



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

Année 2022

Thèse N° 316

Cellules souches mésenchymateuses et dérivées: Bases fondamentales et expérience du centre de Médecine Régénérative

THÈSE

PRÉSENTÉE ET SOUTENUE PUBLIQUEMENT LE 22 /11 /2022

PAR

Mr. Skander Gastli

Née Le 10 Mai 1996 à Nabeul-Tunisie

POUR L'OBTENTION DU DOCTORAT EN MÉDECINE

MOTS-CLÉS

Cellules souches mésenchymateuses-Moelle osseuse-Tissus adipeux-
Exosome-Culture-Cytométrie.

JURY

M.	M. A. BENHIMA Professeur de Traumatologie-orthopédie	PRESIDENT
M.	A. BELBACHIR Professeur d'Anatomopathologie	RAPPORTEUR
M.	Y. BENCHAMKHA Professeur de Chirurgie plastique et réparatrice	} JUGES
Mme.	M. GHAZI Professeur agrégée de Rhumatologie	



Serment d'hippocrate

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

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

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

Je ne trahirai pas les secrets qui me seront confiés.

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

Les médecins seront mes frères.

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

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

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

Je m'y engage librement et sur mon honneur.

Déclaration Genève, 1948



*LISTE DES
PROFESSEURS*



UNIVERSITE CADI AYYAD
FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE
MARRAKECH

Doyens Honoraires

: Pr. Badie Azzaman MEHADJI

: Pr. Abdelhaq ALAOUI YAZIDI

ADMINISTRARATION

Doyen

: Pr Mohammed BOUSKRAOUI

Vice doyen à la Recherche et la coopération

: Pr. Mohamed AMINE

Vice doyen aux affaires pédagogiques

: Pr. Redouane EL FEZZAZI

Vice doyen chargé de la Pharmacie

: Pr. Said ZOUHAIR

Secrétaire Général

: Mr. Azzeddine EL HOUDAIGUI

Professeurs de l'enseignement supérieur

Nom et Prénom	Spécialité	Nom et Prénom	Spécialité
ABKARI Imad	Traumato-orthopédie	ELOMRANI Abdelhamid	Radiothérapie
ABOUCHADI Abdeljalil	Stomatologie et chirurgie maxillo faciale	ESSAADOUNI Lamiaa	Médecine interne
ABOU EL HASSAN Taoufik	Anésthésie-réanimation	FADILI Wafaa	Néphrologie
ABOULFALAH Abderrahim	Gynécologie-obstétrique	FAKHIR Bouchra	Gynécologie- obstétrique
ABOUSSAIR Nisrine	Génétique	FAKHRI Anass	Histologie-embryologie cytogénétique
ADALI Imane	Psychiatrie	FOURAJI Karima	Chirurgie pédiatrique
ADMOU Brahim	Immunologie	GHANNANE Houssine	Neurochirurgie
AGHOUTANE El Mouhtadi	Chirurgie pédiatrique	GHOUNDALE Omar	Urologie
AISSAOUI Younes	Anésthésie-réanimation	HACHIMI Abdelhamid	Réanimation médicale
AIT AMEUR Mustapha	Hématologie	HAJJI Ibtissam	Ophtalmologie
AIT BENALI Said	Neurochirurgie	HAROU Karam	Gynécologie- obstétrique
AIT BENKADDOUR Yassir	Gynécologie-obstétrique	HOCAR Ouafa	Dermatologie
AIT SAB Imane	Pédiatrie	JALAL Hicham	Radiologie
ALJ Soumaya	Radiologie	KAMILI El Ouafi El Aouni	Chirurgie pédiatrique
AMAL Said	Dermatologie	KHALLOUKI Mohammed	Anésthésie- réanimation
AMINE Mohamed	Epidemiologie clinique	KHATOURI Ali	Cardiologie
AMMAR Haddou	Oto-rhino-laryngologie	KHOUCHANI Mouna	Radiothérapie
AMRO Lamyae	Pneumo-phtisiologie	KISSANI Najib	Neurologie
ANIBA Khalid	Neurochirurgie	KRATI Khadija	Gastro-entérologie
ARSALANE Lamiae	Microbiologie-virologie	KRIET Mohamed	Ophtalmologie
ASMOUKI Hamid	Gynécologie-obstétrique	LAGHMARI Mehdi	Neurochirurgie
ATMANE El Mehdi	Radiologie	LAKMICH Mohamed Amine	Urologie
BAIZRI Hicham	Endocrinologie et	LAKOUICHMI	Stomatologie et

	maladies métaboliques	Mohammed	chirurgie maxillo faciale
BASRAOUI Dounia	Radiologie	LAOUAD Inass	Néphrologie
BASSIR Ahlam	Gynécologie-obstétrique	LOUHAB Nissrine	Neurologie
BELBARAKA Rhizlane	Oncologie médicale	LOUZI Abdelouahed	Chirurgie générale
BELKHOUS Ahlam	Rhumatologie	MADHAR Si Mohamed	Traumato-orthopédie
BENALI Abdeslam	Psychiatrie	MANOUDI Fatiha	Psychiatrie
BENCHAMKHA Yassine	Chirurgie réparatrice et plastique	MANSOURI Nadia	Stomatologie et chirurgie maxillo faciale
BEN DRISS Laila	Cardiologie	MAOULAININE Fadl mrabih rabou	Pédiatrie
BENELKHAÏAT BENOMAR Ridouan	Chirurgie générale	MATRANE Aboubakr	Médecine nucléaire
BENHIMA Mohamed Amine	Traumato-orthopédie	MOUAFFAK Youssef	Anesthésie- réanimation
BENJELLOUN HARZIMI Amine	Pneumo-phtisiologie	MOUDOUNI Said Mohammed	Urologie
BENJILALI Laila	Médecine interne	MOUFID Kamal	Urologie
BENZAROUËL Dounia	Cardiologie	MOUTAJ Redouane	Parasitologie
BOUCHENTOUF Rachid	Pneumo-phtisiologie	MOUTAOUAKIL Abdeljalil	Ophtalmologie
BOUKHANNI Lahcen	Gynécologie-obstétrique	MSOUGAR Yassine	Chirurgie thoracique
BOUKHIRA Abderrahman	Biochimie-chimie	NAJEB Youssef	Traumato-orthopédie
BOUMZEBRA Drissi	Chirurgie Cardio-vasculaire	NARJIS Youssef	Chirurgie générale
BOURRAHOUEAT Aicha	Pédiatrie	NEJMI Hicham	Anesthésie- réanimation
BOURROUS Monir	Pédiatrie	NIAMANE Radouane	Rhumatologie
BOUSKRAOUI Mohammed	Pédiatrie	OUALI IDRISSE Mariem	Radiologie
BSISS Mohammed Aziz	Biophysique	OUBAHA Sofia	Physiologie
CHAFIK Rachid	Traumato-orthopédie	OULAD SAIAD Mohamed	Chirurgie pédiatrique
CHAKOUR Mohammed	Hématologie	QACIF Hassan	Médecine interne
CHELLAK Laila	Biochimie-chimie	QAMOUSS Youssef	Anesthésie- réanimation
CHERIF IDRISSE EL GANOUNI Najat	Radiologie	RABBANI Khalid	Chirurgie générale
CHOULLI Mohamed Khaled	Neuro pharmacologie	RADA Noureddine	Pédiatrie
DAHAMI Zakaria	Urologie	RAIS Hanane	Anatomie pathologique
DAROUASSI Youssef	Oto-rhino-laryngologie	RAJI Abdelaziz	Oto-rhino- laryngologie
DRAISS Ghizlane	Pédiatrie	ROCHDI Youssef	Oto-rhino- laryngologie

EL ADIB Ahmed Rhassane	Anésthésie-réanimation	SAMKAOUI Mohamed Abdenasser	Anésthésie- réanimation
ELAMRANI Moulay Driss	Anatomie	SAMLANI Zouhour	Gastro-entérologie
EL ANSARI Nawal	Endocrinologie et maladies métaboliques	SARF Ismail	Urologie
EL BARNI Rachid	Chirurgie générale	SORAA Nabila	Microbiologie- virologie
EL BOUCHTI Imane	Rhumatologie	SOUMMANI Abderraouf	Gynécologie- obstétrique
EL BOUIHI Mohamed	Stomatologie et chirurgie maxillo faciale	TASSI Noura	Maladies infectieuses
EL FEZZAZI Redouane	Chirurgie pédiatrique	TAZI Mohamed Illias	Hématologie clinique
ELFIKRI Abdelghani	Radiologie	YOUNOUS Said	Anésthésie- réanimation
EL HAOURY Hanane	Traumato-orthopédie	ZAHLANE Kawtar	Microbiologie- virologie
EL HATTAOUI Mustapha	Cardiologie	ZAHLANE Mouna	Médecine interne
EL HOUDZI Jamila	Pédiatrie	ZAOUI Sanaa	Pharmacologie
EL IDRISSE SLITINE Nadia	Pédiatrie	ZEMRAOUI Nadir	Néphrologie
EL KARIMI Saloua	Cardiologie	ZIADI Amra	Anésthésie- réanimation
EL KHADER Ahmed	Chirurgie générale	ZOUHAIR Said	Microbiologie
EL KHAYARI Mina	Réanimation médicale	ZYANI Mohammad	Médecine interne
EL MGHARI TABIB Ghizlane	Endocrinologie et maladies métaboliques		

Professeurs Agrégés

Nom et Prénom	Spécialité	Nom et Prénom	Spécialité
ABDOU Abdessamad	Chirurgie Cardio-vasculaire	HAZMIRI Fatima Ezzahra	Histologie-embryologie-cytogénétique
ABIR Badreddine	Stomatologie et chirurgie maxillo faciale	JANAH Hicham	Pneumo-phtisiologie
ADARMOUCH Latifa	Médecine communautaire (médecine préventive, santé publique et hygiène)	KADDOURI Said	Médecine interne
AIT BATAHAR Salma	Pneumo-phtisiologie	LAFFINTI Mahmoud Amine	Psychiatrie
ALAOUI Hassan	Anésthésie-réanimation	LAHKIM Mohammed	Chirurgie générale
ALJALIL Abdelfattah	Oto-rhino-laryngologie	MARGAD Omar	Traumato-orthopédie
ARABI Hafid	Médecine physique et réadaptation fonctionnelle	MESSAOUDI Redouane	Ophtalmologie
ARSALANE Adil	Chirurgie thoracique	MLIHA TOUATI Mohammed	Oto-rhino-laryngologie
ASSERRAJI Mohammed	Néphrologie	MOUHSINE Abdelilah	Radiologie

BELBACHIR Anass	Anatomie pathologique	NADER Youssef	Traumato-orthopédie
BELHADJ Ayoub	Anesthésie-réanimation	NASSIM SABAH Taoufik	Chirurgie réparatrice et plastique
BOUZERDA Abdelmajid	Cardiologie	RHARRASSI Issam	Anatomie pathologique
CHRAA Mohamed	Physiologie	SALAMA Tarik	Chirurgie pédiatrique
EL HAOUATI Rachid	Chirurgie Cardio- vasculaire	SEDDIKI Rachid	Anesthésie-réanimation
EL KAMOUNI Youssef	Microbiologie-virologie	SERGHINI Issam	Anesthésie-réanimation
EL MEZOUARI El Mostafa	Parasitologie-mycologie	TOURABI Khalid	Chirurgie réparatrice et plastique
ESSADI Ismail	Oncologie médicale	ZARROUKI Youssef	Anesthésie-réanimation
GHAZI Mirieme	Rhumatologie	ZIDANE Moulay Abdelfettah	Chirurgie thoracique
HAMMOUNE Nabil	Radiologie		

Professeurs Assistants

Nom et Prénom	Spécialité	Nom et Prénom	Spécialité
AABBASSI Bouchra	Psychiatrie	EL JADI Hamza	Endocrinologie et maladies métaboliques
ABALLA Najoua	Chirurgie pédiatrique	EL-QADIRY Raby	Pédiatrie
ABDELFETTAH Youness	Rééducation et réhabilitation fonctionnelle	FASSI Fihri Mohamed jawad	Chirurgie générale
ABOUDOURIB Maryem	Dermatologie	FDIL Naima	Chimie de coordination bio- organique
ABOULMAKARIM Siham	Biochimie	FENANE Hicham	Chirurgie thoracique
ACHKOUN Abdessalam	Anatomie	GEBRATI Lhoucine	Chimie physique
AHBALA Tariq	Chirurgie générale	HAJHOUI Farouk	Neurochirurgie
AIT ERRAMI Adil	Gastro-entérologie	HAJJI Fouad	Urologie
AKKA Rachid	Gastro-entérologie	HAMRI Asma	Chirurgie Générale
AMINE Abdellah	Cardiologie	HAZIME Raja	Immunologie
ARROB Adil	Chirurgie réparatrice et plastique	IDAENE Malika	Maladies infectieuses
AZAMI Mohamed Amine	Anatomie pathologique	KHALLIKANE Said	Anesthésie-réanimation
AZIZ Zakaria	Stomatologie et chirurgie maxillo faciale	LACHHAB Zineb	Pharmacognosie
AZIZI Mounia	Néphrologie	LAHLIMI Fatima Ezzahra	Hématologie clinique
BAALLAL Hassan	Neurochirurgie	LAHMINE Widad	Pédiatrie
BABA Hicham	Chirurgie générale	LAMRANI HANCI Asmae	Microbiologie- virologie
BELARBI Marouane	Néphrologie	LOQMAN Souad	Microbiologie et toxicologie environnementale

BELFQUIH Hatim	Neurochirurgie	JALLAL Hamid	Cardiologie
BELGHMAIDI Sarah	Ophtalmologie	MAOUJOURD Omar	Néphrologie
BELLASRI Salah	Radiologie	MEFTAH Azzelarab	Endocrinologie et maladies métaboliques
BENAMEUR Yassir	Médecine nucléaire	MILOUDI Mouhcine	Microbiologie-virologie
BENANTAR Lamia	Neurochirurgie	MOUGUI Ahmed	Rhumatologie
BENCHAFAI Ilias	Oto- rhino- laryngologie	MOULINE Souhail	Microbiologie-virologie
BENNAOUI Fatiha	Pédiatrie	NASSIH Houda	Pédiatrie
BENYASS Youssef	Traumatologie-orthopédie	OUERIAGLI NABIH Fadoua	Psychiatrie
BENZALIM Meriam	Radiologie	OUMERZOUK Jawad	Neurologie
BOUHAMIDI Ahmed	Dermatologie	RAGGABI Amine	Neurologie
BOUTAKIOUTE Badr	Radiologie	RAISSI Abderrahim	Hématologie clinique
CHAHBI Zakaria	Maladies infectieuses	REBAHI Houssam	Anesthésie-réanimation
CHEGGOUR Mouna	Biochimie	RHEZALI Manal	Anesthésie-réanimation
CHETOUI Abdelkhalek	Cardiologie	ROUKHSI Redouane	Radiologie
CHETTATI Mariam	Néphrologie	SAHRAOUI Houssam Eddine	Anesthésie-réanimation
DAMI Abdallah	Médecine légale	SALLAHI Hicham	Traumatologie- orthopédie
DARFAOUI Mouna	Radiothérapie	SAYAGH Sanae	Hématologie
DOUIREK Fouzia	Anesthésie réanimation	SBAAI Mohammed	Parasitologie-mycologie
DOULHOUSNE Hassan	Radiologie	SBAI Asma	Informatique
EL-AKHIRI Mohammed	Oto- rhino- laryngologie	SEBBANI Majda	Médecine Communautaire (Médecine préventive, santé publique et hygiène)
EL AMIRI Moulay Ahmed	Chimie de coordination bio-organique	SIRBOU Rachid	Médecine d'urgence et de catastrophe
ELATIQUI Oumkeltoum	Chirurgie réparatrice et plastique	SLIOUI Badr	Radiologie
ELBAZ Meriem	Pédiatrie	WARDA Karima	Microbiologie
EL FADLI Mohammed	Oncologie médicale	YAHYAOUI Hicham	Hématologie
EL FAKIRI Karima	Pédiatrie	YANISSE Siham	Pharmacie galénique
EL GAMRANI Younes	Gastro-entérologie	ZBITOU Mohamed Anas	Cardiologie
EL HAKKOUNI Awatif	Parasitologie-mycologie	ZIRAOUI Oualid	Chimie thérapeutique
ELJAMILI Mohammed	Cardiologie	ZOUIA Btissam	Radiologie
EL KHASSOUI Amine	Chirurgie pédiatrique	ZOUIZRA Zahira	Chirurgie Cardio- vasculaire
ELOUARDI Youssef	Anesthésie-réanimation		

Liste Arrêtée Le 03/03/2022



DEDICACES



Je me dois d'avouer pleinement ma reconnaissance à toutes les personnes qui m'ont soutenue durant mon parcours, qui ont su me hisser vers le haut pour atteindre mon objectif. C'est avec amour, respect et gratitude que Je dédie cette thèse...



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

À la mémoire de mon père Abdel Aziz Gastli

Que Dieu le tout puissant vous accueille dans son paradis et vous couvre de sa miséricorde. Vous ferez toujours partie de ma vie et j'espère vous honorer. Aujourd'hui, je vous dédie cette thèse car vous êtes parti avant de me voir réaliser mon rêve.

*J'espère vous avoir rendu fier même de Là- Haut, et que vous êtes satisfait de l'Homme que je suis devenu.
Que votre âme repose en paix.*

A ma mère Habiba Mazigh Gastli

Aucune dédicace très chère maman, ne pourrait exprimer la profondeur des sentiments que j'éprouve pour vous.

Vous êtes la bonté, la douceur et la joie de vivre incarnées. Vous avez fait énormément de sacrifices pour moi et je vous en serai à jamais reconnaissant.

Vous avez guetté mes pas, et m'avez couvé de tendresse, ta prière et ta bénédiction m'ont été d'un grand secours pour mener à bien mes études. Vous êtes un exemple à suivre.

*Je ne vous remercierais jamais assez pour ce que vous faites pour moi et j'espère que vous trouverez dans ce travail l'expression de mon amour et ma reconnaissance les plus sincères.
Merci d'exister Maman je vous aime.*

A ma chère Takoua Ali

Tu es toujours là pour moi, tu m'écoutes quand je te raconte mes soucis, tu me remontes le moral quand je suis triste, tu m'encourages quand je baisse les bras, tu as su me protéger et me comprendre quand les mots faisaient défaut, et tu m'as toujours poussé à me surpasser pour être une personne meilleure.

Merci beaucoup mon cœur, merci pour les petits mots d'amour, qui sont pour moi de vrais cadeaux, et encore merci pour ta générosité, ta gentillesse, les belles valeurs que tu portes en toi, tu embellis ma vie de bonheur.

Aucun mot ne pourrait exprimer ma gratitude, mon respect et mon amour. Je t'aime.

Puisse Dieu le tout-puissant te préserver du mal, te combler de santé et de bonheur

A Ma sœur Nahaound Gastli et A son mari Ghassen Ben Ghorbel

C'est rassurant de savoir que quoi qu'il arrive je te trouverai toujours là pour moi, pour m'encourager, m'aider, me soutenir et m'aimer.

Tu es ma grande sœur adorable et quoi que je te dise, les mots ne sauront te décrire tout l'amour que je te porte.

Ghassen, toi qui es devenu un grand frère pour moi et ami sincère. Tu es la preuve que les liens du sang ne définissent guère la famille. Merci infiniment pour votre soutien qui a été pour moi une source de courage et de confiance. Je vous dédie ce travail en témoignage de l'amour et des liens qui nous unissent. Puisse Dieu le tout-puissant vous préserver du mal, vous combler de santé et de bonheur, et vous tracer le chemin que vous souhaitez.

A mon cher neveu Mohammed Aziz Ben Ghorbel

Tu as illuminé notre vie, tu es ma gaieté et mon bonheur, que dieu te bénisse et te protège. Je te dédie ce modeste travail en implorant dieu le tout puissant de te garder pour vos parents qui vous adorent.

A mes tantes Latifa et Ramla Gastli

Vous m'avez beaucoup soutenu. Vous avez toujours su réduire la distance qui nous sépare dès qu'une occasion s'offre à vous. Merci pour votre aide précieuse et votre générosité. Merci d'être toujours là pour moi. Que ce travail soit le témoignage de mes sentiments les plus respectueux et que cette réussite soit la NOTRE.

A mon oncle Zoubeir Mazigh

Je suis très reconnaissant pour votre soutien moral, votre disponibilité et votre serviabilité inconditionnelle pour moi et toute la famille. Que vous trouvez ici l'expression de mon attachement avec tous mes souhaits de bonheur et de santé. Que dieu vous bénisse vous et votre petite famille.

A mes grands-mères Bouthaina et Maherzia, à la mémoire de mes grands-pères, à mes oncles et mes tantes et à toute la famille GASTLI et MAZIGH

J'adresse mes profonds remerciements à tous les proches de ma famille, pour tous vos encouragements et votre soutien tout au long de mon parcours, et ce malgré la distance qui nous sépare.

Permettez-moi de vous dédier ce travail, en guise de mes sentiments les plus chaleureux. Puisse Allah vous procurer santé, bonheur et prospérité et que ce lien familial ne se brise jamais.

A mes chers cousins et cousines : Oussama, Asser, Malek, Wassim, Haykel, Zied, Slim, Hamza, Monatsser, Khalil, Ghada, Haifa, kehna, Nessrine, Kenza, Oumaima, Norchene, Emna, Maroua, mayssa et Mariem

En souvenir des moments agréables que nous avons passés ensemble durant notre enfance.

Veillez trouver dans ce travail l'expression de mon respect le plus profond et mon affection la plus sincère.

Malgré la distance, vous êtes toujours dans mon cœur, que Dieu vous apporte le bonheur, vous aide à réaliser tous vos vœux et vous offre un avenir plein de succès.

Aux parents de Takoua : Sadok Ben Ali et Fatma Ben Ali

En témoignage de mon attachement et de ma grande considération. J'espère que vous trouverez à travers ce travail l'expression de mes sentiments les plus chaleureux. Puisse Dieu vous accorder bonheur, santé et longue vie.

A mes meilleurs amis : Anis Ben Amor et Fawzi Berrjab

Notre amitié était comme une évidence, en hommage à tous les merveilleux moments qu'on a passé ensemble, et à nos bons souvenirs pleins de délires et de fous rires. Je vous dédie ce modeste travail en témoignage de ma loyauté inconditionnelle envers ce lien fort qui nous unit. Sur ce, je vous souhaite plein de bonheur et de réussite dans vos deux vies personnelle et professionnelle.

A mon ami qui m'a accompagné durant ce parcours : Aymen Belhadj

Tu étais toujours là pour me soutenir et m'aider. Merci pour les bons moments que nous avons passés ensemble. Que dieu te protège et te procure et que notre amitié reste à jamais.

A mon groupe d'externat

Merci pour les bons moments qu'on a passés ensemble, de votre soutien et de votre serviabilité.

A tous mes amis et collègues Tunisiens et Marocains

À tous ceux qui m'ont aidé tout au long de mon parcours et à ceux qui me sont chers et que j'ai omis de citer. Je vous dédie ce travail en témoignage de ma gratitude et mon profond respect.

A mon cher Professeur : Pr Anass BELBACHIR

En témoignage de tous les efforts déployés à enseigner toutes ces générations, je vous dédie ce travail pour vous remercier du fond du cœur pour votre soutien et encouragement, et pour vous exprimer ma gratitude, ma reconnaissance et mon profond respect pour vous. Puisse Dieu vous préserver, ainsi que votre petite famille et vous procurer tout le bonheur et la prospérité et la santé.

Au personnel du service du centre de médecine régénérative : Dr Fatimazahra marhoume, Dr Yassine Naasse, Dr Hamza Khattab et Mme Latifa Abousafa
Je vous suis très reconnaissant de l'aide apportée et du savoir partagé tout au long de ce travail. Veuillez trouver dans ce modeste travail l'expression de ma reconnaissance, mes respects et mes sentiments les plus distingués.

