* **2004** ; 2 (1): 21-8
- 122) **Menasché P., et al.** Cellular cardiomyoplasty a new hope in heart failure?. *Heart.* **2000** ; 84(5): 465-6
- 123) **Sylvie Naveau, Bolian A.** Hepato-gastro-enterologie .Abrégé connaissance et pratique . **2004**
- 124) **Dubois-Laforgue D.** Étiologie et physiopathologie du diabète de type 1. *Endocrinologie-Nutrition.* **2007** ; 10-366-C-10
- 125) **Martín F., Jones J., Vaca P., Berna G. et Soria B.** Production de cellules sécrétant l'insuline a partir de cellules souches. *Flammarion médecine science : journées de diabétologie.* **2003**

- 126) **Pelenuter L.** diabète et maladie métabolique *Abrégé connaissance et pratique* **2004**
- 127) **Enrique R., Juan AR. et al.** Insulin-secreting cells derived from stem cells: Clinical perspectives, hypes and hopes. *J Endocrinol* Feb **2005** ; 15 (2):113-29
- 128) **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
- 129) **Trucco M.** Regeneration of the pancreatic beta cell. *J Clin Invest.* Jan **2005**; 115(1): 5-12
- 130) **Soria B.** In-vitro differentiation of pancreatic beta-cells. Oct **2001**; 68(4-5): 205-19
- 131) **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
- 132) **Roche E, Enseat-Wase R et al.** Therapeutic potential of stem cells in diabetes. *Exp Pharmacol.* **2006**; (174): 147-67
- 133) **Benhamou PY.** Thérapie cellulaire du diabète : y a-t-il vraiment du nouveau. *Editorial / Annales de chirurgie.* **2005**; 130: 363-364

- 134) **Simone B.** Stem cell research: the ethical debate. Atelier de formation *Inserm*. 16-17 Novembre **2006** ; 171
- 135) **Pierre LF.** Cellules souches et choix éthique. **2006**
- 136) **Hervé C.** Cloningate, La publication scientifique et le clonage thérapeutique face à la mystification. *Médecine/Sciences*. **2006** ; 22 : 218-222
- 137) Revue : *actualité des religions* : Avril **2001** ; n°26 ; Novembre **2002** ; n°43
- 138) <http://www.recherche.gouv.fr/discours/2000/ethique.html>
- 139) Avis du GEE des sciences et des nouvelles technologies « Aspects Législatif de la recherche sur les cellules souches humaines et leur utilisation ». <http://ec.europa.eu/european-group-ethics/index-fr.html>. 14 Nov 2000
- 140) <http://Conseil Régional du Culte Musulman - L'ISLAM ET LE DON D'ORGANES - font-b.htm>
- 141) [http:// International Islamic Fiqh Academy.htm](http://International Islamic Fiqh Academy.htm)
مجمع الفقه الإسلامي دولي
- 142) www.genethique.org

Serment

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

- Je traiterai mes maîtres avec le respect et la reconnaissance qui leur sont dus.
- Je pratiquerai ma profession avec conscience et dignité. La santé de mes malades sera mon premier but.
- Je ne trahirai pas les secrets qui me seront confiés.
- Je maintiendrai par tous les moyens en mon pouvoir l'honneur et les nobles traditions de la profession médicale.
- Les médecins seront mes frères.
- Aucune considération de religion, de nationalité, de race, aucune considération politique et sociale ne s'interposera entre mon devoir et mon patient.
- Je maintiendrai le respect de la vie humaine dès la conception.

قلم أبقر اط

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

أقسم بالله العظيم

في هذه اللحظة التي يتم فيها قبولي عضوا في المهنة الطبية أتعهد علانية:

- < بأن أكرس حياتي لخدمة الإنسانية.
- < وأن أحترم أساتذتي وأعترف لهم بالجهد الذي يستحقونه.
- < وأن أمارس مهنتي بوانع من ضميري وشر في جاعلا صحة مريض هدي في الأول.
- < وأن لا أفشي الأسرار المعهودة إلي.
- < وأن أحافظ بكل ما لدي من وسائل على الشرف والتقاليد النبيلة لمهنة الطب.
- < وأن أعتبر سائر الأطباء إخوة لي.
- < وأن أقوم بواجبي نحو مرضاي بدون أي اعتبار ديني أو وطني أو عرقي أو سياسي أو اجتماعي.
- < وأن أحافظ بكل حزم على احترام الحياة الإنسانية منذ نشأتها.
- < وأن لا أستعمل معلوماتي الطبية بطرق يضر بحقوق الإنسان مهما لاقيت من تهديد.
- < بكل هذا أتعهد عن كامل اختيار ومقسما بشري في.

والله على ما أقول شهيد.

جامعة محمد الخامس - السوييس
كلية الطب والصيدلة بالرباط

أطروحة رقم: 224

سنة : 2013

العلاج الخلوي :

تطبيقات وآفاق

أطروحة

قدمت ونوقشت علانية يوم :

من طرفه

الآنسة: فاطمة الزهرى مجيدي

المزاداد في: 5 شتنبر 1987 بالرباط

لنيل شهادة الدكتوراه في الطب

الكلمات الأساسية: العلاج الخلوي - الخلايا الجذعية - الزرع النسيجي - الزرع الخلوي.

تحت إشراف اللجنة المكونة من الأساتذة

رئيس

السيد: ميمون زهدي

أستاذ في علم الطفيليات

مشرف

السيد: عمر شقيري

أستاذ في علم الأنسجة والأجنة والوراثة الخلوية

السيدة: فاطمة جبوبريك

أستاذة في طب الأطفال

أعضاء

السيد : عز الدين إبراهيمي

أستاذ التقنيات البيوطبية