Aux étudiants en médecine, passés et à venir

A tous ceux dont l'oubli de la plume n'est pas celui du cœur



REMERCIEMENTS



*A notre cher Maître et Président de thèse
Professeur BENHIMA Mohamed Amine,*

*Professeur de l'enseignement supérieur de Traumatologie-Orthopédie à la
Faculté de Médecine et de Pharmacie de Marrakech et au service de
Traumatologie-Orthopédie B au CHU MOHAMMED VI de Marrakech*

*Nous vous remercions de l'immense honneur que vous nous avez fait en
acceptant de présider notre jury. Votre professionnalisme, humanisme et qualité
d'enseignement sont pour nous un exemple à suivre. Veuillez accepter cher
maître le témoignage de notre haute considération, de notre sincère
reconnaissance et de notre profond respect.*

*A notre cher Maître et rapporteur de thèse
Professeur BELBACHIR Anass,*

*Professeur de l'enseignement supérieur d'anatomie pathologie à la Faculté de
Médecine et de Pharmacie de Marrakech et Chef de centre de Médecine
Régénérative au CHU Mohamed VI*

*C'est avec un grand plaisir que je me suis adressée à vous dans le but de
bénéficier de votre encadrement. Travailler avec vous a été très agréable
pendant cette période. J'ai trouvé auprès de vous le maître, le conseiller et le
guide qui m'a reçu en toute circonstance avec sympathie et bienveillance. Vous
êtes un homme de science rigoureux et pointilleux respecté de tous, et une fierté
pour notre faculté. Je suis très fière d'avoir appris auprès de vous, d'avoir
préparé ma thèse sous votre guidance et nul mot ne qualifie ma gratitude.
J'espère avoir été à la hauteur de vos attentes. Je vous témoigne à travers ces
quelques lignes mon admiration pour votre modestie, votre sérieux et votre
compétence, qui sont des exemples à suivre. Veuillez accepter, cher maître, dans
ce travail l'assurance de ma sincère reconnaissance et de mon profond respect.*

*A Notre Maître et Juge de Thèse
Professeur BENCHAMKHA Yassine,*

*Professeur de l'enseignement supérieur de chirurgie réparatrice et plastique et
chef de service de chirurgie réparatrice et plastique au CHU Mohamed VI.
Nous vous remercions d'avoir répondu à notre souhait de vous voir siéger parmi
nos membres du jury. En acceptant d'évaluer notre travail, vous nous accordez
un très grand honneur. Veuillez accepter l'expression de nos considérations les
plus distinguées.*

*À notre maître et juge de thèse
professeur GHAZI Miriame,*

*Professeur agrégée en Rhumatologie à l'hôpital
militaire Avicenne de Marrakech*

*Nous sommes très honorés de votre présence parmi nous. Vous avez accepté
humblement de juger ce travail de thèse. Ceci nous touche infiniment et nous
tenons à vous exprimer notre profonde reconnaissance. Veuillez accepter, cher
maître, l'assurance de notre estime.*



FIGURES
&
TABLEAUX



Liste des figures :

- Figure 1** : Plan de travail après la mise en condition du PSM
- Figure 2** : Injection de l'échantillon dans une poche, récupération de l'échantillon à travers un filtre
- Figure 3** : Injection de l'échantillon dans un dispositif adapté, centrifugation de l'échantillon
- Figure 4** : Récupération de l'échantillon
- Figure 5** : Décantation de l'échantillon adipeux
- Figure 6** : Lavage de l'échantillon par du sérum salé
- Figure 7** : Préparation de la collagénase
- Figure 8** : Ajout de la collagénase à l'échantillon gras
- Figure 9** : Incubation-agitation de l'échantillon à 37 °C
- Figure 10** : Centrifugation de l'échantillon
- Figure 11** : Ajout du PRP au CSM, Produit final prêt pour utilisation
- Figure 12** : Activation par la lumière LED
- Figure 13** : Préparation du milieu de culture et dépôt du cocktail dans le flasque de culture
- Figure 14** : Ajout des CSM dans le flasque de culture contenant le milieu de culture
- Figure 15** : Image de la culture cellulaire A) à J1 + B) à J3
- Figure 16** : Répartition des CSM sur les flacons de culture cellulaire
- Figure 17** : Ajout du cocktail d'anticorps et centrifugation de l'échantillon
- Figure 18** : Analyse de l'échantillon par la cytométrie en flux Macs Quant 10 MiltenyiBiotec
- Figure 19** : Histogrammes de cytométrie en flux des CSM isolées du tissu adipeux d'un patient représentatif
- Figure 20** : Répartition des patients selon l'âge
- Figure 21** : Répartition des patients en fonction du sexe
- Figure 22** : Répartition des patients selon le sexe des patients par tranche d'âge
- Figure 23** : Répartition des patients selon l'âge et le type du prélèvement
- Figure 24** : Répartition des pathologies ayant bénéficié d'un traitement par CSM
- Figure 25** : Pourcentage des cellules viables présentant les marqueurs Cd105+ Cd90+ et Cd73+ en fonction de l'âge

- Figure 26** : Répartition et hiérarchie des cellules souches selon leur pluripotence
- Figure 27** : Schéma explicatif illustrant la capacité d'auto-renouvellement et différenciation d'une cellule souche
- Figure 28** : Comparaison des taux de marqueurs entre la moelle osseuse et le tissu adipeux
- Figure 29** : La plasticité des CSM
- Figure 30** : Mécanisme du « homing »
- Figure 31** : Principales actions et effets bénéfiques possibles des CSM dans la réparation tissulaire
- Figure 32** : Mécanismes de réparation de CSM
- Figure 33** : Principales sources et lignées de différenciation des CSM
- Figure 34** : Schéma d'un cordon ombilical humain
- Figure 35** : Méthodes d'obtention des CSM isolées de la moelle osseuse et du tissu adipeux
- Figure 36** : Procédures d'extraction de CSM par unité jetable du séparateur cellulaire à circuit fermé
- Figure 37** : Schéma de prélèvement, culture et implantation des CSM dérivées de la MO
- Figure 38** : Schéma d'isolement des CSM dérivées du tissu adipeux
- Figure 39** : Isolement de la gelée de Wharton à partir du cordon ombilical humain
- Figure 40** : Bioréacteur multicouche : Cell Factory (Nunc)
- Figure 41** : Bioréacteur à cuve agitée : Cultibag STR 50 L (Sartorius)
- Figure 42** : Bioréacteur à vague : WAVE 2/10 (GE Lifescience)
- Figure 43** : Bioréacteur à lit tournant : ZRP 200H (Zellwerk)
- Figure 44** : Bioréacteur à lit fixe : CellBead syringe (CellMed)
- Figure 45** : Procédure d'expansion des CSM dans le Bioréacteur : Quantum
- Figure 46** : Technologies de bioréacteurs pour l'intensification de l'amplification des CSM
- Figure 47** : Voies d'administration des CSM
- Figure 48** : Rationnel d'utilisation actuel des cellules souches mésenchymateuses
- Figure 49** : Intérêt des cellules souches mésenchymateuses dans l'arthrose
- Figure 50** : Evolution d'une pseudarthrose tibiale et fibulaire chez un patient traité par CSM et PRP
- Figure 51** : Reconstruction 3D par micro-TDM : Evolution d'un défaut de la diaphyse fémorale

Liste des tableaux :

- Tableau I** : Principales indications thérapeutiques avec le service émetteur
- Tableau II** : Statistiques descriptives des résultats
- Tableau III** : Comparaison des taux de marqueurs entre la moelle osseuse et le tissu adipeux
- Tableau IV** : Moyenne des cellules viables présentant les marqueurs en fonction de l'âge et du type du prélèvement
- Tableau V** : Critères de définition des CSM par l'ISCT
- Tableau VI** : Marqueurs des CSM par immunomarquage en cytométrie en flux tels que définis par l'ISCT
- Tableau VII** : Nature et fonctions des principaux marqueurs exprimés à la surface des CSM
- Tableau VII** : Analyse comparative des CSM de la moelle osseuse, du cordon ombilical et du tissu adipeux
- Tableau IX** : Essais cliniques en cours sur la thérapie cellulaire par CSM en neurologie/neurochirurgie (source clinicaltrials.gov)



ABBREVIATIONS



Liste des abréviations :

ACD-a	: Anticoagulant Citrate Dextrose- solution A
ADP	: Adénosine diphosphate
ADSC	: Adipose derived stroma/stem cells
AKT	: protéine kinase B
AMP	: Adénosine monophosphate
ANG1	: Angiopoietin-1
ARN	: Acide ribonucléique
AT	: Adipose tissue
ATP	: Adénosine triphosphate
AVC	: Accident vasculaire cérébral
BFGF	: Basic fibroblast growth factor
BM	: Bone marrow
BMP	: Bone morphogenetic protein
CD	: Clusters de différenciation
CFU-F	: Colony Forming Unit - fibroblasts
CS	: Cellules souches
CSA	: Cellules souches adultes
CSH	: Cellules souches hématopoïétiques
CSM	: Cellules souches mésenchymateuses
CXCR4	: C-X-C chemokine receptor type 4
DMEM	: Dulbecco's modified eagle medium
DI	: Injection directe
EDSS	: Expanded disability status score
ELISA	: Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay
ERK	: Extracellular signal-regulated kinase
FDA	: Food and Drug Administration
GvHD	: Graft versus host disease
HGF	: Hepatocyte growth factor
HLA	: Human leukocyte antigen
HPL	: Lysat de plaquettes humaines
IA	: Intra-artérielle
IDM	: Infarctus du myocarde
IDO	: Indoleamine 2,3-dioxygénase
IGF-1	: Insulin-like growth factor

IL-6	: Interleukin 6
IL-11	: Interleukin 11
IM	: Intramusculaire
IPS	: Induced pluripotent stem cell
ISCT	: Société internationale de thérapie cellulaire
IV	: Intra-veineuse
KOOS	: Knee Injury and Osteoarthritis Outcome Score
LED	: light-emitting diode
MEC	: Matrice extra-cellulaire
MEM	: Milieu essentiel minimum
MO	: Moelle osseuse
MSC	: Mesenchymal stem cells
PDGF	: Platelet-derived growth factor
PGE2	: Prostaglandin E2
PRP	: Plasma riche en plaquettes
PSM	: poste de sécurité microbiologique
SBF	: Sérum bovin fœtal
SDF-1	: Stromal cell-derived factor 1
SLA	: Sclérose latérale amyotrophique
SNC	: Système nerveux central
SVF	: Fraction stromale vasculaire
TA	: Tissu adipeux
TGF	: Transforming growth factor
TNT	: Tunneling nanotube
TSG-6	: TNF-stimulated gene-6
VEGF	: Vascular Endothelial Growth Factor
UC	: umbilical cord



PLAN



INTRODUCTION	1
MATERIELS ET METHODES	3
I. Objectif de l'étude :	4
II. Type d'étude, population cible et échantillonnage :	4
III. Recueil des données :	5
IV. Considérations éthiques :	5
V. Schéma général de la prise en charge au CMR pour traitement par CSM :	5
VI. Procédures de prise en charge détaillée du prélèvement de CSM au CMR :	6
1. Isolement des cellules souches mésenchymateuses issus de la moelle osseuse :	6
2. Isolement des cellules souches mésenchymateuses issus du tissu adipeux :	9
VII. Procédés d'expansion des cellules souches mésenchymateuses :	14
VIII. Caractérisation des cellules souches mésenchymateuses :	18
RESULTATS	21
I. Données générales :	22
1. Répartition selon l'âge :	22
2. Répartition selon le sexe :	23
3. Répartition selon le sexe des patients par tranche d'âge	23
4. Répartition selon l'âge et le type du prélèvement :	24
5. Indications d'injection des cellules souches mésenchymateuses :	25
II. Données de comptage et phénotypage des cellules souches mésenchymateuses :	26
1. Résultats du cytomètre en flux :	26
2. Pourcentage des cellules viables présentant les marqueurs en fonction du type de prélèvement :	26
3. Pourcentage des cellules viables présentant les marqueurs en fonction de l'âge et du type de prélèvement :	27
DISCUSSION	29
I. Les cellules souches :	30
1. Définition et classification :	30
2. Caractéristiques des cellules souches :	31
II. Les cellules souches mésenchymateuses (CSM) :	34
1. Historique :	34
2. Définition des CSM :	35
III. Propriétés des CSM :	40
1. Multipotence et différenciation :	40
2. Migration et influence du microenvironnement :	41
3. Effets trophiques :	42
4. Effets immunomodulateurs :	44
IV. Modalités d'action des CSM :	45
1. Mécanisme d'action directe par différenciation cellulaire :	46
2. Mécanisme d'action par fusion entre CSM et cellule des tissus :	46

3. Mécanisme d'action par effets paracrines des CSM administrés :	46
4. Mécanisme d'action par transfert de mitochondries par tunnelisation de nanotubes :	47
5. Mécanisme d'action par libération d'exosomes :	47
V. Origine tissulaire et sources des CSM :	50
1. La moelle osseuse :	51
2. Le tissu adipeux :	51
3. Le cordon ombilical :	52
4. Comparatif entre les principales sources des CSM :	53
5. Autres sources de CSM :	54
VI. Procédés d'isolement et d'amplification des CSM :	54
1. Généralités :	54
2. La préparation des cellules souches mésenchymateuses :	55
2.1. Techniques d'isolement :	56
2.2. Procédés d'expansion par culture cellulaire des CSM :	61
3. Techniques d'administration :	69
VII. Rationnel d'utilisation des CSM :	72
1. Utilisation immédiate des CSM (sans culture cellulaire) :	73
2. Utilisation des CSM après culture :	73
VIII. Indications et utilisations thérapeutiques des CSM :	74
1. En traumatologie-orthopédie :	74
2. En chirurgie plastique :	78
3. En neurologie et neurochirurgie :	80
4. Autres :	83
CONCLUSION :	84
ANNEXES :	86
RESUMES :	89
BIBLIOGRAPHIE :	96



INTRODUCTION



La médecine régénérative a pour objectif de remplacer des cellules déficientes ou de reconstituer des tissus ou des organes altérés. Le développement de cette nouvelle discipline médicale est basée sur des processus biologiques impliqués dans le fonctionnement des cellules et des tissus.

Grâce à la médecine régénérative, il est désormais envisageable de reconstituer les tissus lésés par un accident (brûlures, traumatisme...), par une maladie (Parkinson, Diabète, Crohn...) ou simplement altérés par les processus physiologiques (comme le vieillissement).

En plus, la découverte de méthodes de culture soutenant la croissance des cellules souches in vitro a permis l'élargissement des indications des thérapies régénératives, en fournissant la possibilité d'établir une réserve de matériel biologique.

La médecine régénérative apparaît donc comme une approche thérapeutique innovante. Elle est, porteuse de promesses thérapeutiques dans tous les domaines médicaux, suscitant un véritable engouement dans le monde scientifique et médical.

Un type de cellules présente de grands espoirs en médecine régénérative : **les cellules souches**. Elles présentent des caractéristiques intéressantes comme la capacité de différenciation en de nombreux tissus.

Parmi ces cellules souches, les cellules souches dites mésenchymateuses (CSM) font l'objet de nombreuses études depuis plusieurs décennies en raison de leurs capacités de régénération. Ce sont des cellules d'origine mésodermique. Historiquement, elles ont été isolées à partir de la moelle osseuse. Depuis, elles ont été isolées à partir d'une multitude d'autres tissus, principalement le tissu adipeux et le cordon ombilical.



MATERIELS
ET
METHODES



I. Objectif de l'étude :

Ce travail a donc comme objectif :

- De résumer les connaissances actuelles et l'état de l'art en matière de l'utilisation des cellules souches mésenchymateuses dans différentes pathologies (définitions, origine, isolement, culture, principe thérapeutique ...) et exposer la véritable avancée que représente l'utilisation des cellules souches mésenchymateuses et ses dérivées en médecine régénérative.
- D'évaluer et discuter l'apport des cellules souches mésenchymateuses chez nos patients.
- D'analyser les données de la littérature pour déterminer l'apport et les limites de la technique.
- Enfin, dans ce travail, nous allons rapporter les données épidémiologiques et les résultats des examens exécutés à nos patients au sein du centre de médecine régénérative.
- **Les résultats cliniques, le suivi et l'évolution des patients ne seront pas abordés dans ce travail.**

II. Type d'étude, population cible et échantillonnage :

Il s'agit d'une étude prospective étalée sur une période de 18 mois, s'étalant de Janvier 2021 à Juillet 2022. La population cible est constituée de patients ayant bénéficié d'un traitement par CSM au CHU Mohammed VI de Marrakech. Les prélèvements ont été faits soit dans le service dans lequel le patient est admis, puis acheminés au centre de médecine régénérative (CMR), soit directement au CMR.

Ensuite, une étape d'isolement de CSM s'est faite au laboratoire du CMR. La réinjection de CSM est faite au patient soit dans son service soit au CMR.

III. Recueil des données :

Le recueil des données anamnestiques, cliniques et thérapeutiques ainsi que les données de comptage et de phénotypage des cellules souches mésenchymateuses de chaque patient a été réalisé à partir des dossiers médicaux archivés au niveau du Centre de Médecine régénérative du CHU Mohammed VI.

IV. Considérations éthiques :

L'aspect éthique a été pris en considération tout au long du déroulement de notre étude. L'équipe de travail a veillé sur l'anonymat et la confidentialité des données de nos patients et leur consentement a été obtenu au début de l'étude.

V. Schéma général de la prise en charge au CMR pour traitement par CSM :

Pour chaque prélèvement de CSM, le prélèvement est enregistré. Les informations minimales recueillies sont :

- Le nom et prénom du patient
- L'identifiant patient (IP)
- La date et heure d'admission
- Le sexe
- L'âge
- Le service d'origine
- Le type de prélèvement (Moelle osseuse ou Tissu adipeux)
- La pathologie du patient ou l'indication pour le traitement par CSM.

VI. Procédures de prise en charge détaillée du prélèvement de CSM au CMR :

Le prélèvement est reçu dans des seringues verrouillées et étiquetées dans une boîte stérile.

Après l'enregistrement au niveau de la réception, le prélèvement subit les étapes suivantes dans un strict respect des règles d'asepsie.

1. Isolement des cellules souches mésenchymateuses issus de la moelle osseuse :

1.1. Préparation du poste de travail :

Avant la manipulation du prélèvement, une étape de préparation est nécessaire. Elle a pour but principal la création des conditions optimales pour une manipulation en toute sécurité.

Ces mesures sont :

- Mise en marche du poste de sécurité microbiologique (PSM)
- Désinfection des mains par une solution hydroalcoolique
- Utilisation de gants chirurgicaux stériles
- Désinfection des surfaces du PSM par l'éthanol à 70%
- Introduction des éléments du kit dans le PSM après les avoir aspergés avec de l'éthanol à 70 %
- Introduction des échantillons



Figure 1 : Plan de travail après la mise en condition du PSM

1.2. Filtration du prélèvement :

La 1^{ère} étape est de faire passer le prélèvement reçu à travers un filtre, dans une poche contenant un anticoagulant de type ACD-A (citrate), pour enlever les débris osseux et les caillots de sang éventuels.

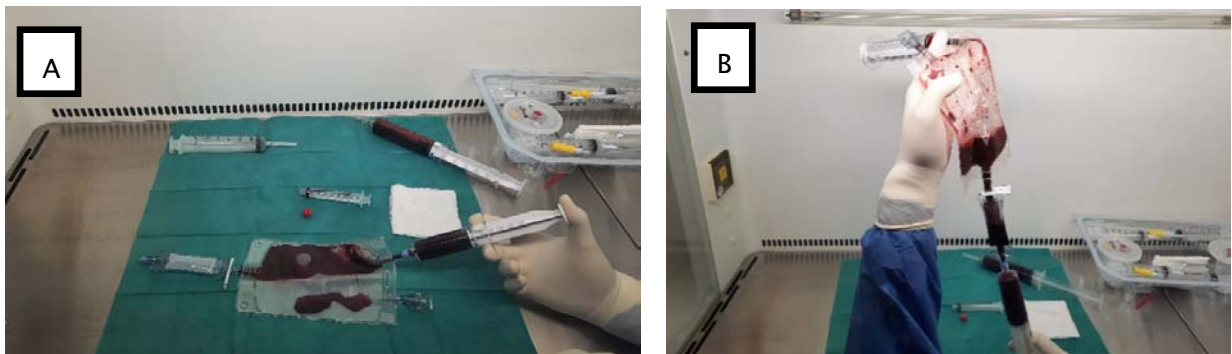


Figure 2 : A) injection de l'échantillon dans une poche, B) récupération de l'échantillon à travers un filtre

1.3. Centrifugation du prélèvement :

L'échantillon est injecté dans un dispositif adapté et subit une double centrifugation afin de séparer les différentes fractions :

- Globules rouges
- Globules blancs ou Buffy coat contenant les CSM
- Le plasma avec les plaquettes



Figure 3 : A) injection de l'échantillon dans un dispositif adapté, B) centrifugation de l'échantillon

1.4. Récupération des CSM :

A la suite de la centrifugation, les CSM sont récupérés mélangées au plasma riche en plaquettes.



Figure 4 : Récupération de l'échantillon

2. Isolement des cellules souches mésenchymateuses issus du tissu adipeux :

2.1. Préparation du poste de travail :

Cette étape de préparation se fait de la même manière que pour l'isolement des CSM issus de la moelle osseuse. En plus du prélèvement graisseux, un prélèvement sanguin de 48 ml environ dans des tubes citratés est envoyé au CMR. Il servira à la préparation du Plasma riche en plaquettes (PRP).

2.2. Lavage du prélèvement :

Les seringues verrouillées sont placées verticalement pour séparer les fragments de tissus flottants de la solution par décantation. Par la suite, la fraction flottante est éliminée par simple pression sur le piston de la seringue. L'étape suivante consiste en un lavage des cellules par l'ajout de sérum physiologique. Cette étape peut-être répétée si nécessaire jusqu'à obtention d'une solution finale claire.



Figure 5 : Décantation de l'échantillon adipeux



Figure 6 : Lavage de l'échantillon par du sérum salé

2.3. La digestion enzymatique :

Après le lavage du prélèvement, une étape de digestion enzymatique est nécessaire pour séparer la graisse de la fraction contenant les cellules souches. Cette étape fait appel à la collagénase. Celle-ci est sous forme de poudre dans un flacon stérile. Avant utilisation, elle doit-être mélangée à du sérum salé stérile. Enfin, le produit cellulaire est équitablement réparti sur des tubes à fond coniques stériles de 50mL avant d'être placé sur un agitateur thermique, préchauffé à 37 °C pendant 20 min ,environ, tout en inspectant visuellement le processus de digestion.



Figure 7 : Préparation de la collagénase

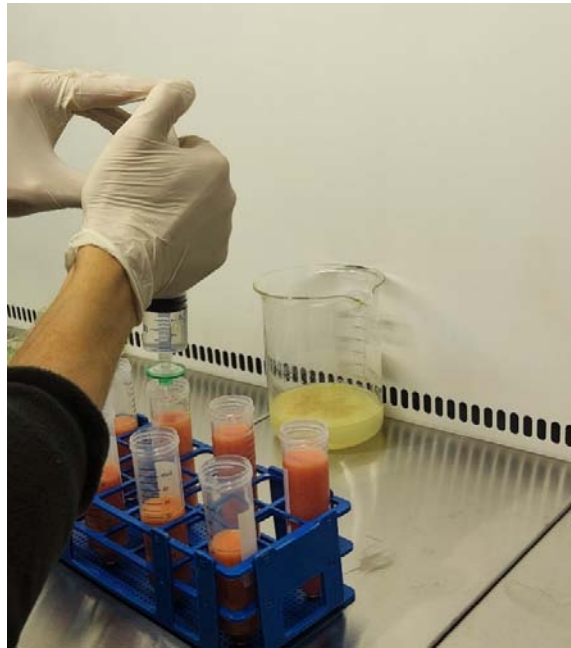


Figure 8 : Ajout de la collagénase à l'échantillon gras



Figure 9 : Incubation-agitation de l'échantillon à 37 °C

2.4. La centrifugation :

Le processus a pour but de séparer le culot cellulaire du surnageant qui sera éliminé. Le culot contenant les CSM est isolé à l'aide d'une pipette stérile. Le surnageant est éliminé. Un échantillon est mis de côté pour le comptage et le phénotypage par cytométrie en flux.

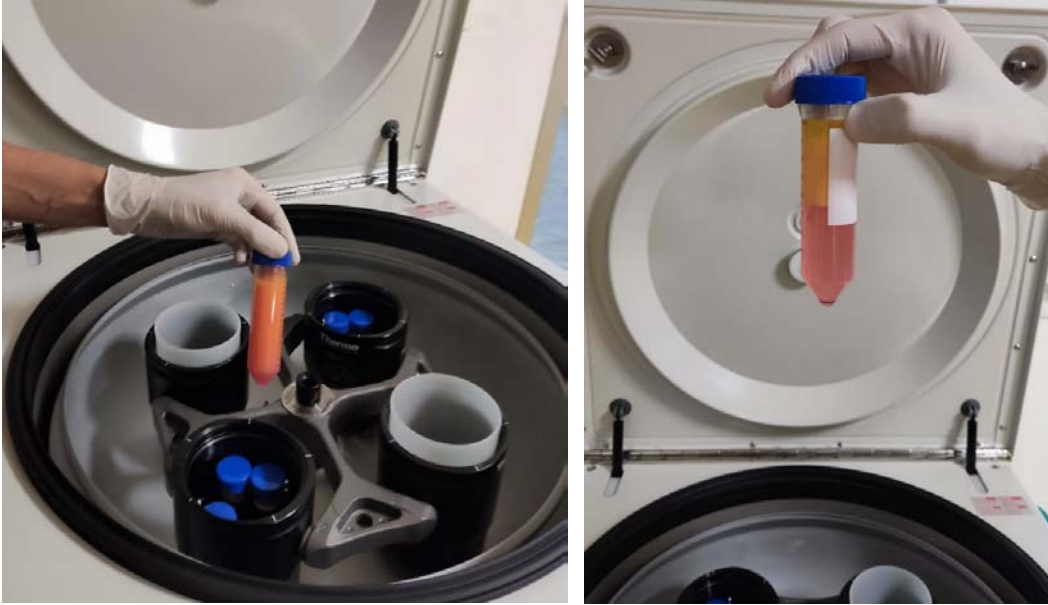


Figure 10 : Centrifugation de l'échantillon

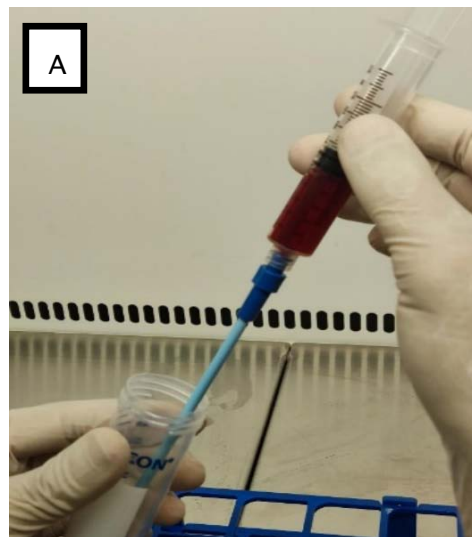
2.5. Préparation du Plasma riche en plaquettes :

Cette préparation se fait en même temps que l'isolement des CSM. Tout d'abord, une double centrifugation des tubes remplis de sang périphérique est réalisée pour récupérer le PRP (le 1/3 inférieur du plasma après la 2^{ème} centrifugation).

Le PRP est homogénéisé et préparé pour qu'il soit mélangé avec les cellules souches mésenchymateuses.

2.6. Mélange du PRP avec les CSM :

Le culot est mélangé au PRP. Le PRP est utilisé comme un supplément nutritionnel qui accélère la vitesse de prolifération cellulaire et potentialise les CSM en stimulant leurs sécrétions de facteurs pro-angiogéniques (VEGF) et pro-inflammatoires (IL6) tout en améliorant leur survie, leur pouvoir angiogénique et chémoattractant. Le produit final est placé sur une seringue étiquetée stérile.



B

Figure 11 : A) Ajout du PRP au CSM, B) Produit final prêt pour utilisation

2.7. Activation par la lumière LED :

C'est une étape facultative, Ce dispositif LED Cell Activator utilise des lumières LED à une longueur d'onde et une puissance spécifique pour augmenter la viabilité cellulaire, la prolifération et la différenciation.

Ce processus favorise également l'expression de l'intégrine bêta1, l'une des clés d'une réparation tissulaire réussie.

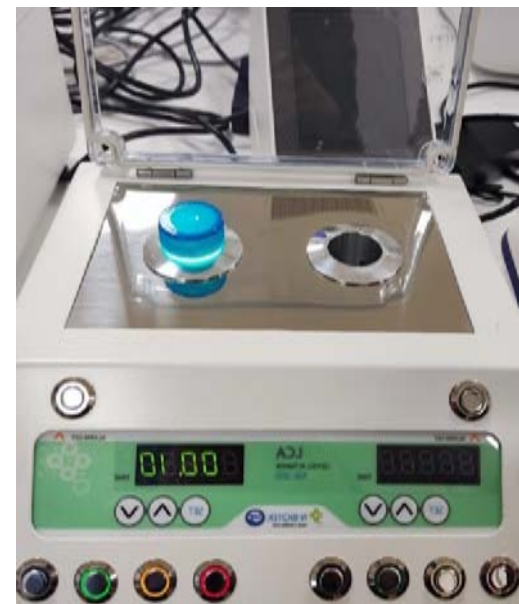


Figure 12 : Activation par la lumière LED

A la fin, on met la seringue dans une boîte stérile, à température ambiante afin d'être acheminé au service clinique.

VII. Procédés d'expansion des cellules souches mésenchymateuses :

De plus en plus de travaux de recherche et de projets thérapeutiques utilisent une étape d'expansion des cellules souches mésenchymateuses pour tenter de purifier le produit fini et contrôler la dose finale injectée.

Le Centre de Médecine Régénérative a lancé, récemment, des travaux de mise au point de la technique à partir des CSM ombilicales ou issus du tissu adipeux. Elles constituent, aussi, une étape préliminaire pour l'utilisation des exosomes.

Les étapes d'amplification sont les suivantes :

1. Mise en condition :

C'est une étape de préparation de la station de travail. Elle suit les mêmes conditions d'asepsie sus-cités.

2. Préparation des milieux de culture cellulaire :

Les milieux de culture sont nécessaires à la multiplication des cellules. Plusieurs produits ont été utilisés à type de DMEM ou alpha MEM associé un cocktail d'antibiotique pour éviter une contamination microbienne de la culture cellulaire



Figure 13 : A) + B) Préparation du milieu de culture et dépôt du cocktail dans la flasque de culture

3. Ensemencement des cellules et incubation des cellules

Les cellules sont ajoutées au milieu de culture dans la flasque de culture. Les cellules sont déposées dans un incubateur cellulaire à CO₂ réglé à une température de 37°C.

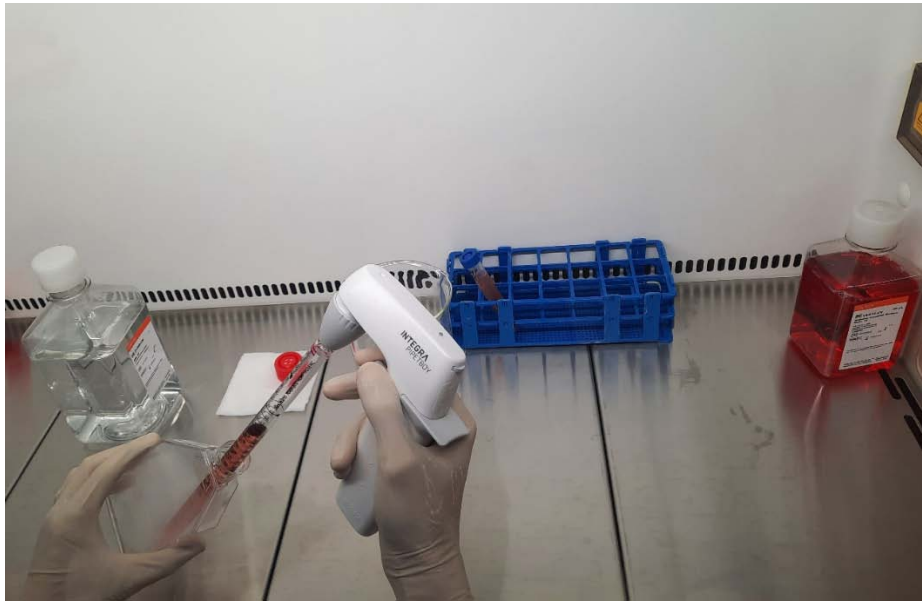


Figure 14 : Ajout des CSM dans la flasque de culture contenant le milieu de culture

4. Surveillance au microscope :

La pousse des cellules est contrôlée en continu par le microscope inversé. Les images microscopiques suivantes montrent l'évolution de la culture des CSM pendant 72h :

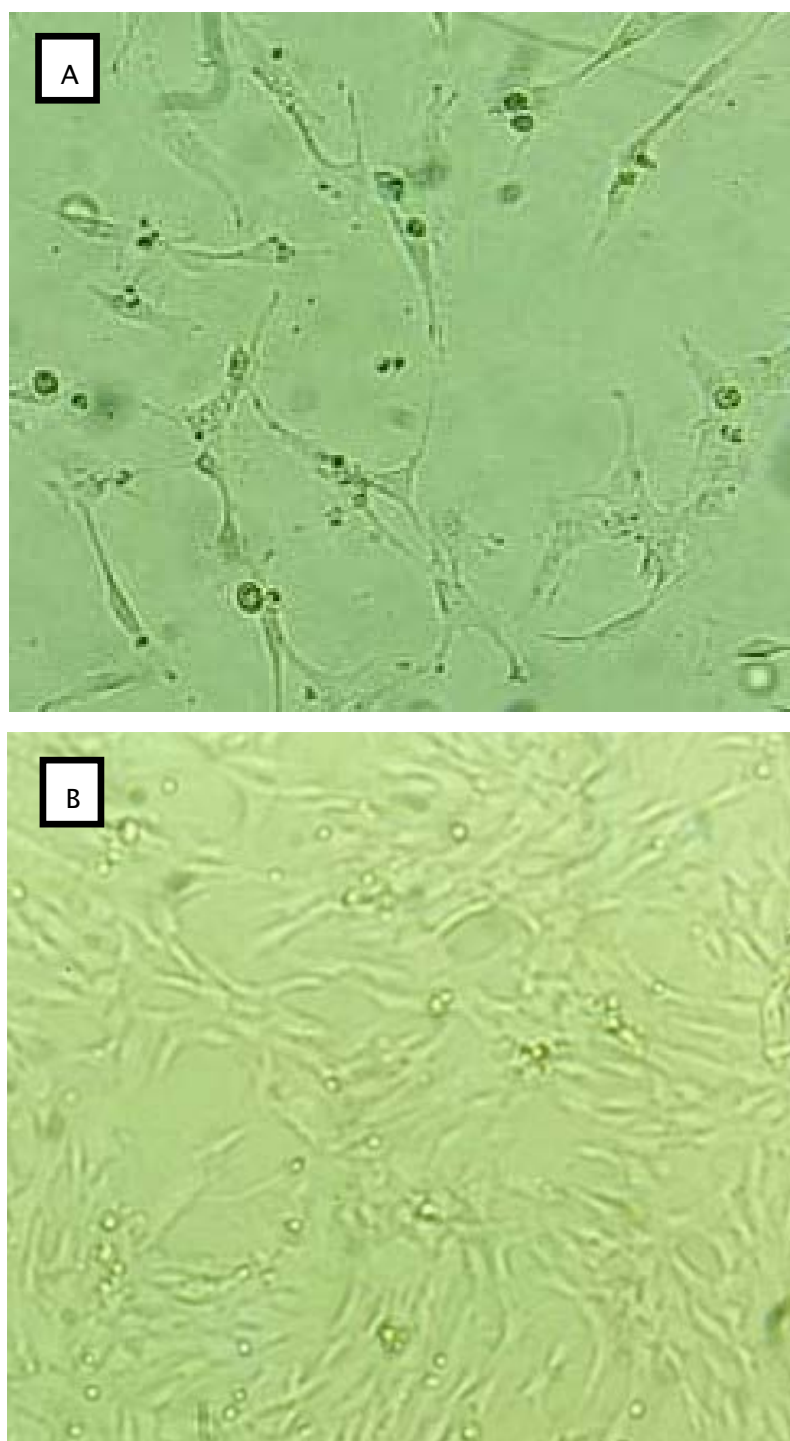


Figure 15 : Image de la culture cellulaire A) à J1 + B) à J3

5. Trypsinisation– Réalisation de passage :

Lorsque la surface de la flasque de culture est comblée à 80% par les CSM. On procède au partage des cellules sur 2 flasques de culture afin de laisser l'espace nécessaire aux cellules pour croître. En effet, l'inhibition de contact empêche les cellules de continuer le processus de multiplication lorsqu'elles remplissent la flasque de culture.

Pour ce faire, on procède au décollement des CSM de la flasque de culture par l'utilisation de la trypsine. Cette enzyme a pour rôle de casser l'adhérence des CSM au plastique. Le détachement des CSM par la trypsine et le partage des cellules sur un nombre plus grand de flasques est appelé « un passage ».



Figure 16 : Répartition des CSM sur les flacons de culture cellulaire

VIII. Caractérisation des cellules souches mésenchymateuses :

Que ce soit à partir d'un prélèvement de moelle osseuse, du tissu adipeux ou après culture cellulaire, le nombre de CSM doit-être quantifié afin de pouvoir déterminer la dose exacte de CSM injecté. Cette quantification se fait par cytométrie en flux en utilisant des anticorps spécifiques couplés à des fluorochromes pouvant-être captés par le cytomètre en flux ce qui permet, au final, de quantifier les CSM.

saturan
du fab
analysé

louches mésenchymateuses sont marquées avec une concentration
brps contenant (CD73+, CD90+ et CD105+), selon les instructions
minutes à température ambiante dans l'obscurité puis elles sont
aux Macs Quant 10 MiltenyiBiotec.



Figure 17 : Ajout du cocktail d'anticorps et centrifugation de l'échantillon

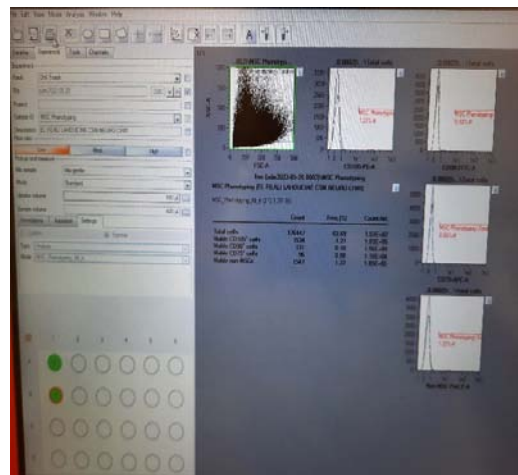


Figure 18 : Analyse de l'échantillon par la cytométrie en flux Macs Quant 10 MiltenyiBiotec

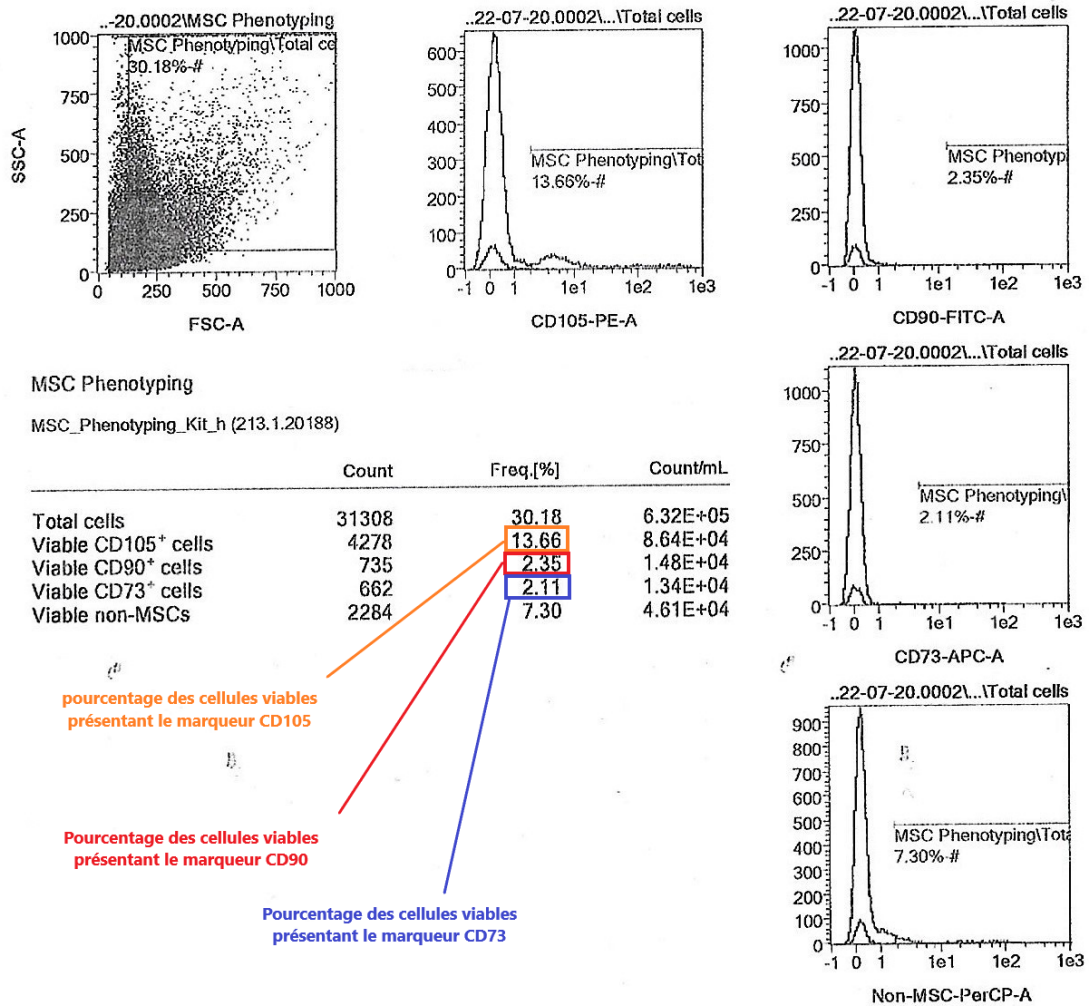


Figure 19 : Histogrammes de cytométrie en flux des CSM isolées du tissu adipeux d'un patient représentatif



RESULTATS



I. Données générales :

Le recueil des données anamnestiques, cliniques et thérapeutiques ainsi que les données de comptage et de phénotypage des cellules souches mésenchymateuses de chaque patient a été réalisé à partir des dossiers médicaux archivés au niveau du Centre de Médecine régénérative du CHU Mohammed VI.

70 patients ont été choisis dont 43 patients ayant été prélevés à partir de la moelle osseuse et 27 patients ayant été prélevés à partir du tissu adipeux avec des résultats comme suit

1. Répartition selon l'âge :

La moyenne d'âge des patients est de 45,04 avec des extrêmes de 14 à 75 ans. Pour les patients ayant été prélevés à partir de la moelle osseuse, la moyenne d'âge était de 49,09 alors qu'elle était de 38,59 pour patients ayant été prélevés à partir du tissu adipeux.

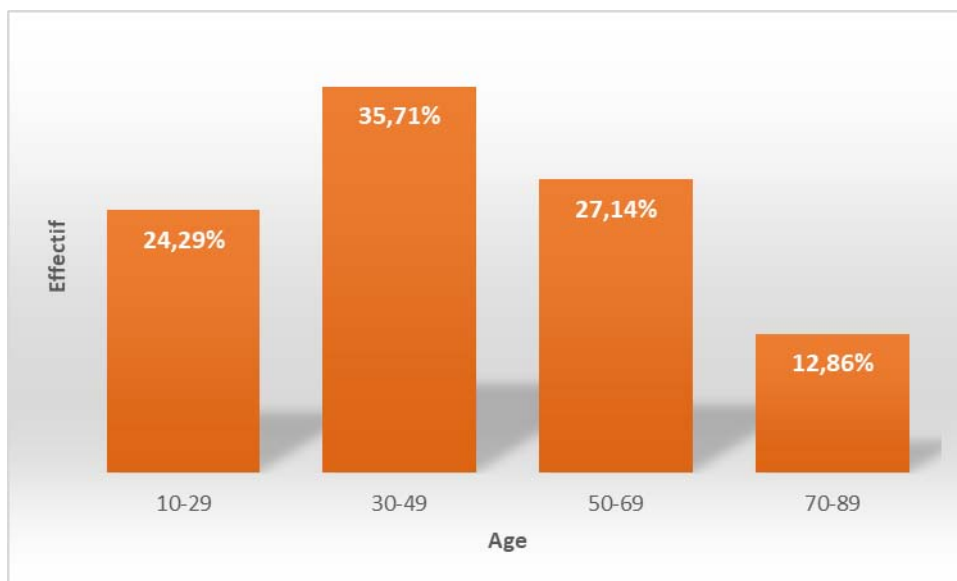


Figure 20 : Répartition des patients selon l'âge

2. Répartition selon le sexe :

Notre série a été caractérisée par une légère prédominance féminine. En effet, 52,24 % des patients étaient des femmes, soit un sex-ratio H/F de 0,91.

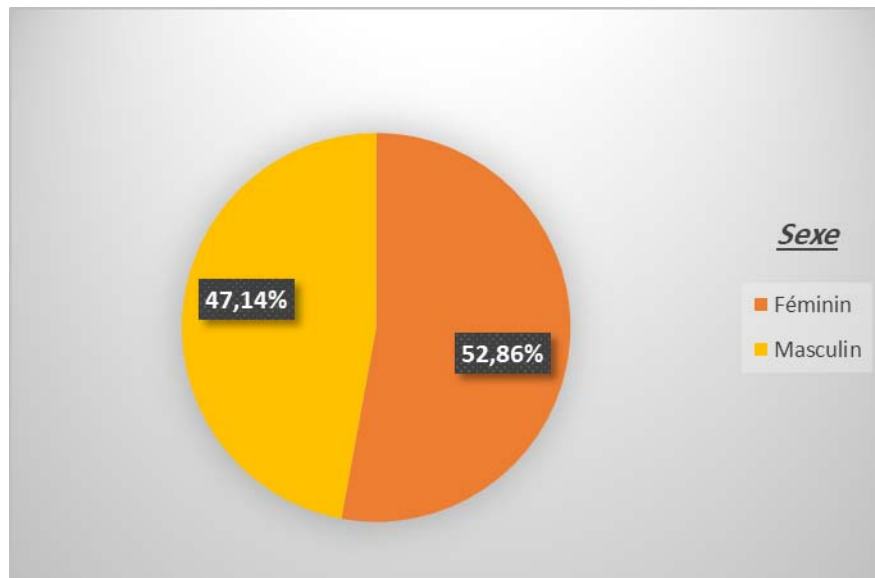


Figure 21 : Répartition des patients en fonction du sexe

3. Répartition selon le sexe des patients par tranche d'âge

La répartition des patients selon les différentes tranches d'âge a été équilibrée hormis pour la tranche « patient de plus de 70 ans » où on avait une prédominance masculine.

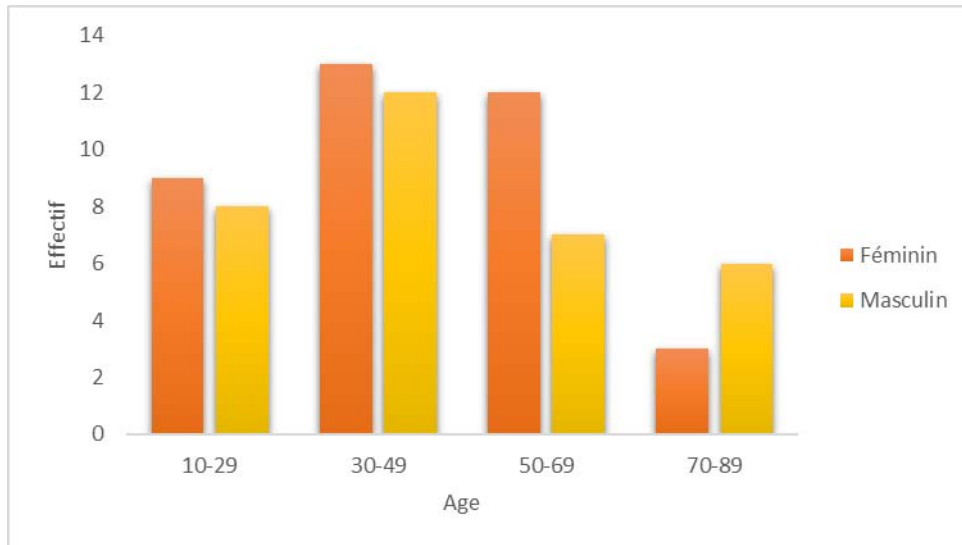


Figure 22 : Répartition des patients selon le sexe des patients par tranche d'âge

4. Répartition selon l'âge et le type du prélèvement :

Dans notre étude, la moelle osseuse a été privilégiée pour la population âgée de plus de 50 ans. Dans les autres tranches d'âge, la répartition par type de prélèvement était plus équilibrée.

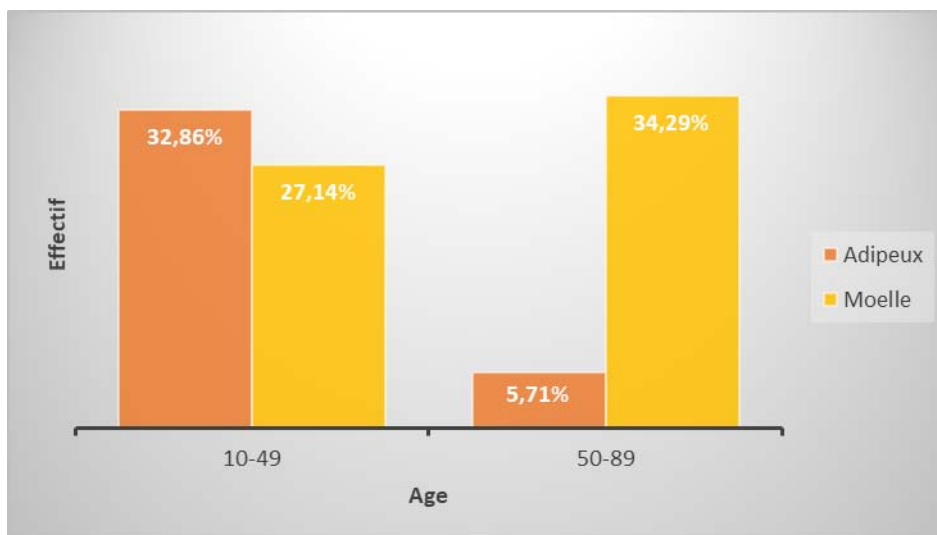


Figure 23 : Répartition des patients selon l'âge et le type du prélèvement

5. Indications d'injection des cellules souches mésenchymateuses :

De nombreuses indications ont bénéficié du traitement par les cellules souches mésenchymateuses. Dans notre étude, l'indication d'injection de CSM la plus fréquente est la gonarthrose avec 44,29 % des cas suivie de la paraplégie post-traumatique avec un pourcentage de 14,29%. Le tableau ci-dessous récapitule les principales indications thérapeutiques avec le service émetteur.

Tableau I : Principales indications thérapeutiques avec le service émetteur

Service	Indications thérapeutiques
Traumatologie/Rhumatologie	Gonarthrose
Chirurgie plastique	Cicatrice/ Perte de substance chronique/ Brulure/ Alopecie
Neurochirurgie	Paraplégie post-traumatique/ Sclérose latérale amyotrophique/ Démence
Gastrologie	Maladie de crohn
Chirurgie maxillo-faciale	Cicatrice
Endocrinologie	Diabète type 1
Gynécologie	Régénération ovarienne

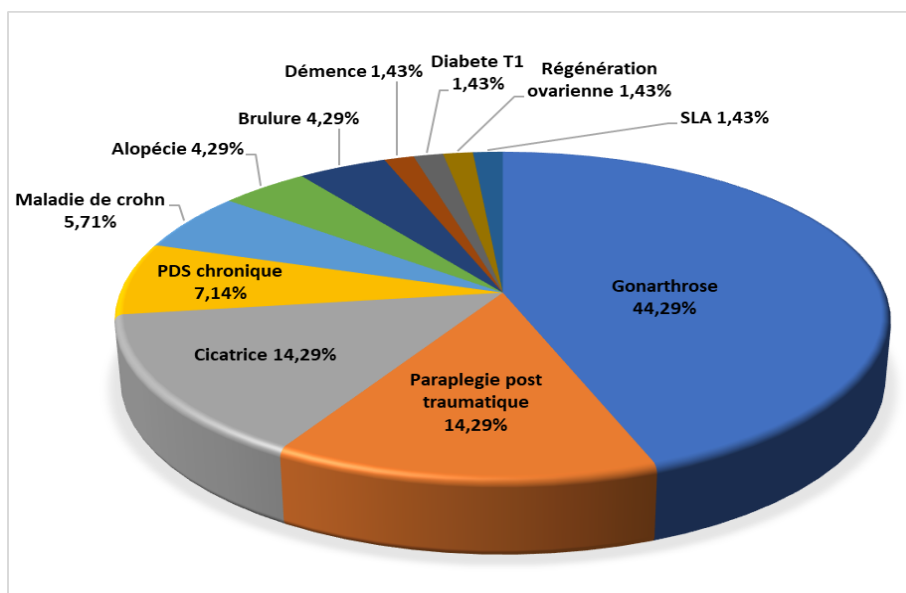


Figure 24 : Répartition des pathologies ayant bénéficié d'un traitement par CSM

II. Données de comptage et phénotypage des cellules souches mésenchymateuses :

1. Résultats du cytomètre en flux :

Tableau II : Statistiques descriptives des résultats

		Minimum		Maximum		Moyenne
Nombre total de cellules dans le prélèvement (%)	MO	35,42		86,2		60,68
	TA	21,95		74,34		43,32
Nombre des CSM isolées (%) selon l'âge	MO	1,07	32 ans	38,78	62 ans	9,36
	TA	5,33	62 ans	36,29	23 ans	17,75

Dans notre série, la moyenne des CSM isolées à partir du tissu adipeux est de 17,75% du nombre total de cellules prélevées, elle est plus élevée que la moyenne des CSM isolées de la moelle osseuse qui ne présente que 9,36%.

2. Pourcentage des cellules viables présentant les marqueurs en fonction du type de prélèvement :

Tableau III : Comparaison des taux de marqueurs entre la moelle osseuse et le tissu adipeux

Taux de marqueurs	MO	TA
CD90+	6,33 %	20,80 %
CD105+	88,02 %	67,36 %
CD73+	5,63 %	11,83 %

Dans notre étude, on constate une expression augmentée du CD105+ par rapport aux CD90+ et CD73+ avec un pourcentage de 88,02% chez les CSM issus de la moelle osseuse et 67,36% pour les CSM issus du tissu adipeux.

3. Pourcentage des cellules viables présentant les marqueurs en fonction de l'âge et du type de prélèvement :

Ces graphiques montrent les pourcentages des cellules viables présentant les marqueurs Cd105 Cd90 et Cd73 en fonction du type de prélèvement, avant et après 50 ans.

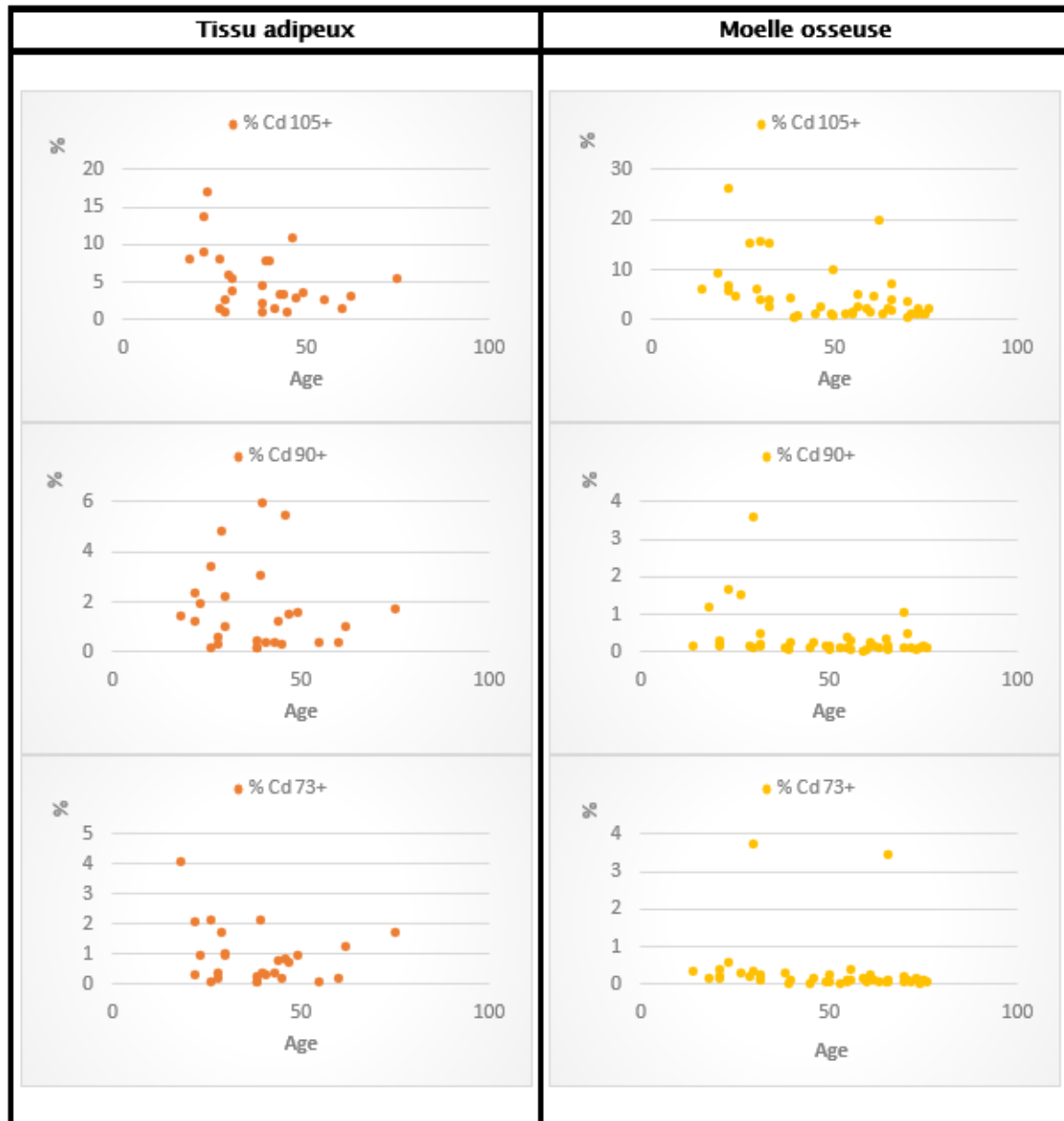


Figure 25 : Pourcentage des cellules viables présentant les marqueurs Cd105+ Cd90+ et Cd73+ en fonction de l'âge

Tableau IV : Moyenne des cellules viables présentant les marqueurs en fonction de l'âge et du type du prélèvement

		Age < 50 ans	Age > 50 ans
Moyenne des cellules viables présentant 1 ou 2 ou 3 des marqueurs Cd105+ Cd90+ et Cd73+ (%)	Moelle osseuse	13,16	11,4
	Tissu adipeux	18,9	8,94

Les pourcentages des marqueurs cellulaires les plus élevés dans les prélèvements du tissu adipeux, ont été constatés chez les patients âgés de moins de 50 ans tandis que dans les prélèvements de la moelle osseuse, le pourcentage est resté stable.



DISCUSSION



I. Les cellules souches :

1. Définition et classification :

La notion de cellules souches (CS) a été abordée à la fin du XIX^{ème} siècle dans l'étude de l'ontogénie en biologie du développement(1).

Dès cette époque, ce concept recouvrait la capacité d'auto-renouvellement des cellules, capacité associée à celle de se différencier en cellules somatiques ou germinales. L'évolution du concept, dans la première partie du XX^e siècle, s'est faite en parallèle avec l'évolution des connaissances en hématologie, apportant, ainsi, la distinction entre cellules souches embryonnaires (CSE) et cellules souches adultes (CSA) avec la découverte des cellules souches hématopoïétiques (CSH).

La définition d'une cellule souche devient dès lors sujette à discussion. Les cellules souches peuvent être classées(2) :

– Selon leur origine en (3)(4)(5):

- Cellules souches embryonnaires
- Cellules souches adultes
- Cellules souches fœtales

– Selon leur type en (6)(7) :

- Cellules souches hématopoïétiques (CSH)
- Cellules souches mésenchymateuses (CSM)
- Cellules souches pluripotentes induites (IPS)

– Selon leur pouvoir de différenciation en(8):

- Cellules souches totipotentes : peuvent en théorie donner naissance à tous les tissus et cellules et donc assurer le développement d'un organisme entier

- Cellules souches pluripotentes : peuvent se différencier en tout type de cellules de l'organisme sauf les cellules extra-embryonnaires comme le placenta
- Cellules souches multipotentes : ayant la capacité de se différencier en cellules et tissus issus d'un même feuillet embryonnaire
- Cellules souches unipotentes : ne peuvent donner qu'un seul type de cellule. Leurs capacités d'auto-renouvellement sont plus limitées.

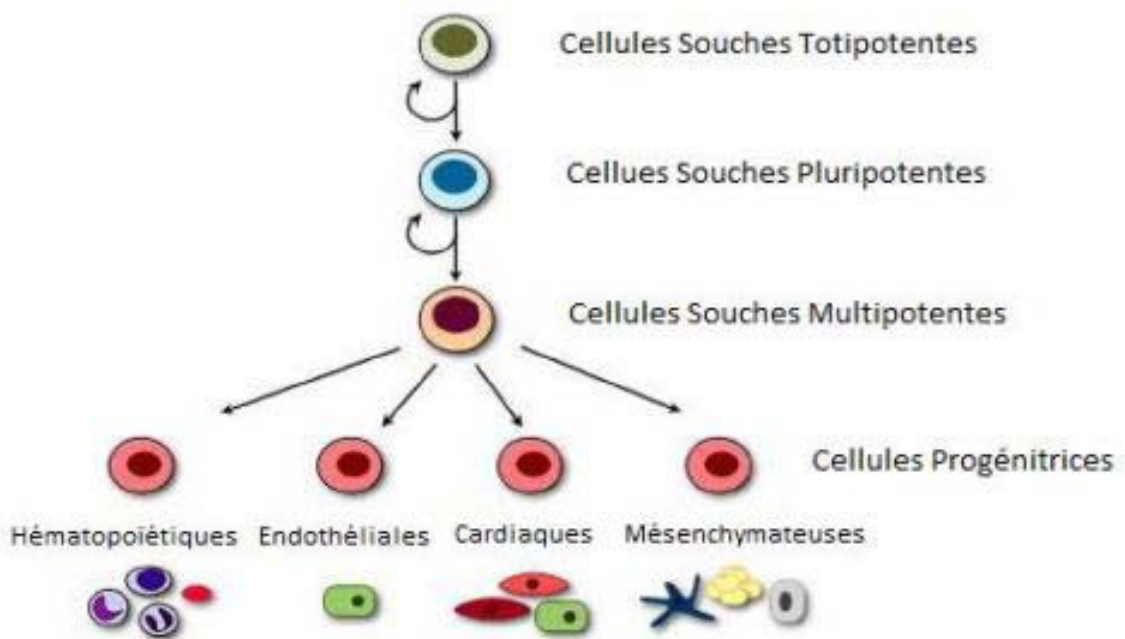


Figure 26 : Répartition et hiérarchie des cellules souches selon leur pluripotence (8)

2. Caractéristiques des cellules souches :

Les cellules souches (CS) possèdent des potentiels de prolifération et de différenciation importants, mais variable selon le type de cellules souches.

Elles se définissent par leur capacité à se différencier vers des types cellulaires spécialisés et leur capacité d'auto-renouvellement à l'identique. En plus, elles se caractérisent par leur important pouvoir de plasticité et une faculté à protéger les télomères au niveau de leurs chromosomes.

➤ Clonogénicité et auto-renouvellement :

La clonogénicité est la capacité des cellules souches à proliférer de manière importante tout en gardant les mêmes propriétés au fil des générations. Grâce à cette capacité, la population de cellules souches va s'auto-renouveler, puis, à la suite de plusieurs divisions cellulaires et en absence de spécialisation, le nombre de cellules souches va pouvoir augmenter.

Lors de l'auto-renouvellement, la CSM peut s'engager soit dans une division symétrique en donnant deux cellules identiques à elle-même, soit dans une division asymétrique en donnant une cellule identique à elle-même et une cellule destinée à se différencier(9).

La voie de division symétrique permet aux cellules souches une augmentation importante de sa population mais, généralement, c'est la voie de division asymétrique qui est utilisée car elle est plus adaptée au renouvellement tissulaire normal : le modèle asymétrique permet de maintenir le capital de cellules souches tout en permettant la différenciation et, ainsi, la régénération des tissus(10).

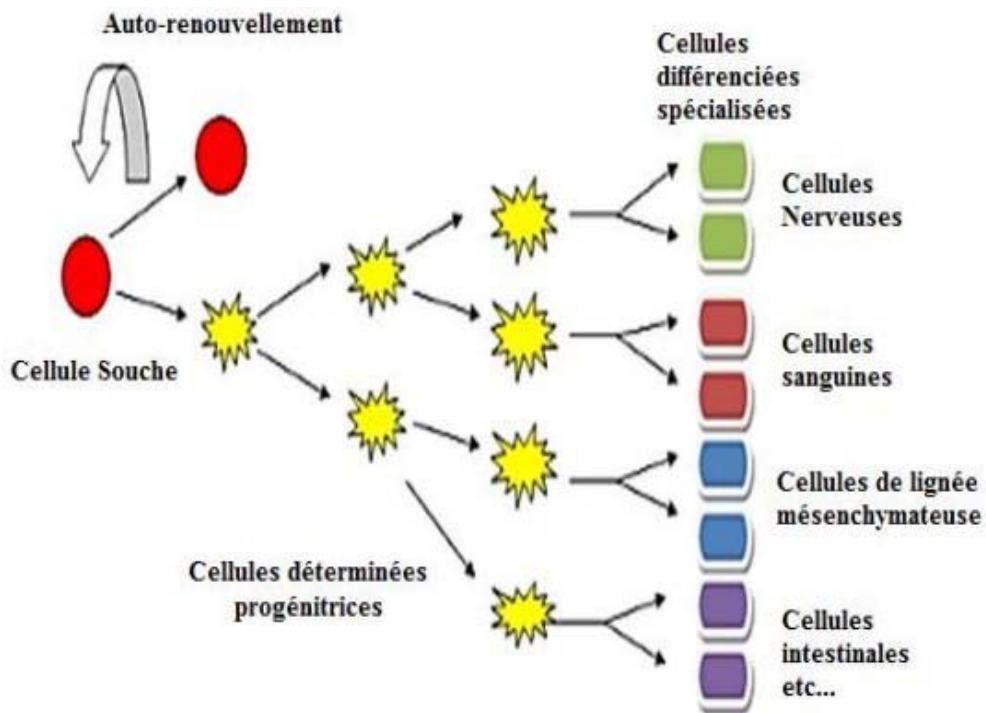


Figure 27 : Schéma explicatif illustrant la capacité d'auto-renouvellement et de différenciation d'une cellule souche (11)

➤ La plasticité

C'est leur pouvoir de différenciation en cellules matures, spécialisées et fonctionnelles constituant le tissu hôte. Elles peuvent, ainsi, se transformer et prendre les caractéristiques de différentes lignées cellulaires suivant l'environnement dans lequel elles se trouvent.

Ces deux propriétés font des cellules souches des éléments indispensables à l'organisme puisqu'elles assurent le renouvellement des tissus en remplaçant des cellules mortes naturellement ou après lésion.

Elles permettent aussi aux organes de continuer à fonctionner normalement pendant toute la vie de l'organisme. Ainsi, au cours du développement, ces cellules vont générer les différents tissus qui constitueront l'organisme et, chez l'adulte, elles permettront le renouvellement naturel des tissus et la réparation en cas de lésion(12).

➤ Protection des télomères

Les télomères représentent les extrémités des chromosomes. Lors de chaque division cellulaire dans une cellule normale, les télomères s'érodent jusqu'à atteindre une taille critique qui déclenche son entrée en sénescence puis en mort cellulaire. Ils agissent comme une horloge biologique signalant la durée de vie des cellules. Les cellules souches ont la capacité d'éviter le raccourcissement progressif des télomères grâce à l'activité d'un complexe enzymatique appelé « la télomérase ».

La télomérase est une enzyme essentielle qui permet la stabilité des génomes, en assurant la synthèse et la croissance des télomères(13).

L'activité télomérasique n'est pas détectée dans la plupart des cellules somatiques, sauf dans certaines cellules souches adultes pluripotentes, les cellules en prolifération, et les cellules germinales mâles(14) .

II. Les cellules souches mésenchymateuses (CSM) :

1. Historique :

La possibilité que des cellules d'origine médullaire soient à l'origine d'une partie des fibroblastes dermiques et participent à la réparation d'une lésion cutanée a été évoquée il y a plus de 140 ans par Cohnheim(15). Mais il a fallu attendre l'année 1976, pour que Friedenstein commence à décrire au sein de la moelle osseuse une population d'allure fibroblastique capable de prolifération, de différenciation ostéoblastique *in vivo* et jouant un rôle de soutien de l'hématopoïèse(16).

Cette série d'études publiées par Friedenstein a permis une première définition fonctionnelle des progéniteurs mésenchymateux présents dans la moelle : les unités formant des colonies fibroblastiques (Colony Forming Unit – fibroblasts ou CFU-F).

La découverte des capacités de différenciation ostéoblastique, chondrocytaire et adipocytaire de cette population adhérente au plastique, et capable d'auto-renouvellement ont permis à Arnold Caplan de proposer en 1991 la dénomination de « **cellules souches mésenchymateuses** »(17).

L'intérêt porté aux CSM s'est ensuite traduit par la description d'un grand nombre de protocoles de sélection et d'amplification, ainsi que par la découverte d'antigènes membranaires permettant de trier différentes sous-populations, révélant la sensibilité de cette famille de cellules aux conditions de culture.

De plus, des cellules au phénotype proche des CSM de la moelle osseuse ont ensuite été identifiées dans un grand nombre de tissus de soutien adultes et fœtaux tel que :

- Tissu adipeux(18)
- Muscles(19)
- Membrane synoviale(20)
- Tendons(21)
- Tissu fœtal(22)

- Cartilage(23)
- Gelée de Wharton du cordon ombilical(24)

Pour faciliter l'étude de ces populations cellulaires, la Société internationale de thérapie cellulaire (ISCT) a proposé en 2006 de regrouper des populations cellulaires de phénotypes proches sous une appellation unique : « cellules stromales mésenchymateuses ». Ainsi, la dénomination « cellules souches mésenchymateuses » pourrait-être abandonnée tout en permettant de conserver l'acronyme CSM.

2. Définition des CSM :

Nous adopterons, donc, la définition de la société internationale de la thérapie cellulaire (ISCT). Cette dernière recommande l'appellation « cellules stromales mésenchymateuses ». Cette dénomination s'applique à toute population de cellules remplissant trois critères :(25)

Tableau V : Critères de définition des CSM par l'ISCT (25).

Adhérence au plastique en conditions de culture standards		
	Marqueur Positif ($\geq 95\%$)	Marqueur Négatif ($\leq 2\%$)
Phénotype membranaire (déterminé par cytométrie en flux)	CD 105	CD45
	CD 73	CD34
	CD 90	CD14 ou CD11b
		CD79 α ou CD19
HLA-DR		
Différenciation in vitro en ostéoblastes, adipocytes et chondroblastes (démontrée par marquages histochimiques)		

2.1. L'adhérence au plastique :

Les CSM adhèrent au plastique lorsqu'elles sont maintenues dans des conditions standards de culture dans des flasques de culture cellulaire. Il est possible de maintenir en vie des CSM et de les cultiver aussi sans adhérences, mais ces protocoles nécessitent des conditions très spécifiques de culture(25).

2.2. L'expression des antigènes spécifique à la surface cellulaire :

Jusqu'à ce jour, il n'existe pas de marqueurs membranaires spécifiques des CSM. La plupart des marqueurs de surface peuvent être retrouvés, séparément, à la surface de cellules différenciées. Mais, de nombreux marqueurs de surface ont été identifiés et permettent de caractériser ces cellules(26).

L'ISCT a établi pour les CSM un phénotype membranaire commun déterminé par cytométrie en flux :

Tableau VI : Marqueurs des CSM par immunomarquage en cytométrie en flux tels que définis par l'ISCT(25).

Marqueurs présents à la surface des CSM ($\geq 95\%$)	Marqueurs absents de la surface de CSM ($\leq 2\%$)
CD90 (Thy-1)	CD45 (marqueur leucocytaire)
CD105 (Endogline)	CD34 (marqueur des progéniteurs hématopoïétiques/cellules endothéliales)
CD73 (ecto-5'-nucléotidase)	CD11b ou CD14 (marqueurs des monocytes/macrophages)
	CD 19 ou CD79 α (marqueurs des lymphocytes B)
	HLA-DR (sauf si elles ont été stimulées par une molécule soluble, comme par exemple l'interféron γ (25))

a. Caractéristiques des marqueurs positifs des CSM :

a.1. CD90 :

Le CD90 ou Thy-1, est une glycoprotéine ancrée au glycosyl-phosphatidyl-inositol. Le CD90 a été détecté pour la première fois dans les cellules T de souris(27) et s'est ensuite révélé être exprimé dans les thymocytes, les neurones, les cellules souches hématopoïétiques, les cellules endothéliales et les fibroblastes(28).

Il a été rapporté que le CD90 présente plusieurs fonctions tel que l'activation des lymphocytes T, la modulation de l'excroissance de la névrite et l'adhésion des astrocytes. De plus, elle participe à la cicatrisation et à la fibrogenèse(29).

Le CD90 est fortement exprimé dans tous les CSM, quelle que soit la source. Il s'agit d'un bon marqueur de l'enrichissement en CFU-F (30).

Malgré de nombreuses études suggérant la participation du CD90 à l'auto-renouvellement et à la différenciation des CSM(31), sa fonction exacte dans la biologie des CSM reste, encore, mal connue.

a.2. CD105 :

Connu sous le nom d'endogline, c'est une glycoprotéine localisée sur la membrane cellulaire et faisant partie du complexe protéique, récepteur accessoire du facteur de croissance transformant bêta (TGF- β). Son expression est régulée positivement dans les cellules endothéliales en prolifération active.

Yoshimura et al. ont montré que les CSM provenant du tissu adipeux expriment le CD105 à de faibles niveaux lorsqu'elles sont fraîchement isolées, mais ils ont montré une augmentation spectaculaire de l'expression de CD105 lors des passages en culture(32).

Selon une analyse comparative des CSM de la moelle osseuse, du cordon ombilical et du tissu adipeux, faite en 2008, il a été montré qu'une expression augmentée de CD105 peut être associée à un potentiel de croissance et de différenciation plus élevé. Le taux des CD105+ était de 88,1% dans les CSM de la moelle osseuse et de 90,4% dans les CSM du tissu adipeux tandis qu'il était de 72,4% dans les CSM du cordon ombilical (33).

En 2013, Anderson et al, ont étudié l'endogline dans les CSM murines (CSMm) et ils ont proposé de redéfinir le phénotype des CSMm en fonction de l'expression de CD105. Dans leurs résultats ils ont constaté que les CSMm CD105+ et CD105- représentaient des sous-populations indépendantes mais lors de la culture l'expression de CD105 sur les CSMm CD105(+) a été affectée par le nombre de passages et la confluence cellulaire tandis que les CSMm CD105(-) sont restées négatives. Cette étude suggère que la culture cellulaire peut affecter l'expression de CD105 dans les CSM(34). En plus, dans cette même étude, il a été constaté que les sous-populations de CSMm CD105(+) et CD105(-) avaient un potentiel de croissance similaire mais

varient dans leur différenciation et leurs propriétés immuno-régulatrices. En effet, les CSM CD105⁻ étaient plus susceptibles à se différencier en adipocytes et en ostéocytes et à supprimer la prolifération des lymphocytes T CD4⁺ plus efficacement que les CSM CD105⁺.

La capacité d'immunomodulation des CSM CD105⁻ a été confirmée dans une autre étude sur les CSM issues du tissu adipeux et du cordon par rapport aux CSM CD105⁺. Il a été suggéré que les effets de la modulation immunitaire des CSM dépendent du niveau de TGF- β 1 produit par les CSM et sécrété dans le milieu de culture(35).

a.3. CD73

C'est la 5'-nucléotidase (5'-NT), également appelée ecto-5'-nucléotidase, une enzyme qui, chez l'homme, est codée par le gène NT5E (36). Le CD73 sert généralement à convertir l'adénosine monophosphate en adénosine.

C'est une protéine membranaire liée au glycosyl-phosphatidyl-inositol, présente à la surface de divers types de cellules (les lymphocytes, les cellules endothéliales, les cellules musculaires lisses, les cellules épithéliales et les fibroblastes). Parmi les récentes études in vivo impliquant le CD73, une a montré que CD73 agit comme un facteur régulateur dans la différenciation ostéo-chondrogénique des CSM stimulées mécaniquement(37).

Une autre étude publiée en 2017 a montré que la régulation à la hausse de CD73 sur les monocytes conditionnés par les CSM a permis d'amplifier les effets immunomodulateurs et cicatrisants durables de l'administration des CSM dans un modèle porcin d'infarctus du myocarde(38).

b. Données de notre étude :

Concernant notre étude, après l'isolement des CSM, les échantillons ont été analysés, par Cytométrie en flux, et les principaux marqueurs qui ont été cherchés sont : CD90, CD105, CD73.

Tableau VII : Nature et fonctions des principaux marqueurs exprimés à la surface des CSM.

Marqueurs à la surface des CSM	Nature	Fonctions
CD90 (Thy-1)	Glycoprotéine	Adhérence et migration (fonction reste toujours mal connue)
CD105 (Endogline)	Glycoprotéine/ Récepteur au TGF- β III (39)	Angiogenèse
CD73 (ecto-5'-nucléotidase)	Protéine : Ecto-5'- nucléotidase/	Hydrolyse de l'AMP Intervient dans la régulation de la différenciation ostéo-chondrocytaire des CSM (37)

Dans notre étude, la majorité des cellules exprimait le CD105 dans 64,36% pour la moelle osseuse et 88,02% pour le tissu adipeux. Les autres marqueurs étaient moins bien exprimés.

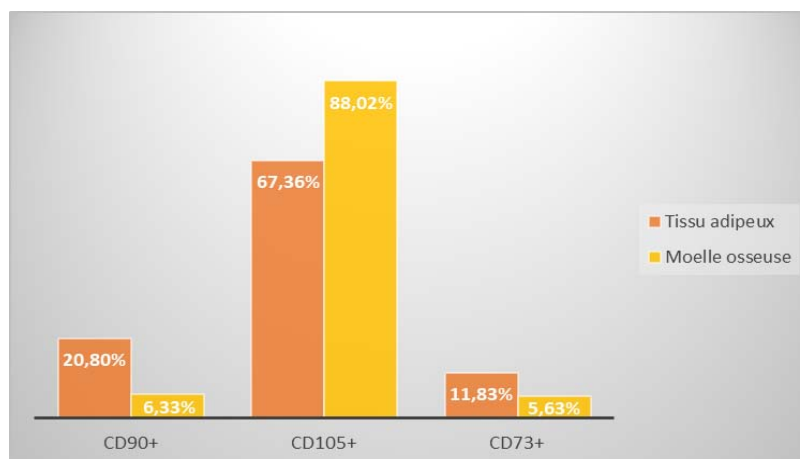


Figure 28 : Comparaison des taux de marqueurs entre la moelle osseuse et le tissu adipeux

2.3. Le potentiel de différenciation cellulaire multipotente :

La capacité de différenciation mésenchymateuse se mesure par la maturation des CSM en trois lignées(25). Ainsi toute CSM doit démontrer sa différenciation en ostéoblastes, en adipocytes et en chondroblastes en utilisant des conditions standards de culture et de différenciation in vitro. Dans notre étude, nous n'avons pas pu amorcer une culture cellulaire et, donc, une différenciation cellulaire pendant la durée de l'étude. Le premier test de culture a été lancé en septembre 2022.

III. Propriétés des CSM :

Les CSM sont considérées comme l'élément actif des thérapies de remplacement réparant des lésions grâce à leur capacité de différenciation. Elles possèdent plusieurs propriétés d'intérêt en pratique clinique :

1. Multipotence et différenciation :

La multipotentialité des CSM se base sur la capacité de se différencier sous certaines conditions en plusieurs tissus mésenchymateux d'origine mésodermique : os, cartilage, muscle lisse, ligament, tendon, tissu adipeux et stromal(7)(40)(41)(42)(43).

Par ailleurs, plusieurs études ont montré une certaine plasticité cellulaire des CSM. Selon l'environnement qui entoure ces cellules in vivo, ces dernières présentent la capacité de se différencier en plusieurs types de cellules. Lorsque les conditions le permettent et avec l'ajout de facteurs spécifiques in vitro, les CSM ont la possibilité de donner naissance à des cellules matures spécialisées provenant des deux autres feuillets embryonnaires : ectodermique(44) et endodermique(45).

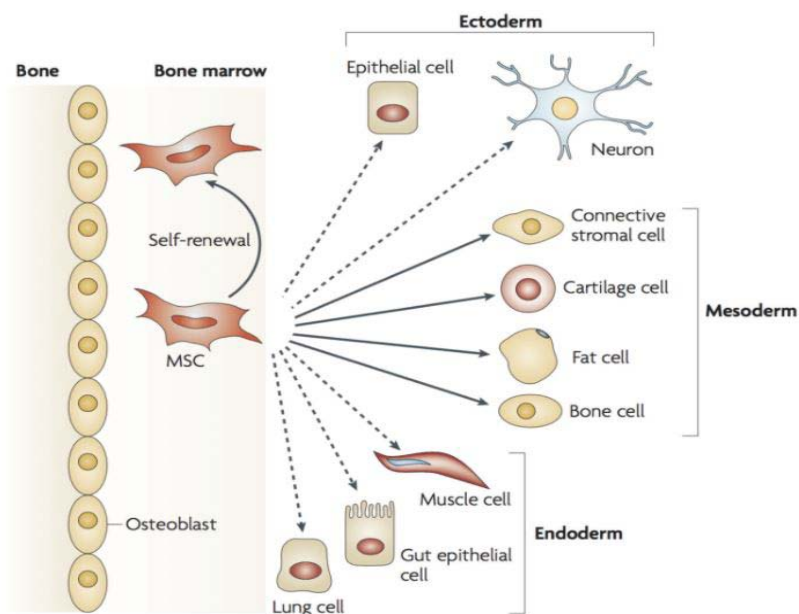


Figure 29 : Plasticité des CSM(46)

2. Migration et influence du microenvironnement :

Les CSM sont en quiescence dans les niches tissulaires où elles résident. Sous l'action de stimuli, elles migrent vers les tissus lésés pour y exercer leurs effets thérapeutiques.

Ces cellules peuvent migrer préférentiellement vers les sites de lésions tissulaires ou inflammatoires pour exercer leur capacité de réparation qui est qualifié de « homing »(47)(48).

Grâce à cette caractéristique, le recrutement des CSM est possible par l'action de différents signaux d'alarme libérés par les tissus endommagés. En effet, les CSM sont sensibles au stress tissulaire et aux modifications du microenvironnement liés à l'inflammation, l'ischémie, l'hypoxie ou l'irradiation(49)(50).

En 2005, Li et al ont montré la capacité à migrer rapidement, des CSM de la moelle osseuse, injectées dans le système sanguin d'un rat, dans les tissus cérébraux lésés à la suite d'une ischémie cérébrale. Cela a eu pour effet une amélioration des fonctions neurologiques(51). Des études ont également montré que celles-ci sont capables de migrer vers des tumeurs, offrant aux thérapies anticancéreuses de nouveaux espoirs : les CSM pourraient servir de vecteur cellulaire pour l'administration des médicaments en chimiothérapie(52)(53).

Le passage et le recrutement des CSM dans la circulation systémique par l'intermédiaire de micro-vaisseaux, la migration vers les tissus cibles, l'adhésion et l'infiltration des CSM dans les tissus dépendent d'un ensemble de molécules essentielles telles que :**CXCR4** (C-X-C chemokine receptor type 4), **SDF-1**(Stromal cell-derived factor 1) et la **bFGF** (basic fibroblast growth factor) (54).

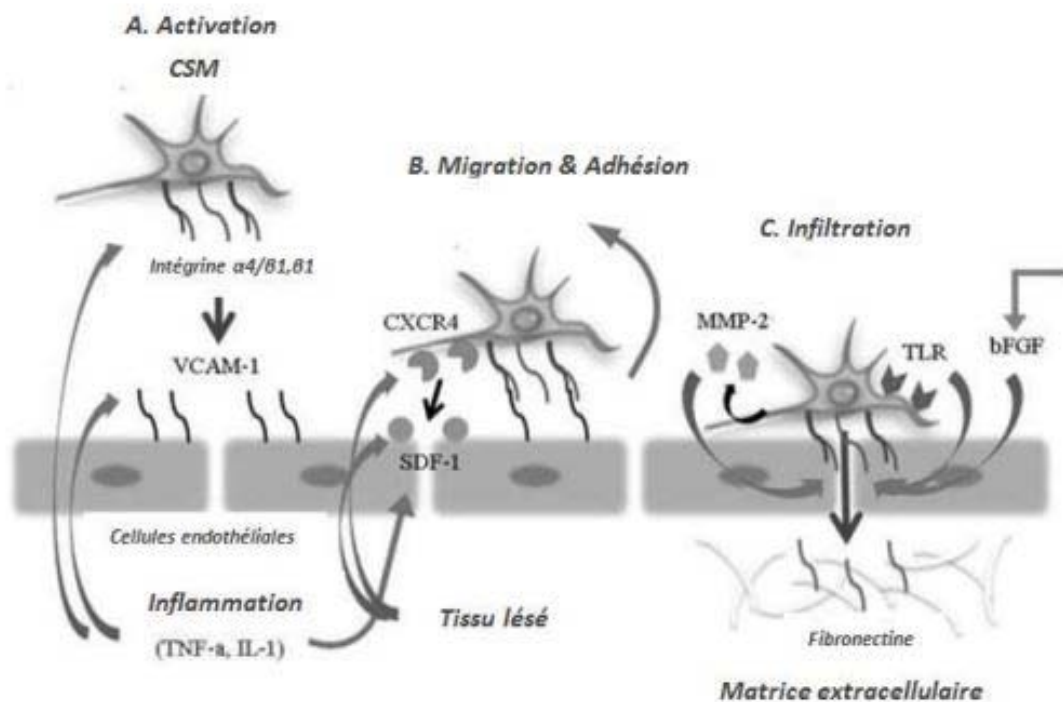


Figure 30 : Mécanisme du « homing » au cours d'une lésion tissulaire :
A : activation avec une cascade d'interactions, **B :** mouvement et l'adhésion des CSM aux micro-vaisseaux, **C :** Passage vers le tissu lésé(54).

3. Effets trophiques :

Parmi les mécanismes utilisés par les CSM dans la réparation des tissus et des cellules lésés, on retrouve la sécrétion de molécules paracrines comme les facteurs de croissance, les cytokines et les hormones. Les récents travaux de thérapie cellulaire utilisant les CSM indiquent que les effets bénéfiques observés après la greffe des cellules sont principalement dus à leur activité paracrine.

Il s'agit, notamment du : VEGF (vascular endothelial growth factor), PDGF (platelet-derived growth factor), ANG1 (angiopoietin-1), IL-11 (interleukin 11), PGE2 (prostaglandin E2), TSG-6 (TNF-stimulated gene-6), SDF-1 (stromal-derived factor-1), HGF (hepatocyte growth factor), IGF-1 (insulin-like growth factor). Elles sécrètent également des facteurs impliqués dans

la migration et la prolifération des monocytes ainsi que dans le recrutement des cellules progénitrices endogènes.

Ces différentes molécules confèrent aux CSM des propriétés intéressantes dans l'homéostasie et la réparation tissulaire. Les principales activités paracrines des CSM induisent les actions suivantes :

3.1. La stimulation de l'angiogenèse :

Les CSM ont un effet direct sur les cellules endothéliales, par le biais des facteurs angiogéniques, en favorisant leur prolifération et leur migration(55). De plus, elles protègent et stabilisent les vaisseaux déjà formés et agissent sur les différentes étapes de l'angiogenèse(56).

La restauration et l'amplification du réseau vasculaire de l'organe permettent un apport plus important d'oxygène au tissu. Ainsi, cette capacité des CSM a des effets bénéfiques dans le traitement des pathologies d'origine ischémiques, comme les ischémies cardiaques(57) et rénales(58). Ainsi, Bura et al ont montré dans leur étude que l'injection intramusculaire autologue de CSM permet d'accélérer la guérison(59)des patients atteints d'ulcères liés à des ischémies.

L'effet pro-angiogénique des CSM semble être, à l'heure actuelle, un des principaux mécanismes responsables des résultats bénéfiques de ces cellules dans la restauration et la régénération de tissus ischémiques.

3.2. La stimulation de la prolifération des cellules souches endogènes et recrutement des cellules progénitrices :

Différentes équipes ont montré que les CSM, les CSM sont capables d'activer la prolifération de cellules souches résidentes au sein de l'organe endommagé après une seule injection(60). Parmi ces études, on peut citer celle de Kim et al qui a montré au niveau cérébral, que les CSM sont capables d'augmenter la prolifération de cellules souches neurales présentes dans le tissu lésé de rats, après congestion cérébrale(61). Par ailleurs, Dong et al ont démontré le rôle des CSM sur la réparation tissulaire cardiaque par recrutement des cellules progénitrices

résidentes grâce à la sécrétion de la chimiokine CXCR4 après infarctus du myocarde(62). Manuguerra et al, quant à lui, a montré que des injections de CSM dans la chambre antérieure de l'œil, pouvait aboutir à une régénération du trabéculum par les cellules souches endogènes présentes(63).

3.3. La diminution de l'apoptose cellulaire :

Les CSM ont un pouvoir anti-apoptotique en évitant la mort des cellules. Elles favorisent, de ce fait, la reconstruction tissulaire(64). Grâce aux nombreux facteurs de croissance sécrétés par les CSM, l'apoptose des cellules résidentes au sein de l'organe atteint est considérablement réduite, notamment par la sécrétion de facteurs de survie comme l'IGF-1, le VEGF et l'HGF(65).

4. Effets immunomodulateurs :

Une des caractéristiques intéressantes des progéniteurs mésenchymateux est leur capacité à pouvoir influencer sur l'inflammation par la régulation de la réaction du système immunitaire. En effet, les CSM possèdent des propriétés immunomodulatrices de la réponse immunitaire innée et adaptative grâce aux interactions directes et indirectes entre les CSM et les cellules immunitaires par l'intermédiaire de nombreux signaux biochimiques comme l'enzyme IDO (indoleamine 2,3-dioxygénase), le facteur TGF- β (Transforming Growth Factor) et la PGE2 (prostaglandine E2) (66)(67).

Grâce à cette propriété, les CSM peuvent jouer un rôle important dans le traitement des désordres immunitaires. Elles peuvent, par la synthèse de molécules biochimiques, moduler la réaction inflammatoire en modifiant le microenvironnement du tissu endommagé et, par conséquent, le protéger(68). Plusieurs études ont rapporté un effet profitable des CSM dans le traitement de la maladie du greffon contre l'hôte(69), ainsi que dans le traitement de maladies auto-immunes comme le syndrome de Gougerot-Sjögren(70), la sclérose en plaque(71), la polyarthrite rhumatoïde(72), le diabète de type 1(73), le lupus érythémateux(74) et la maladie de Crohn(75). Leurs effets immunomodulateurs et surtout leur efficacité en tant que régulateur de la réponse

immunitaire suscite un réel intérêt thérapeutique, le but étant de remplacer les traitements immunosuppresseurs actuels qui présentent de nombreux effets indésirables à long terme.

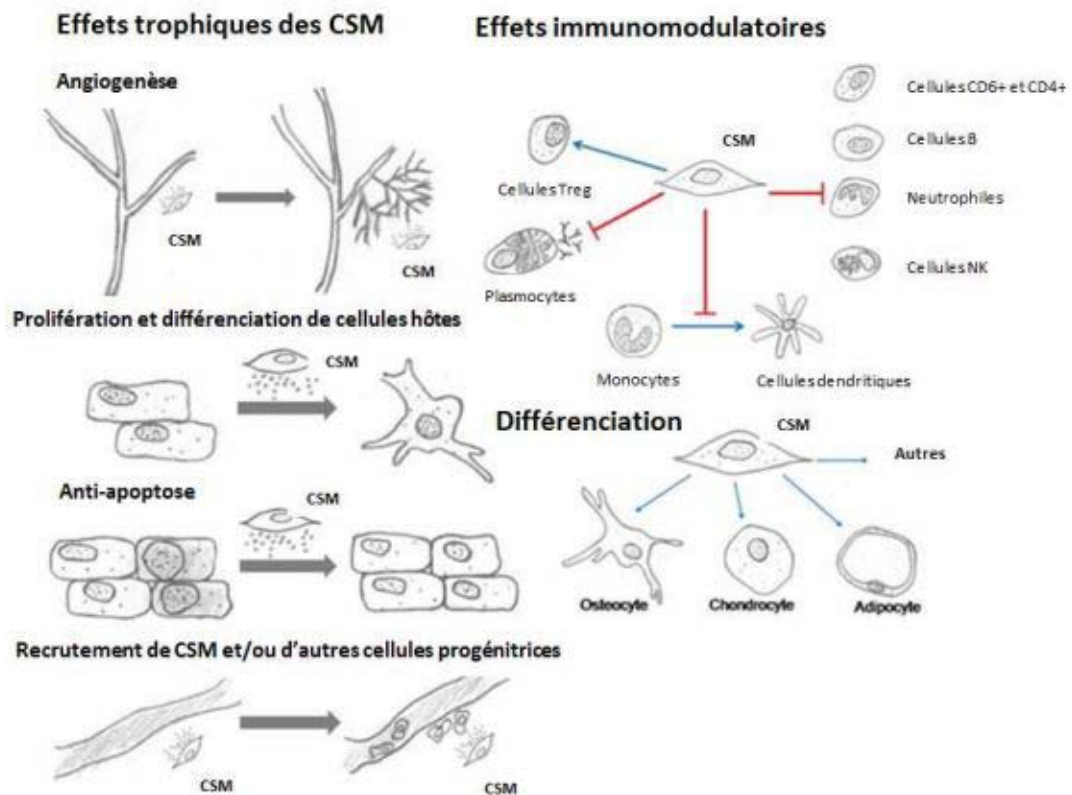


Figure 31 : Principales actions et effets bénéfiques possibles des CSM dans la réparation tissulaire(76)

Dans notre étude, cet effet a été recherché chez les patients atteints de diabète type 1 et la maladie de Crohn.

IV. Modalités d'action des CSM :

La dernière décennie a vu la multiplication des travaux de recherche visant à mieux comprendre les mécanismes de fonctionnement des CSM lors de la réparation des organes et tissus. En effet, une meilleure compréhension de la fonction des CSM est très prometteuse pour l'application de la thérapie cellulaire et également pour le développement de puissantes thérapies dérivées de cellules dans la médecine régénérative.

1. Mécanisme d'action directe par différenciation cellulaire :

L'hypothèse qui a longtemps été validé, porte sur le fait que les CSM agissent lors de l'administration par la migration vers les tissus lésés, en s'y greffant et en se différenciant en cellules fonctionnelles, entraînant une régénération des tissus conjonctifs lésés (77). Le phénomène de différenciation est la capacité la plus étudiée. Les résultats de centaines d'études animales et de nombreux essais humains menés au cours des dernières décennies ont remis en question ce paradigme.

Même si les CSM ont prouvé une efficacité remarquable dans plusieurs pathologies, Il est devenu de plus en plus apparent qu'elles ne se greffent pas en nombres significatifs ou pendant des durées suffisantes au niveau du tissu endommagé (78)(79).

2. Mécanisme d'action par fusion entre CSM et cellule des tissus :

Des études ont montré que la majorité des résultats décrivant la différenciation croisée des lignées germinales des CSM pouvaient être attribuées à des événements de fusion cellulaire(80)(81) .

En 2003, Alvarez-Dolado et al. ont conclu que les CSM possèdent un large potentiel de différenciation qui peut être rapporté à des mécanismes de fusion cellulaire et ils ont montré in vitro que les CSM peuvent fusionner avec des hépatocytes, des neurones du réseau de Purkinje et des cardiomyocytes, entraînant de ce fait la formation de cellules multinucléés(82).

3. Mécanisme d'action par effets paracrines des CSM administrés :

Ce mécanisme d'action, déjà cité dans le chapitre « propriétés des CSM : Effets trophiques », a été l'objet de plusieurs études indiquant que les CSM sont de véritables réservoirs à cytokine, chimiokines et facteurs de croissance. Ces études ont conclu que la majorité des effets bénéfiques observés après la greffe de CSM dans les tissus lésés est due à leur importante activité paracrine (83) .

4. Mécanisme d'action par transfert de mitochondries par tunnelisation de nanotubes :

Rustom et al. ont d'abord décrit les nanotubes(TNT) comme un réseau de transport intercellulaire communicant formé dans des cultures de cellules humaines et murines(84). La première preuve que le transfert de mitochondries pourrait être dirigé vers les cellules cibles lésées provient d'une étude faite en 2006, sur des CSM humaines co-cultivées avec une lignée cellulaire épithéliale pulmonaire unique dépourvue de mitochondries fonctionnelles (85).

Par la suite, plusieurs études récentes ont fourni des preuves convaincantes que les CSM administrées peuvent transférer des mitochondries à travers les TNT in vivo.

Islam et al. ont démontré que le transfert de mitochondries à partir de CSM humaines, instillées dans les voies respiratoires, a permis de régénérer des cellules pulmonaires lésées. Dans cette étude, le transfert de vésicules contenant des mitochondries marquées des CSM vers les cellules épithéliales alvéolaires a été documenté. Ceci a eu pour effet d'augmenter les niveaux d'adénosine-triphosphate (ATP) alvéolaire et la survie des cellules(86).

5. Mécanisme d'action par libération d'exosomes :

Les exosomes ont été identifiés et isolés pour la première fois à partir de cultures de cellules normales et transformées au cours des années 1980(87). Elles sont retrouvées dans tous les cellules de l'organisme. Cependant, il a été démontré que les CSM pouvaient produire une plus grande quantité d'exosomes(88). Ces exosomes pourraient restaurer la fonction normale des tissus lésés, rapidement, en fournissant les enzymes actives pour promouvoir l'homéostasie tissulaire.

En 2010, les exosomes dérivés des CSM ont été pour la première fois étudiés chez les souris dans un modèle d'ischémie/reperfusion (I/R) myocardique(89) : Pour restaurer la fonction des tissus lésés, le nombre de cellules doit être augmenté pour remplacer les cellules mortes. Ces dernières avaient libéré leur ATP et ADP dans l'espace extracellulaire et qui était dégradés

rapidement en AMP (Adénosine monophosphate). Le CD73 présent sur les exosomes des CSM, est capable d'hydrolyser l'AMP extracellulaires en adénosine qui pouvait, ensuite, activer ERK1 /2 (extracellular signal-regulated kinase) et AKT (protéine kinase B) qui sont impliquées dans la voie de signalisation de la survie et de la prolifération cellulaire.

Les exosomes pourraient être impliqués non seulement dans la réparation tissulaire mais, aussi, dans l'immunomodulation par le transfert de protéines/peptides, d'ARN et d'hormones.

En 2013 Budoni(90) et ses collègues ont démontré que les exosomes isolés des CSM de la moelle osseuse humaine pouvaient inhiber la prolifération et la différenciation des lymphocytes B dans un système de co-culture de cellules mononuclées du sang périphérique et pouvaient, aussi, inhiber la production des anticorps IgM, IgG et IgA.

En 2014 selon Kordelas, un traitement avec les exosomes des CSM a été récemment rapporté avoir été efficace chez un patient avec GVHD résistant aux stéroïdes(91) et durant la même année, Cheau et al. ont montré qu'un traitement avec les exosomes des CSM dans des modèles de lésions hépatiques induites par des médicaments, avait augmenté le nombre de cellules proliférantes cellulaires positives à l'antigène nucléaire tout en réduisant le nombre d'hépatocytes subissant une mort cellulaire apoptotique(92).

Ces 10 dernières années, de nombreux chercheurs et cliniciens s'intéressent au potentiel des exosomes dérivées de CSM pour la réparation des tissus blessés et pour le traitement du cancer(93) (94).

Cependant, des travaux supplémentaires à la fois in vitro et in vivo sont nécessaires afin de mieux comprendre la puissance et les mécanismes d'action de cet outil avec un potentiel rôle immunosuppresseur.

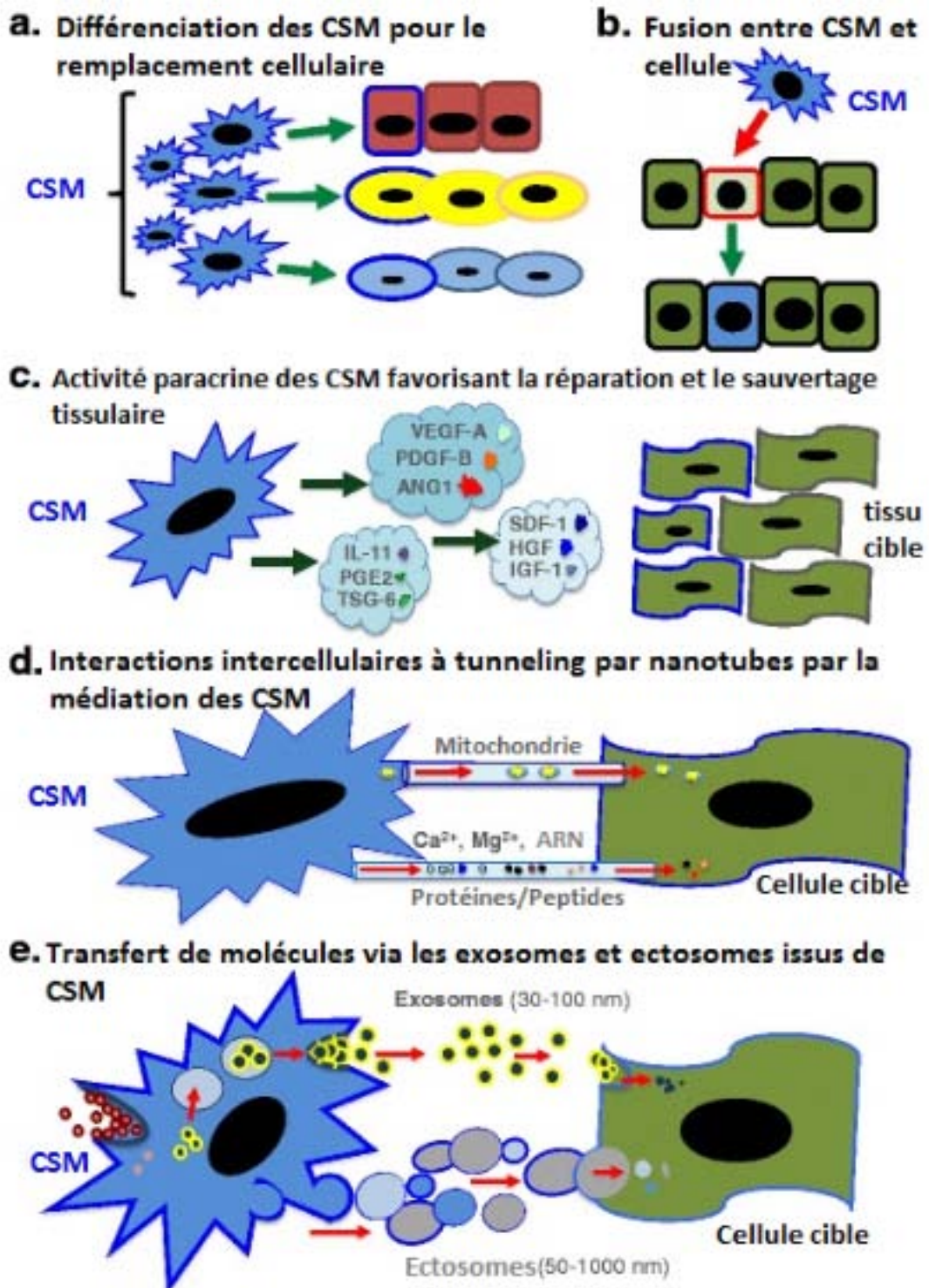


Figure 32 : Mécanismes de réparation de CSM(77).

En ce qui concerne les modalités d'action de la fonction des CSM, la clarification des rôles que chaque mécanisme joue, lors du sauvetage et de la réparation des tissus endommagés après l'administration des CSM, peut servir à améliorer la sécurité, l'efficacité et la prévisibilité du traitement pour les patients(77).

V. Origine tissulaire et sources des CSM :

Les sources de CSM sont nombreuses. Elles sont présentes dans de nombreux tissus de l'organisme adulte, à la fois Adultes et fœtaux(95).

La moelle osseuse a longtemps été considérée comme la source la plus sûre et la plus accessible malgré le caractère invasif de la ponction osseuse. D'autres tissus plus accessibles sont de plus en plus étudiés et utilisés, tels que le tissu adipeux et le cordon ombilicale. Ils pourraient constituer une alternative à la moelle osseuse. Cependant, les populations de CSM n'ont pas toutes les mêmes marqueurs antigéniques de surface(96). Ces différences d'expression antigéniques sont liés à la méthode d'isolement et aux conditions de culture rendant les comparaisons entre laboratoires et études complexes (97).

De même, malgré leurs caractéristiques communes, les CSM peuvent présenter des différences dans leur capacité d'auto-renouvellement et de différenciation en fonction de leur environnement(7). Il est donc important de déterminer la source de CSM la plus appropriée en fonction de l'application clinique recherchée.

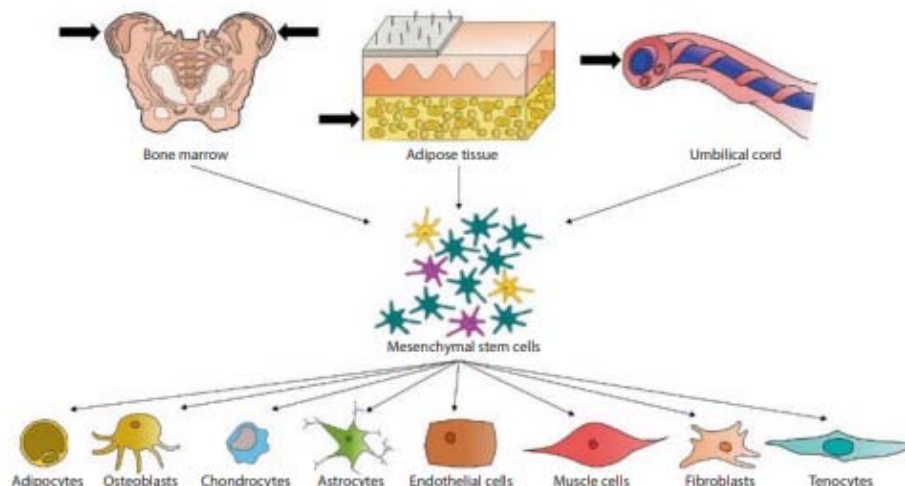


Figure 33 : Principales sources et lignées de différenciation des CSM(98).

1. La moelle osseuse :

Les cellules souches hématopoïétiques ont été les cellules les plus étudiées, les mieux identifiées et utilisés cliniquement dès les années soixante du siècle dernier. Ensuite, les chercheurs ont pu mettre en évidence de nouvelles cellules souches : des cellules souches non hématopoïétiques de la moelle osseuse. Le stroma de la moelle osseuse est une structure complexe richement vascularisée contenant une matrice extracellulaire support de l'hématopoïèse(99). Elle constitue, de par son microenvironnement, l'une des principales niches des CSM de l'organisme (7).

Les CSM de la moelle osseuse possèdent les propriétés recherchées en thérapie cellulaire comme la capacité à se différencier en un certain nombre de cellules spécialisées(100). Mais la technique de prélèvement est, relativement, invasive et permet de récupérer, souvent, peu de CSM(101). La quantité de CSM est, parfois, non suffisante rendant l'expansion cellulaire nécessaire. Au cours de cette étape d'amplification, les cellules perdent progressivement leur potentiel de division et de différenciation.

D'autres tissus ont été étudiés comme sources permettant d'isoler des CSM ayant des caractéristiques biologiques similaires. Le tissu adipeux et le cordon ombilical sont les sources alternatives les plus intéressantes.

2. Le tissu adipeux :

Le tissu adipeux est une source intéressante, obtenue sous forme d'un tissu semi-solide lors de plasties abdominales ou plus fluide après lipo-aspiration.

Son utilisation passe par la séparation des cellules de la matrice extracellulaire par l'utilisation de protéases et une dissociation mécanique, avant mise en culture. Mais malgré ce désavantage technique, il s'agit d'un tissu abondant, facile d'accès et n'entraînant aucun risque supplémentaire pour le donneur. Il s'agit d'une source de plus en plus étudiée du fait de la simplicité du prélèvement et de la quantité importante de cellules obtenues(102). Les CSM

retrouvées dans le tissu adipeux présentent une capacité de prolifération élevée lors de l'expansion in vitro avec une capacité de différenciation multiple(103)(104).

Leurs capacités de prolifération seraient plus importantes que celles issues de la moelle osseuse tout en conservant les propriétés des cellules souches(33).

Des études ont montré que l'avancement en âge pourrait réduire de manière significative le potentiel ostéogénique des CSM adipeuses(105). Madonna et al. ont comparé les CSM adipeuses entre des sujets jeunes (40–54 ans) et sujets âgés (66–92 ans) et ont rapporté des diminutions significatives du rendement des CSM et de la capacité angiogénique avec l'augmentation de l'âge(106).

Dans notre étude, le pourcentage des CSM dérivées du tissu adipeux a été plus élevé dans la catégorie inférieure à 50 ans par rapport à celle plus de 50 ans avec 18,9% et 8,94% respectivement.

3. Le cordon ombilical :

Le cordon ombilical contient des cellules souches mésenchymateuses, essentiellement, au niveau de la gelée de Wharton.

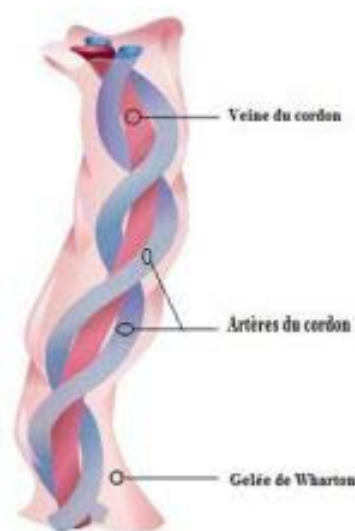


Figure 34 : Schéma d'un cordon ombilical humain(107)

Le cordon ombilical possède des CSM ayant des capacités de prolifération et de différenciation très importantes, supérieures à celles de la moelle osseuse(33). De plus, le mode de prélèvement est non invasif rendant cette source très prisée(108)(109). Mais, pour des raisons techniques (problème de stérilité et nécessité de banques de cellules souches), juridique (le placenta est considéré comme un déchet opératoire) et éthiques (obtention du consentement de la parturiente), leur prélèvement est limité et leur utilisation est, actuellement, encore restreinte.

4. Comparatif entre les principales sources des CSM :

Dans le cadre d'une étude faite récemment en 2020, basée sur Les progrès de la thérapie cellulaire dans l'athérosclérose, Ying et al. ont montré que les CSM dérivées de différentes sources présentaient des caractéristiques distinctes dans leur taux de réussite de l'isolement, la fréquence de formation de colonies, la période de maintenance en culture cellulaire, la prolifération et la capacité de différenciation multiple. Ils ont réalisé une analyse comparative des CSM de la moelle osseuse, du cordon ombilical et du tissu adipeux(110).

Tableau VIII : Analyse comparative des CSM de la moelle osseuse, du cordon ombilical et du tissu adipeux(110).

Caractéristiques	BM-MSc	AT-MSc	UC-MSc
Taux de réussite de l'isolement	Elevé	Elevé	Faible
Fréquence des colonies	Moyenne	La plus élevée	La plus faible
Période de culture	La plus courte	Moyenne	La plus longue
Capacité de prolifération	La plus faible	Moyenne	La plus élevée
Capacité de différenciation multiple	Différenciation des trois lignées	Différenciation des trois lignées	Pas de différenciation adipogénique
Aucune différence de la morphologie et du phénotype			

MSC (Mesenchymal stem cells), BM (Bone marrow) AT (Adipose tissue) UC (umbilical cord)

Mais, ces cellules sont rares, par exemple la fréquence moyenne des CSM est de 0,001 à 0,01 % dans la moelle osseuse (7), 1 à 10% pour le tissu adipeux d'un sujet jeune (7), alors que certaines sources sont limitées dans le temps comme les dérivées placentaires.

De plus, la méthode d'isolement des cellules peut encore réduire la quantité de matériel biologique obtenu par exemple : 40 à 80% des extractions de CSM à partir du sang de cordon ombilical échouent (111).

5. Autres sources de CSM :

Les CSM ont pu être identifiées et isolées à partir d'autres tissus et organes. Il s'agit, notamment du :

- Cartilage(23)
- Périoste (112)et de l'os trabéculaire(113)
- Système vasculaire(114)(115)
- Membrane synoviale (20)et le liquide synovial(116)
- Muscles cardiaque et squelettique(19)
- Tendons(21)
- Prélèvement splénique(117)
- Pancréas(22)
- Poumon(118)
- Placenta(119)

Toutefois, le nombre de CSM isolé de ces sources ne permet pas de prétendre à une utilisation clinique directe, rendant le passage par la culture cellulaire obligatoire.

VI. Procédés d'isolement et d'amplification des CSM

1. Généralités :

L'utilisation des CSM en médecine régénérative suit schématiquement trois étapes : le prélèvement, l'isolement des CSM, avec leur mise en culture ou expansion enfin, leur

administration. L'étape de culture ou expansion est, certes, obligatoire dans la définition mais est encore non toujours utilisée systématiquement.

Les procédés d'amplification des CSM doivent tenir compte, à la fois des caractéristiques intrinsèques des cellules et des critères requis pour le développement de thérapies cellulaires (quantité, qualité, sécurité sanitaire, coût). Ils doivent donc répondre à des exigences spécifiques :

- ✓ Les CSM sont des cellules adhérentes. Leur procédure de récolte en fin de procédé doit être non destructive.
- ✓ Les CSM ont une croissance lente et limitée. Toute la chaîne de procédés du donneur au receveur doit être intensifiés pour atteindre les doses requises à un coût raisonnable.
- ✓ Le procédé d'amplification cellulaire ne doit pas remettre en cause les caractéristiques biologiques des cellules au cours du temps.

2. La préparation des cellules souches mésenchymateuses :

Les protocoles utilisés varient considérablement selon le tissu de prélèvement, l'indication thérapeutique et les préférences des équipes.

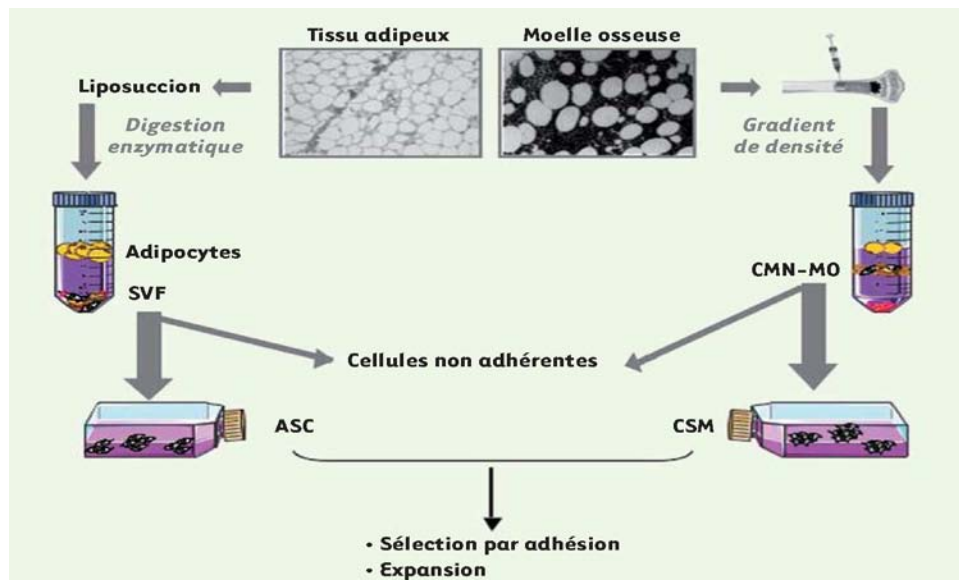


Figure 35 : Méthodes d'obtention des CSM isolées de la moelle osseuse et du tissu adipeux(120).

2.1. Techniques d'isolement :

a. A partir de la moelle osseuse :

Tout d'abord, le prélèvement à partir de la MO se fait selon une procédure standard établie pour l'obtention de greffons de cellules souches hématopoïétiques. La moelle est aspirée au niveau de la crête iliaque postérieure du patient à l'aide d'une aiguille de Jamshidi vers une seringue héparinée(121). Puis, la moelle prélevée est préparée au laboratoire.

Le matériel aspiré est placé dans un dispositif contenant un filtre afin d'éliminer, les débris osseux du prélèvement avant de séparer le prélèvement en 3 fractions principales : les globules rouges, le buffycoat ou le culot contenant les cellules dont les CSM et le plasma. Les CSM sont récupérés avec le culot cellulaire et une partie du plasma (1/3) pour harmoniser le prélèvement.

Concernant notre étude, l'isolement des CSM a été réalisé au laboratoire par gradient de densité via centrifugation avant réinjection. Nous n'avons pas procédé à une étape de culture cellulaire.



Figure 36 : Procédures d'extraction de CSM par centrifugation par un kit à circuit fermé (122) (kit utilisé dans notre travail).

Les procédures usuelles de collecte de CSM, en pratique clinique, obtiennent l'isolement des CSM grâce à leurs propriétés d'adhésion au plastique, même si ce procédé conduit à l'obtention d'une population hétérogène de cellules et que les CSM de la moelle osseuse sont 10

fois moins abondantes que les CSH, mais possèdent un pouvoir d'amplification rapide en culture. Selon, Chamberlain et al. même si les cellules hématopoïétiques adhèrent également à la plaque de plastique, elles disparaissent au cours du temps, ne laissant que des cellules adhérentes fibroblast like(123).

Malgré leur efficacité prouvée, les considérant encore aujourd'hui comme « le gold standard », les CSM d'origine médullaire présentent plusieurs inconvénients. Outre la procédure invasive et la collecte douloureuse, Il a été rapporté selon Stolzing et al que l'âge du donneur et la qualité de l'échantillon aspiré pourraient avoir un impact sur la fréquence d'isolement des CSM (124) qui est déjà considéré très basse (environ 0,001 à 0,01%) (125). Ainsi, pour atteindre des concentrations et des quantités suffisantes, une grande quantité de moelle osseuse doit être aspirée, ce qui contribue à la morbidité du site donneur. Cette faible fréquence implique qu'une expansion importante in vitro de ces cellules sera nécessaire pour administrer des doses cliniques à un patient, ce qui diminue leur capacité de prolifération et le potentiel de différenciation avec l'âge (126).

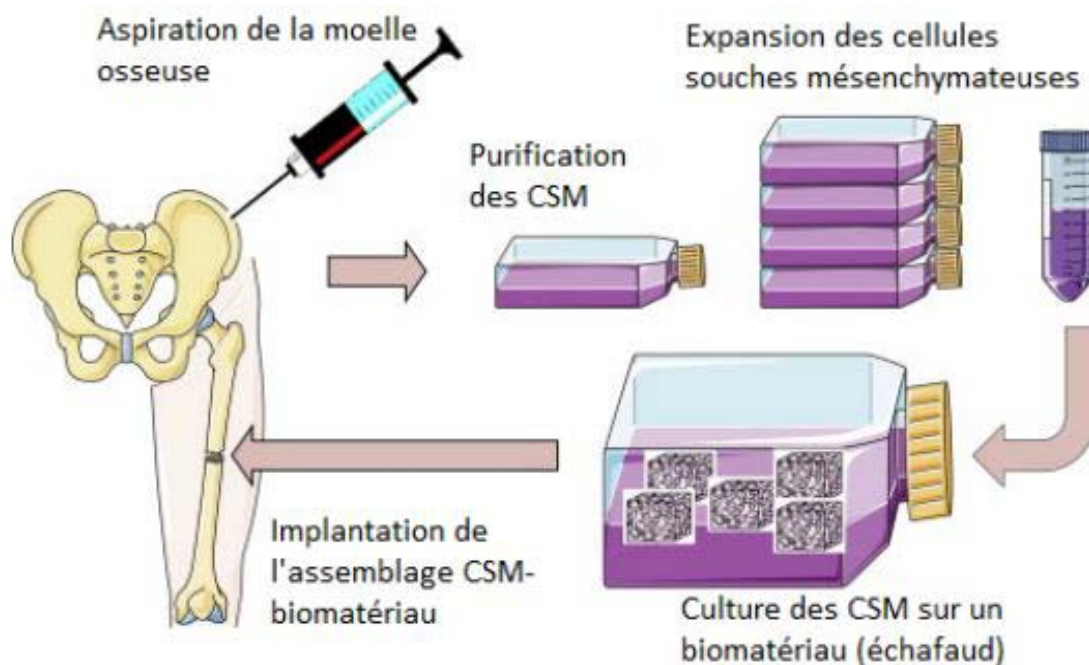


Figure 37: Schéma de prélèvement, culture et implantation des CSM dérivées de la MO(127)

b. A partir du tissu adipeux :

Le tissu adipeux est obtenu sous forme de tissu semi-solide lors de plasties abdominales ou plus fluide après lipo-aspiration.

Les techniques de liposuction peuvent récupérer des volumes allant de quelques millilitres jusqu'à plusieurs litres de tissu. Un minimum de 60 ml est exigé pour avoir un nombre de CSM acceptable.

Plusieurs méthodes de purification des CSM du tissu adipeux sont possibles : le lavage, la décantation, la centrifugation et la digestion.

Parmi ces méthodes de purification du tissu adipeux récolté, une étude faite par Rose et al. a montré que la décantation était la seule méthode permettant de maintenir l'intégrité et le nombre des cellules, tandis que le lavage réduit significativement le nombre de cellules nucléées intactes et la centrifugation en a détruit une grande majorité(128).

Une autre étude faite chez 20 patientes adultes en bonne santé chez qui le matériel obtenu par liposuction de l'abdomen inférieur a été séparé et traité par 3 techniques (décantation, lavage ou centrifugation) pour comparer les effets des 3 techniques sur la viabilité et le nombre de composants cellulaires aspiré et déterminer une méthode permettant d'obtenir des concentrations plus élevées d'adipocytes et de CSM viables ; a démontré que la décantation était la méthode de traitement des graisses la moins agressive en préservant l'intégrité et le nombre de cellules . Toutefois, cette technique générait un produit plus hétérogène présentant une grande quantité de cellules sanguines avec moins de CSM par rapport au culot recueilli au fond des échantillons centrifugés. Cette dernière méthode présentait la plus forte concentration de CSM(129).

Concernant notre étude, l'isolement des CSM a été réalisé après décantation, lavage, digestion enzymatique par collagénase type I et II et enfin centrifugation, en se basant sur une méthode standardisée et sûre d'isolement de CSM adipeuses décrite en 2016 par Raposio et al. (130). Cette technique permet de générer des CSM en moins de 2 heures prête à l'emploi.

Dans la même étude, il a été comparé deux méthodes de séparation du tissu adipeux : la digestion enzymatique avec la séparation mécanique. Selon cette étude, les deux méthodes ont montré un pourcentage de 99% de cellules vitales. Toutefois, avec la méthode enzymatique, une moyenne de $9,06 \times 10^5$ CSM a été collectée à partir de 100 ml de lipoaspirat, ce qui correspond à 25,9 % du nombre total de cellules prélevées ; Tandis qu'avec la méthode mécanique, une moyenne de 5×10^5 CSM a été collectée à partir de 80 ml de lipoaspirat, ce qui correspond à 5 % du nombre total de cellules prélevées. Ce qui a conclu qu'à partir de la même quantité de graisse prélevée, la procédure enzymatique s'est avérée plus efficace et a permis d'isoler un plus grand nombre de CSM.

Dans notre étude, on a opté pour la digestion enzymatique et cette technique a permis d'isoler les CSM avec un pourcentage de 17,75% du nombre total de cellules prélevées.

Ces différentes méthodes permettant d'isoler une fraction riche en CSM appelée la fraction stromale vasculaire ou SVF. Pour autant le produit n'est pas pur. Il contient d'autres cellules que les CSM. Comme pour les CSM d'origine médullaire, la purification des CSM passe, obligatoirement, par la culture cellulaire.

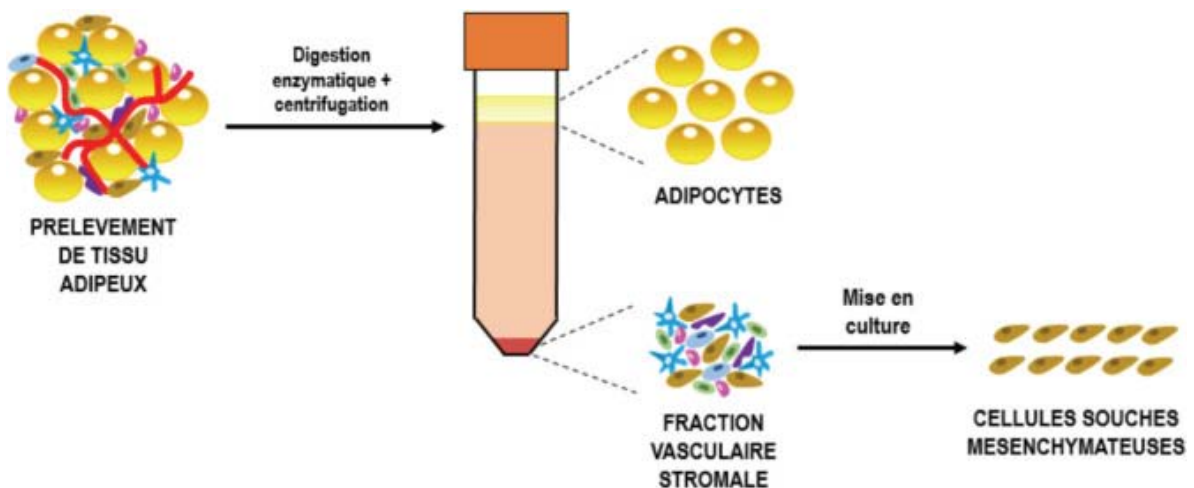


Figure 38 : Schéma d'isolement des CSM dérivées du tissu adipeux(131).

c. A partir du cordon ombilical :

Le cordon ombilical contient essentiellement des cellules souches mésenchymateuses. On les trouve surtout dans la gelée de Wharton. Le recueil des cordons ombilicaux est réalisé dans la salle d'accouchement, après avoir obtenu le consentement des mères. Les cordons ombilicaux prélevés sont placés rapidement dans une boîte stérile et stockée à 4°C jusqu'à utilisation idéalement dans les 24h.

Actuellement, il n'existe pas de procédure d'exploitation standard pour l'isolement de ces cellules. Diverses méthodes ont été utilisées et décrites pour isoler les CSM du tissu du cordon ombilical. En général, la procédure d'isolement commence par l'élimination des vaisseaux sanguins ombilicaux. Le cordon est alors réduit à de plus petits segments ou coupés en petits morceaux et traités par une méthode enzymatique ou mécanique.

La méthode enzymatique consiste à utiliser une enzyme (collagénase) pour extraire rapidement avec un rendement élevé des CSM du cordon ombilical. La plupart des études utilise la collagénase seule ou en association avec différentes protéases afin d'accélérer la dégradation des protéines de la matrice extracellulaire. Salehinejad et al. a utilisé la collagénase type B seule, sans l'ajout d'autres protéases. Leur méthode consiste à laisser ces cellules incubées pendant 3 à 4 heures. Le rendement obtenu était de $2,6 \times 10^4$ cellules mononuclées par centimètre de cordon (132). D'autres équipes ayant utilisées un panel de protéases, surtout l'hyaluronidase et la trypsine. Ils ont pu parvenir à extraire un nombre plus élevé de cellules mononuclées. Le rendement des cellules étaient de l'ordre de $0,95$ à 1×10^6 cellules mononuclées par centimètre de cordon (133).

La méthode mécanique permet d'obtenir les cellules souches mésenchymateuses de la gelée de Wharton sans digestion enzymatique. Elle est basée sur la spontanéité et la migration physique de ces cellules de leur matrice ombilicale(134).

Selon l'étude de Salehinejad et al. le type de méthode d'isolement utilisé (mécanique ou enzymatique) peut affecter le nombre de cellules extraites et la capacité de prolifération. Ainsi, avec la digestion enzymatique, la densité cellulaire obtenue est, certes, plus élevée par rapport à

la méthode mécanique ;par contre, cette dernière permet d'avoir un taux de prolifération plus rapide et une meilleure viabilité due à l'activité lytique et à la sensibilité des cellules à la collagénase (132).

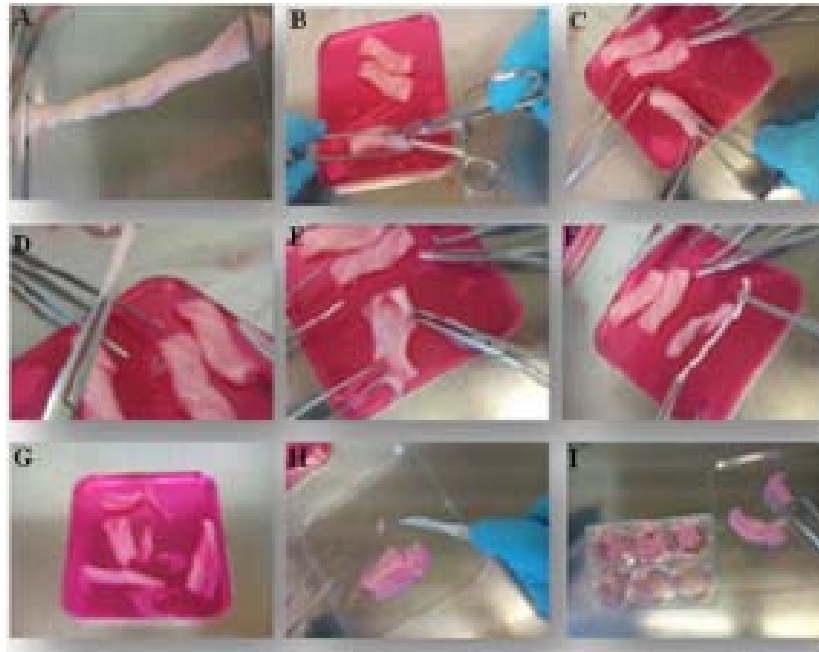


Figure 39 : Isolement de la gelée de Wharton à partir du cordon ombilical humain(135).

2.2. Procédés d'expansion par culture cellulaire des CSM :

a. Systèmes de culture de cellules adhérentes :

Les CSM sont des cellules adhérentes, comme la plupart des cellules primaires. En effet, afin de préserver leurs caractéristiques, elles requièrent des points d'accrochage semblables à ceux qui sont trouvés dans leur micro-environnement naturel, le mésenchyme.

En 2012, Park et al. ont étudié la thérapie par CSM pour des lésions de la moelle épinière chez 10 patients utilisant des CSM autologues, prélevées, cultivées et injectées directement dans la moelle épinière. Une seconde injection a été faite quelques semaines plus tard, le résultat était bénéfique et la fonction motrice des membres supérieurs était améliorée, de plus, après un suivi de 6 mois, aucun des patients n'a présenté de complication majeure(138).

Une étude incluant 49 patients, prospective et randomisée, a montré l'efficacité et l'innocuité des CSM adipeuses expansées dans le traitement des fistules périanales complexes de la maladie de crohn(139).

Al-Najar et al. ont décrit, en 2017, une série de 13 patients atteints de gonarthrose traités par deux injections intra-articulaires de CSM autologues expansées dérivées de la MO. Ils ont rapporté à 2 ans de l'injection, une amélioration significative du score KOOS (Knee injury and osteoarthritis outcome score) de ces patients et aucun effet indésirable n'a été rapporté(140).

Concernant les dispositifs de culture cellulaire, plusieurs systèmes sont décrits :

a.1. Système de cultures planaires :

Les systèmes de cultures classiques des CSM utilisent des surfaces planes traitées pour l'adhérence. Ces traitements consistent à optimiser la chimie des matériaux utilisés pour favoriser les phases d'adhérence et d'étalement des cellules en vue d'obtenir une meilleure prolifération.

Les systèmes planaires n'autorisent qu'une amplification limitée des cellules, car au-delà d'une certaine concentration, les CSM s'orientent vers une voie de différenciation (141), ou vers une apoptose induite par les inhibitions de contact entre cellules (142). L'aire de la surface d'adhérence et la densité d'ensemencement doivent donc être prises en compte avec soin pour limiter le nombre de transfert des cellules sur une nouvelle surface après décrochage et dilution. En effet, les traitements enzymatiques (ex : trypsine) ou mécaniques peuvent déclencher un arrêt temporaire de la croissance et diminuer les capacités thérapeutiques des CSM (143).

De plus, chaque passage expose la culture à des risques importants de contaminations. C'est pourquoi divers systèmes de culture tridimensionnels ont été proposés pour optimiser le rendement cellulaire des CSM, limiter le nombre de passages, limiter le nombre d'étapes de montée en échelle et faciliter les procédures de récolte.

Dans notre Centre, on utilise, actuellement, les systèmes de cultures classiques qui adoptent des surfaces planes en phase de test. Le but est de valider et adopter, rapidement, cette technique.

a.2. Systèmes de cultures tridimensionnels :

Les systèmes de cultures tridimensionnels utilisés pour la culture de CSM sont au nombre de cinq avec, par ordre d'importance dans la littérature : la culture sur microporteurs, au sein d'une matrice, en agrégats cellulaires, avec cellules encapsulées ou au sein d'hydrogel.

❖ Les microporteurs :

Les microporteurs sont de petites particules, de 100 à 500 μm , en majorité sphérique, utilisées pour la culture de cellules adhérentes au sein de bioréacteurs à cuves agitées, développés initialement pour la production de biomolécules. Ils n'ont cependant pas été conçus dans l'optique de récolter efficacement les cellules sans les endommager (144). En effet, ils engendrent des contraintes hydrodynamiques différentes de celles d'une culture statique, ce qui va avoir un impact sur les cellules (ex : cisaillement, chocs entre microporteurs...)(145)(146).

Pour leur application en culture de CSM, de nouvelles formes de microporteurs ont été proposées, notamment à base de polymères dont l'état physique varie en fonction de la température(147). En ingénierie tissulaire, l'utilisation de cellules accrochées sur microporteurs est aussi envisagée, grâce à des microporteurs biodégradables(148).

❖ Les matrices :

Les matrices sont utilisées en ingénierie tissulaire, et prennent le parti de recréer un environnement tridimensionnel complexe favorisant les contacts cellules-cellules grâce à la construction d'un réseau poreux ou fibreux. Les matériaux utilisés pour créer ces réseaux matriciels peuvent être de la matrice extra-cellulaire (MEC) naturelle, des dérivés de MEC (149) ou des biomatériaux synthétiques.

❖ Les agrégats :

Les agrégats aussi appelés sphéroïdes, sont des amas cellulaires générés par une population très concentrée de CSM.

La mise en œuvre d'une culture d'agrégats est un procédé dynamique en trois étapes : contacts cellule-cellule initiaux, synthèse de MEC et réorganisation des agrégats.

Il a été démontré que la culture de CSM en agrégats était plus favorable au maintien de leur viabilité et de leur potentiel thérapeutique. Comparées aux mêmes cellules cultivées sur des surfaces planes, les CSM en agrégats sécrètent plus de facteurs anti-nécrotiques (150) et anti-inflammatoires (151), et augmentent leur potentiel de différenciation(152).

Cette méthode est en voie d'étude et de développement car son avantage majeur réside dans la facilité de récolte des cellules par simple filtration du milieu de culture.

❖ L'encapsulation et la culture en hydrogel :

L'encapsulation et la culture en hydrogel sont des méthodes de culture adhérente intermédiaire entre les cultures sur microporteurs, sur matrice et en agrégats. Les cellules sont enfermées dans des billes sphériques ou des blocs de gel constitués d'un matériel biocompatible. Elles sont donc cultivées en suspension ou en perfusion.

b. Intensification des procédés d'amplification des CSM :

Le développement d'une thérapie cellulaire basée sur les CSM nécessite l'intensification des procédés de culture afin de produire les doses de CSM requises en clinique. Cette intensification du procédé de culture (appelée aussi exapansion) pourra être effectuée, soit en parallélisant des systèmes de culture individualisés (maximum 10 L), soit en effectuant une montée en échelle importante en bioréacteurs instrumentés et contrôlés (maximum 2500 L)(153).

La configuration du support d'adhérence déterminera, soit, un mode opératoire où le milieu reste statique, ce qui nécessite plus d'opérations manuelles, soit, un mode opératoire dynamique sous agitation mécanique ou hydraulique, permettant le suivi en ligne ainsi que certains contrôles (taux d'oxygénation, pH, température) et des échanges de liquides. Les bioréacteurs qui pourraient permettre d'atteindre les ordres de grandeur nécessaires à la production de CSM à usage thérapeutique et les principaux types utilisés sont :

b.1. Les bioréacteurs multicouches :

Il s'agit de la plus simple méthode de montée en échelle pour des cellules adhérentes cultivées sur boîtes. Ils sont composés de plusieurs surfaces planes superposées.

Les inconvénients majeurs de ces systèmes sont leur coût, notamment au moment de la récolte, le risque important de contamination lors des renouvellements du milieu et le contrôle insuffisant des paramètres de culture.

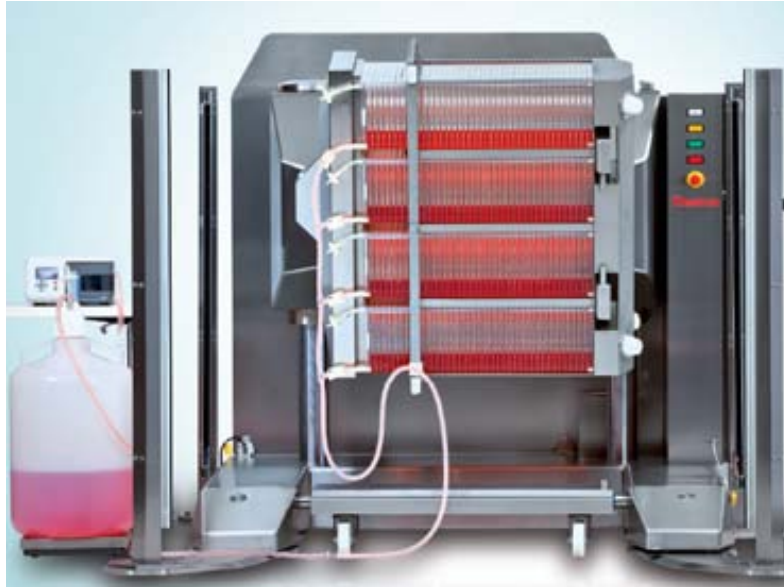


Figure 40 : Exemple d'un bioréacteur multicouche(154).

b.2. Les bioréacteurs à cuve agitée :

Ce sont les systèmes les plus utilisés en culture de cellules microbiennes et animales. L'avantage majeur des bioréacteurs à cuve agitée est leur flexibilité vis-à-vis de leur montée en échelle grâce aux connaissances accumulées sur leur mise en œuvre depuis le milieu des années 50. Leur mode d'opération peut se faire en mode non alimenté, alimenté ou perfusé, permettant ainsi un renouvellement du milieu tout en contrôlant le niveau d'oxygénation des cellules et le pH de la culture.



Figure 41 : Exemple d'un bioréacteur à cuve agitée(155).

b.3. Les bioréacteurs à vague :

Ces bioréacteurs sont les premiers réacteurs à usage unique à avoir vu le jour en 1999 (156). Ils sont composés d'une poche plastique simple avec agitation du milieu et une aération entièrement surfacique. Cette agitation par vagues permet une meilleure aération du milieu qu'en bioréacteur multi-couches et permet de diminuer les contraintes hydrodynamiques sur les cellules.



Figure 42 : Exemple d'un bioréacteur à vague(157).

b.4. Les bioréacteurs à lit tournant :

Ils ont été développés par la NASA, en 1992 (158), et sont composés d'un ou deux cylindres tournants autour d'un axe central. Grâce à la rotation des cylindres, les cellules sont maintenues statiques, en état de chute libre permanent. Ces réacteurs favorisent l'agrégation des cellules adhérentes. Afin de maintenir un état constant en suspension, la vitesse de rotation de cylindres doit être augmentée lorsque la taille des agrégats augmente.

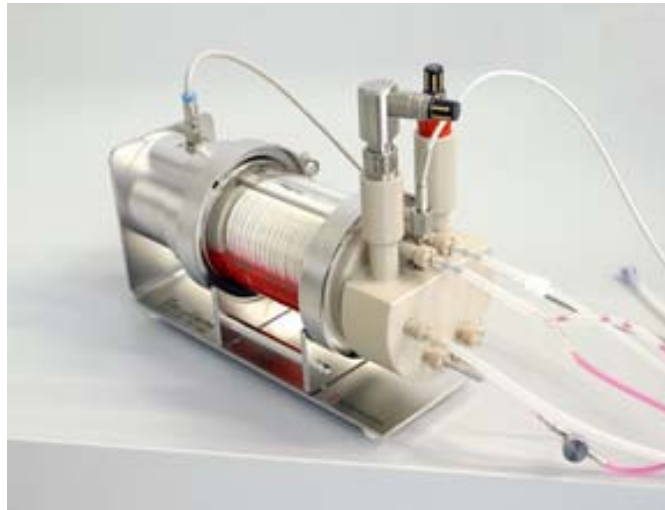


Figure 43 : Exemple d'un bioréacteur à lit tournant(159).

b.5. Les bioréacteurs à lit fixe :

Ils sont composés d'une chambre cylindrique remplie de billes poreuses, d'un échangeur de gaz extérieur connecté à un réservoir de milieu et d'une pompe permettant la circulation de ce dernier dans les différents modules du système. Ce système s'opère donc obligatoirement en mode perfusé et développe très peu de contraintes sur les cellules puisqu'elles sont immobilisées au sein des billes. Ces systèmes rencontrent cependant fréquemment des phénomènes de colmatage et montrent des performances limitées en matière de transfert d'oxygène et ne permettent pas le suivi hors-ligne des cellules.

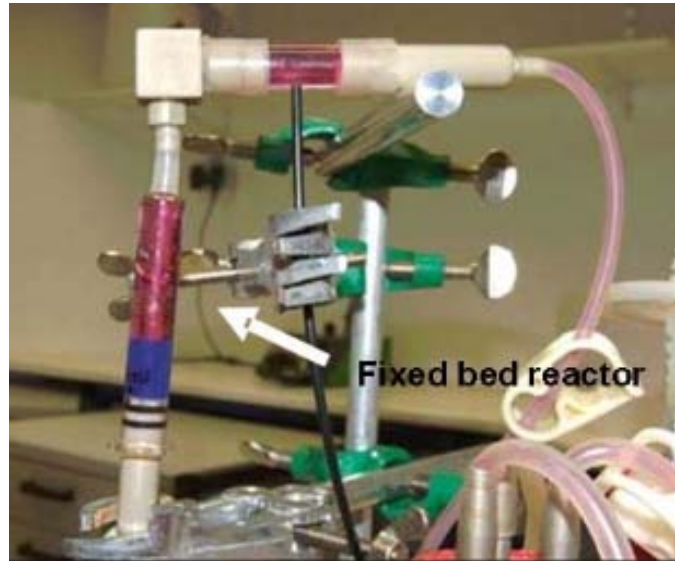


Figure 44 : Exemple d'un bioréacteur à lit fixe(160).

b.6. Les bioréacteurs à fibres creuses :

Ils ont été développés depuis des années 70 à partir de module d'ultrafiltration (161). Ces systèmes sont composés d'un cylindre formé d'une multiples de capillaires semi-perméables. En général les cellules sont immobilisées dans le compartiment extra-capillaire alors que le milieu oxygéné circule dans le compartiment intra-capillaire. Ces capillaires permettent les échanges de nutriments et d'oxygène vers les cellules en parallèle d'un renouvellement constant du milieu. Ces systèmes ont les mêmes avantages et inconvénients que les bioréacteurs à lit fixe.

En outre, ce système permet de contrôler plusieurs processus dont l'expansion constante d'une variété de cellules adhérentes, de cellules en suspension, de vecteurs viraux et d'exosomes.

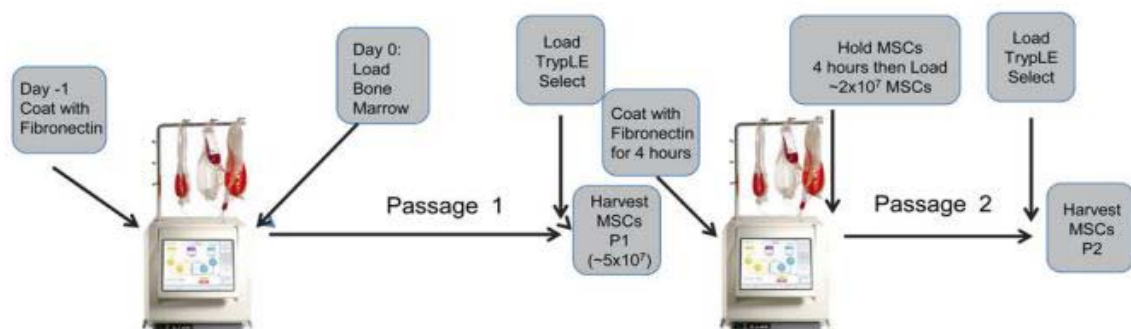


Figure 45 : Procédure d'expansion des CSM dans un Bioréacteur à fibre creuse (162).

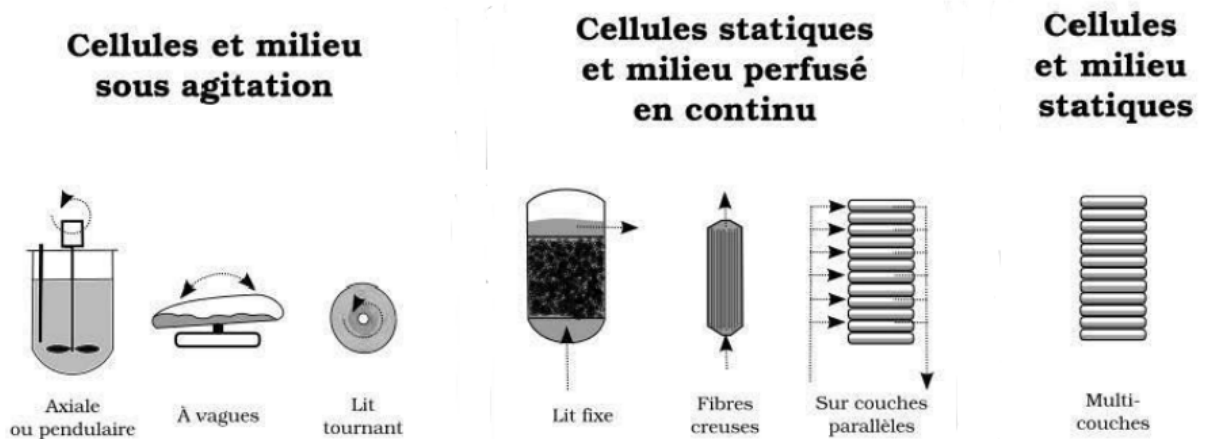


Figure 46 : Résumé des différentes technologies de bioréacteurs pour l'amplification des CSM (163).

3. Techniques d'administration :

Malgré un certain nombre de comparaisons directes dans des modèles animaux et des efforts pour comparer des voies spécifiques dans un nombre limité d'essais cliniques, il n'y a pas de consensus sur la méthode optimale pour l'administration de CSM avec des limitations ou des avantages spécifiques associés à l'une ou l'autre méthode selon la situation clinique.

De nombreuses méthodes d'administration des CSM existent aujourd'hui. Nous discuterons brièvement de la justification des méthodes d'administration les plus courantes :

Voies systémiques : intraveineuse (IV) et intra-artérielle (IA)

Voies locales ou loco-régionales : injection intramusculaire (IM) ou injection directe (DI) dans les tissus / organes et application topique.

- Les voies systémiques :

L'injection intraveineuse des CSM est la technique la plus utilisée en thérapie par CSM en raison de sa sécurité et de sa facilité de réalisation. Ce chemin conduit à une séquestration des CSM au niveau des poumons, mais aussi au niveau de la rate, du foie, de la moelle osseuse, du thymus des reins et de la peau(164).

Des modèles murins indiquent par ailleurs que le site d'injection intraveineuse joue un rôle dans la distribution et la persistance des CSM dans les différents organes(165). Selon une étude faite lors d'une administration IV de CSM humaines chez des rats atteints d'infarctus du myocarde, la capacité de survie des CSM dans les organes de distribution est courte. Moins de 0,01% des CSM humaines injectées à des souris par voie IV étaient détectables à 4 semaines dans leurs poumons(166).

La séquestration des CSM au niveau de certains organes est dépendante de la quantité initiale de cellules injectée (167). La majorité des auteurs recommandent un minimum de 1 à 2 millions de cellules par kilogramme de poids corporel, ou 1 à 2 millions d'éléments par centimètre cube de tissu traité(168).

La voie intra artérielle présente un avantage important par rapport à la voie IV grâce à un greffage supérieur de ces dernières au niveau des tissus cibles. Ce qui implique dans ce cas, la possibilité de réduire la dose minimale et par conséquent une réduction du temps et du coût lors de l'isolement et l'expansion des CSM(169).

Plusieurs études faites sur des modèles animaux ont objectivé que la voie artérielle est très intéressante pour les thérapies par CSM dans les infarctus du myocarde et les accidents vasculaires ischémiques, mais aussi pour les séquelles des traumatismes crâniens et les traumatismes musculaires(170)(171)(172). Cette efficacité de la voie intra-artérielle, s'explique par l'acheminement des CSM à proximité de l'organe lésé et de ce fait une action concentrée de ces cellules.

- Les voies locales :

La voie locale a comme avantage thérapeutique, par rapport à l'injection IV, l'absence de séquestration pulmonaire ou dans d'autres organes ce qui conduit à un temps de séjour amélioré par rapport aux autres voies (128).

L'administration intramusculaire de CSM dans un modèle de souris a conduit à la survie des CSM humaines jusqu'à 5 mois après l'injection. En plus d'un temps de séjour prolongé, les fibres musculaires squelettiques permettent une libération locale et systémique de facteurs

trophiques et un soutien pour les actions paracrines des CSM du fait de sa richesse vasculaire(173).

L'application topique des CSM est la méthode d'administration la moins invasive et a démontré un grand potentiel dans les domaines de la médecine des brûlures et du soin des plaies. Les CSM appliquées localement ont amélioré les résultats de cicatrisation des plaies et de survie des greffes de peau dans les brûlures, des ulcères liés au diabète et d'autres ulcères chroniques(174)(175) . En utilisant un système de pulvérisation de polymère de fibrine, une étude a démontré que les CSM appliquées localement amélioraient les taux de fermeture des plaies dans un modèle préclinique, ainsi que chez les patients présentant des ulcères chroniques des membres inférieurs qui ne cicatrisaient pas(176).

L'injection directe a également été largement utilisée pour obtenir un bénéfice thérapeutique optimal, l'injection des CSM directement au niveau de l'organe cible est utilisée pour une multitude de tissus en injection intra-articulaire, intra myocardique (traitement des séquelles de l'IDM) intra spinale (pour les lésions traumatiques de la moelle épinière) et intra parenchymateuse au niveau cérébral (traitement des AVC). Cependant, il est important de noter que les CSM peuvent se différencier en tissus ectopiques, notamment osseux(177) et que les risques chirurgicaux lors de l'administration de ces cellules sont également à prendre en compte, par exemple, une laminectomie lors des injections intra-spinales, sans oublier le risque septique.

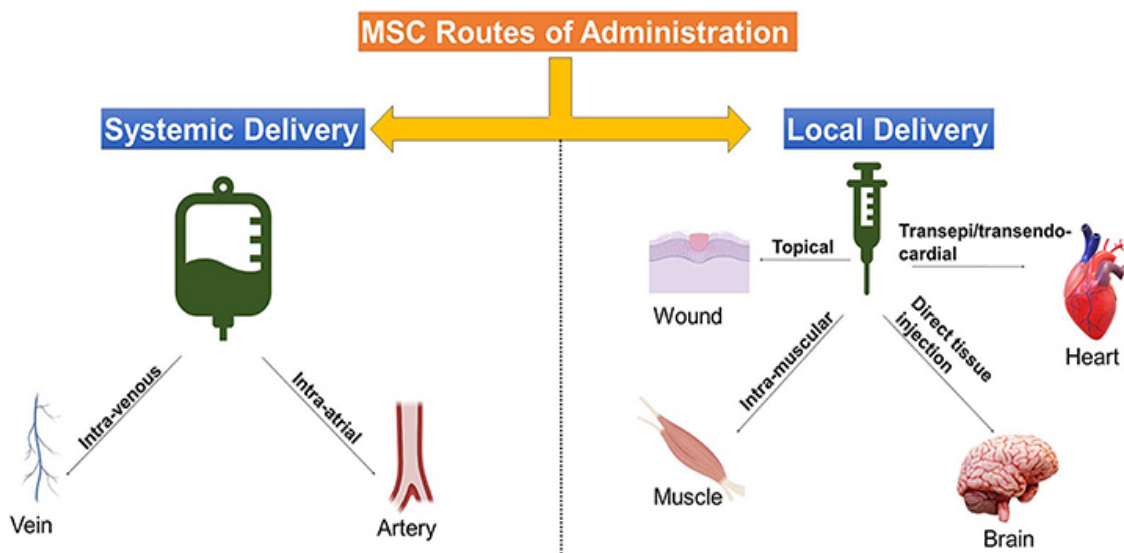


Figure 47 : voies d'administration des CSM (178).

Plusieurs voies supplémentaires d'administration de CSM sont remarquables pour certaines applications spécifiques :

- L'administration intra-nasale (IN) de CSM est une voie prometteuse pour traiter les pathologies neurologiques qui évite les risques associés à l'injection directe de cellules dans le SNC. Les données précliniques ont démontré l'efficacité des CSM IN dans un éventail de troubles du SNC, y compris les lésions cérébrales ischémiques périnatales, les hémorragies sous-arachnoïdiennes et les troubles neurodégénératifs tels que la maladie de Parkinson(179).
- L'administration intrathécale (IT) de CSM, souvent par ponction lombaire, a montré des avantages dans des études précliniques et cliniques sur un large éventail de troubles neurologiques, y compris la douleur neuropathique chronique secondaire à une lésion de la moelle épinière(180), la sclérose latérale amyotrophique (SLA)(181) et l'épilepsie(182).
- L'administration intravitréenne de CSM a démontré une amélioration des résultats dans plusieurs modèles animaux de lésions et de dysfonctionnements rétiniens(183). Cependant, la sécurité de l'injection intravitréenne de CSM chez l'homme reste un domaine de préoccupation clinique (184).

VII. Rationnel d'utilisation des CSM :

Concernant les méthodes thérapeutiques des CSM, ces dernières peuvent être administrées soit, directement après leur isolement, soit après une mise en culture ou expansion. Les protocoles utilisés varient selon le tissu de prélèvement, l'indication thérapeutique et les préférences des équipes. En effet, jusqu'au jour d'aujourd'hui, il existe très peu de recommandations internationales validés.

1. Utilisation immédiate des CSM (sans culture cellulaire) :

Pendant l'opération, le médecin opérateur effectue le prélèvement de CSM de la moelle osseuse ou du tissu adipeux du patient. Les cellules sont isolées avant d'être réadministrées le jour même au patient. Cette technique présente l'avantage d'être rapide à moindre coût et relativement efficace. L'inconvénient majeure réside dans le non contrôle de la dose exacte à injecter au patient. Elle est, largement, utilisée en clinique. C'est la méthode privilégiée dans notre étude.

2. Utilisation des CSM après culture :

Dans ce cas de figure, le déroulement du prélèvement et de l'isolement des CSM de la moelle osseuse ou du tissu adipeux se fait de la même manière qu'au cours de l'utilisation immédiate des CSM. Par la suite, les CSM subissent une étape de culture et d'amplification. La réinjection des CSM est différée.

L'avantage de cette procédure, outre le respect des critères de caractérisation des CSM adoptés par l'ISCT, est la capacité de contrôler exactement la dose à injecter. Les 2 principales contraintes de cette procédure sont le temps rallongé de la technique et le coût de cette procédure.

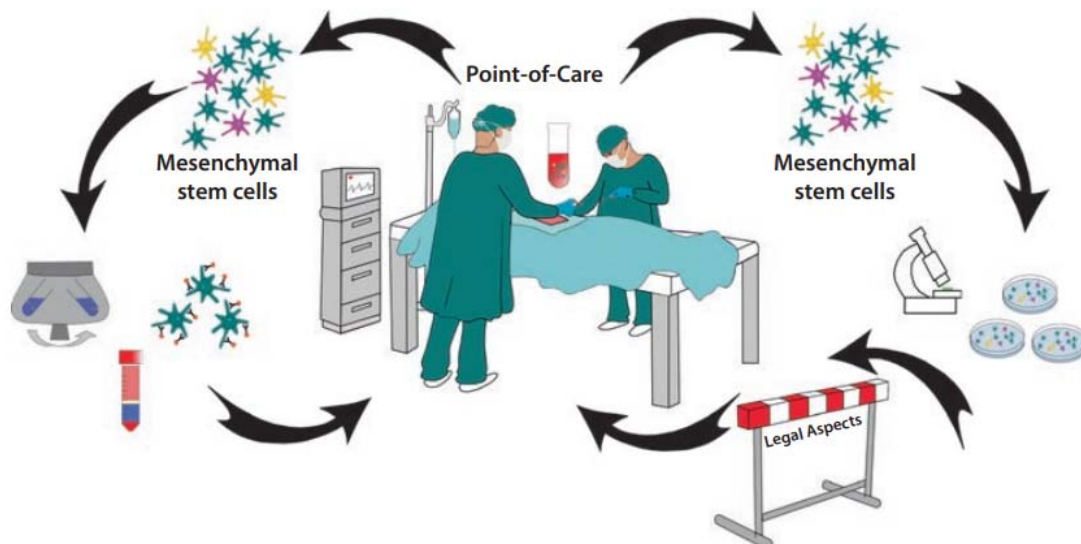


Figure 48 : Rationnel d'utilisation actuel des cellules souches mésenchymateuses(98).

VIII. Indications et utilisations thérapeutiques des CSM

Suite à leur découverte, depuis plus de 50 ans, les CSM sont devenues l'un des produits thérapeutiques les plus étudiés en raison de leur potentiel régénérateur et de leurs propriétés immuno-modulatrices. Elles permettent d'envisager de nouvelles thérapeutiques dans différentes pathologies en traumatologie, en neurologie, en cardiologie, en chirurgie plastique ...

Actuellement, aux Etats-Unis, il n'y a pas de recommandations officielles pour l'utilisation de CSM, mais, dans d'autres pays, l'approbation réglementaire a été obtenue(185). Le site www.clinicaltrials.gov recense environ 323 études complétées impliquant les CSM et 348 actuellement en cours dans le monde.

1. En traumatologie-orthopédie :

Parmi les indications des CSM, on peut citer :

1.1. L'arthrose :

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

Le traitement de l'arthrose repose sur plusieurs axes : éducation du patient, traitement médical, rééducation et le traitement chirurgical. De nouvelles approches thérapeutiques sont en cours d'essai, comme la greffe de cartilage, l'injection de plasma riche en plaquette ou du plasma riche en fibrine, ainsi que les thérapies cellulaires comme l'utilisation des CSM et les techniques d'ingénierie tissulaire(186).

Dans l'arthrose, les CSM sont utilisées en pratique comme source de cellules régénératrices afin de stimuler la réparation du cartilage endogène lésé et diminuer l'inflammation locale. In vitro, les études indiquent qu'elles peuvent agir favorablement sur le phénotype pathologique des chondrocytes arthrosiques, mais également sur les autres cellules

constitutives de l'articulation. In vivo, certaines études ont identifié les mécanismes biologiques impliqués dans les processus de réparation auxquels participent les CSM(187). Leurs propriétés anti-inflammatoires, anti-apoptotiques, anti-fibrotiques et chondro-protecteurs permettent de réduire l'inflammation, la douleur articulaire et de réparer le cartilage par la différenciation directe en chondrocytes et par l'induction de la différenciation chondrocytaire des cellules de l'hôte. De plus, les CSM secrètent des facteurs de croissance paracrines et des protéines de la MEC qui jouent un rôle important dans la formation d'un nouveau cartilage(188).

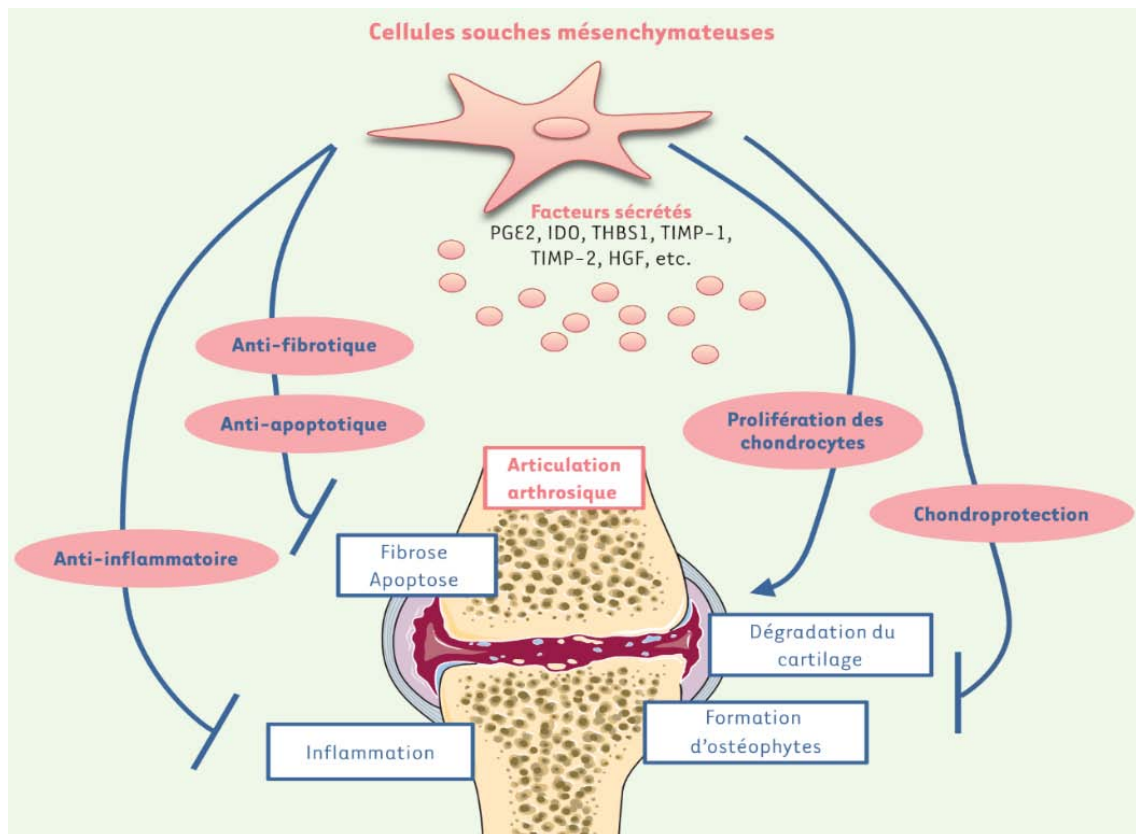


Figure 49 : Intérêt des cellules souches mésenchymateuses dans l'arthrose(187).

1.2. La pseudarthrose des os longs :

La transplantation des cellules souches mésenchymateuses autologues constitue une nouvelle approche dans le traitement de la pseudarthrose et ceci grâce au potentiel ostéogénique et ostéo-inducteur des CSM dans la consolidation osseuse.

Une étude a été faite en 2016 sur la capacité des CSM de moelle osseuse chargées sur des microsphères de collagène et incluses dans des caillots de plasma riche en plaquettes (PRP) à induire la formation osseuse chez les patients atteints de pseudarthrose. Le résultat était très satisfaisant puisque trois mois, post-transplantation, tous les patients ont montré des signes d'ostéogénèse au site de pseudarthrose et après un an, tous les patients ont montré une guérison complète(189).

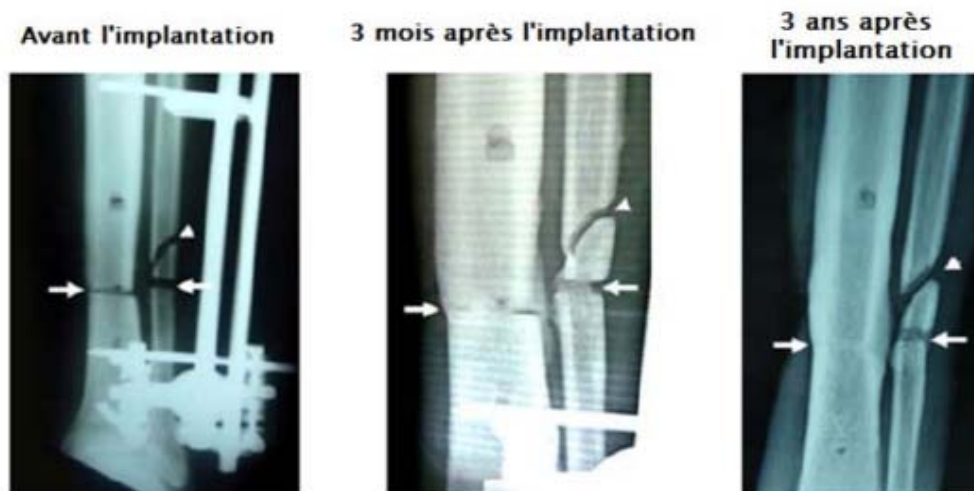


Figure 50 : Evolution d'une pseudarthrose tibiale et fibulaire chez un patient traité par CSM et PRP(189)

Le traitement de la pseudarthrose nécessite : la stabilité mécanique fournie par les techniques d'ostéosynthèse et la présence de cellules vivantes à potentiel ostéogénique.

1.3. La perte de substance osseuse :

Les recherches dans l'utilisation des CSM dans les pertes de substance osseuse ont débuté sur des modèles animaux depuis l'année 2000.

Une étude sur des rats porteurs d'un défaut fémoral osseux de 7 mm, Les auteurs de cette étude ont utilisé des CSM fœtales humainesensemencées sur un échafaud et après 12 semaines de l'intervention, les rats traités par les CSM sur cet échafaud ont démontré une formation d'os nouveau deux fois plus importante en volume par rapport aux rats traités par échafaud acellulaire(190).

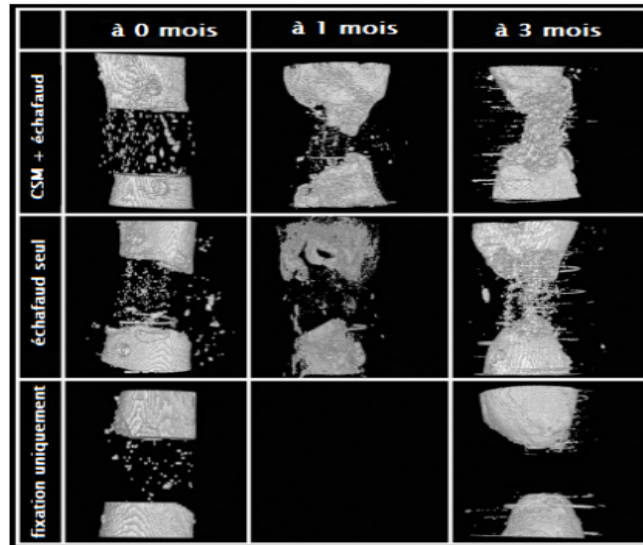


Figure 51 : Reconstruction 3D par micro-TDM : Evolution d'un défaut de la diaphyse fémorale dans un modèle de perte de substance osseuse chez des rats traités par des CSM humaines sur un échafaud en comparaison avec le même échafaud seul ou la fixation seule. (D'après l'étude de Zhang et coll.(190))

Le premier essai chez l'homme a été réalisé chez trois patients ayant eu des pertes de substance osseuse à la suite de divers traumatismes. Des CSM autologues amplifiées in vitro ont été ajoutées à un biomatériau puis greffées, ce qui a permis aux patients une bonne reconstitution des membres atteints(191). Cependant, il n'y a pas eu, dans cette étude, de témoins contrôles traités par le biomatériau seul, sans CSM.

De façon similaire, des essais de reconstitution de la mâchoire ont été tentés. Notamment, Warnke et al. a confectionné un implant ostéorégénératif composé de CSM sur un support titane/hydroxyapatite imbibé de facteur ostéogénique recombinant humain BMP(192).

Dans d'autres études, des CSM cultivées in vitro ont été utilisées pour combler des pertes de substances consécutives à des procédures d'allongement de membres ou de résection de tumeurs(193).

Ainsi, la perte osseuse, même partielle, de ce matériel doit être compensée par un apport simultané de biomatériaux, capables de servir de support aux cellules mais capables aussi de supporter certaines contraintes mécaniques, associés à de CSM cultivées, ou de cellules ostéoblastiques (issues de CSM dont la différenciation a été induite in vitro).

1.4. L'ostéogenèse imparfaite :

Selon une étude de l'équipe d'Horwitz ayant pour but de traiter des enfants atteints d'ostéogenèse imparfaite, les enfants ont d'abord été traités par injection de moelle osseuse allogénique puis ultérieurement par des CSM cultivées. À chaque traitement, des améliorations significatives du tableau clinique des patients a été observée : augmentation de croissance, augmentation de la densité osseuse et diminution des fractures(194)(195).

Ce type de protocole a également été utilisé pour traiter un fœtus de 32 semaines atteint d'ostéogenèse imparfaite qui a reçu des CSM allogéniques amplifiées ex vivo et injectées in utero(196). L'enfant présentait à 2 ans une croissance similaire à celle d'un enfant sain de même âge.

2. En chirurgie plastique :

La régénération du tissu cutané repose principalement sur l'utilisation des cellules souches issues du tissu adipeux, qui peuvent être utilisées en allogreffe ou autogreffe. Leur utilisation permet d'obtenir un tissu cutané presque identique en termes d'apparence, texture et couleur.

Concernant la cicatrisation des plaies et brûlures, ces cellules contribuent à la réparation du tissu et la reconstruction de la peau, soit par leur pouvoir de prolifération et différenciation ou bien par la sécrétion de différents facteurs de croissance et de cytokines(197).

2.1. Le retard de cicatrisation :

Un retard de cicatrisation s'accompagne parfois de complications graves : infection profonde, désunion des berges de la plaie voire certaines complications mettent en jeu le pronostic vital.

La CSM est un candidat idéal qui s'intègre à l'environnement local, contribuant ainsi à la cicatrisation des plaies en sécrétant des molécules de signalisation telles que des cytokines, des chimiokines et des facteurs de croissance et en accélérant la réparation tissulaire et la différenciation(198).

2.2. La brûlure :

Les cellules souches mésenchymateuses peuvent présenter un intérêt par leurs propriétés trophiques dans le traitement des brûlures graves.

L'utilisation des CSM chez l'homme dans la prise en charge thérapeutique des brûlures graves a été envisagée pour la première fois par Anna et al (199). Une patiente présentant des lésions de brûlure grave de 3^{ème} degré touchant 40 % de la surface corporelle a été traitée par autogreffe de peau combinée à des injections locales de CSM médullaires d'origine allogénique. Cette thérapie cellulaire a permis d'améliorer la prise de greffe et de réduire le temps d'hospitalisation avec une action marquée sur la néovascularisation locale.

L'avenir thérapeutique des brûlures graves va très certainement bénéficier de ces avancées de la bio-ingénierie cellulaire et tissulaire, intégrant des cellules souches multipotentes de type CSM, jouant un rôle de promotion de la survie et de stimulation de la prolifération des cellules spécialisées épidermiques et dermiques.

2.3. Le rajeunissement cutané :

Le vieillissement cutané implique plusieurs processus biologiques dégénératifs, en particulier la réduction de la production du collagène par les fibroblastes.

Le recours à la médecine esthétique pour rajeunir ou lutter contre les effets du temps est de plus en plus répandu. Dans ce cas de figure, l'utilisation des CSM demeure une bonne alternative.

Une étude a démontré que les CSM avait des effets antirides, antioxydants, blanchissants et cicatrisants sur la peau grâce à la sécrétion de facteurs de croissance et à l'activation des fibroblastes(200). Les résultats de cette étude ont indiqué que l'effet antirides est principalement médié par la stimulation de la synthèse du collagène. Alors que l'effet de l'éclaircissement de la peau est dû à l'inhibition de la synthèse de mélanine par les CSM. Enfin, le puissant effet antioxydant est assuré par la réduction du nombre des cellules apoptotiques.

Une autre étude a démontré que les CSM pouvaient être utilisée comme thérapie anti-âge, en particulier par la synthèse de collagène dermique et l'amélioration de l'angiogenèse(201).

2.4. L'alopecie :

Enfin, les CSM sont récemment apparues comme une nouvelle option thérapeutique pour la perte de cheveux en permettant de booster la repousse des cheveux lors de calvitie masculine en améliorant la taille des follicules pileux et la densité et l'épaisseur des cheveux(202).

3. En neurologie et neurochirurgie :

Le développement de la thérapie cellulaire est aussi particulièrement attendu dans le domaine de la neurochirurgie et la neurologie.

La thérapie cellulaire semble être très prometteuse : l'injection de CSM améliore la neuroprotection endogène et la plasticité cérébrale par des effets neurotrophiques paracrines : angiogenèse, immunomodulation, oligodendrocytogenèse, synaptogenèse, et neurogenèse. Les tissus ischémiques vont être réparés et la fonction neurale rétablie, la restauration est non seulement neurale mais également gliale et endothéliale

Les CSM pourraient permettre également de traiter les maladies neurodégénératives qui regroupent un ensemble de maladies neurologiques chroniques, parfois auto-immunes et repose sur : le remplacement des cellules déficientes(203).

Aujourd'hui, les CSM sont à l'étude dans différentes maladies neurologiques. Actuellement, 153 essais cliniques internationaux sont en cours pour étudier la thérapie cellulaire par CSM (source clinicaltrials.gov).

Tableau IX : Essais cliniques en cours sur la thérapie cellulaire par CSM en neurologie/neurochirurgie (source clinicaltrials.gov)

Pathologie	Nombre d'essai
Traumatismes médullaires	44
Sclérose en plaque	31
Sclérose latérale amyotrophique	22
Maladie d'Alzheimer	14
Maladie de Parkinson	13

3.1. Les traumatismes médullaires :

La problématique principale du traumatisme médullaire est qu'il évolue défavorablement au cours du temps. Les lésions qui en résultent appelées "lésions secondaires" sont caractérisées par divers phénomènes tels qu'une inflammation, le développement d'une cicatrice astrogliale dense et la formation de cavités kystiques correspondant à du tissu nécrosé. Ces processus dégénératifs mènent à l'établissement d'un environnement lésionnel inhibiteur pour la régénération axonale et pour la récupération fonctionnelle.

La lésion de la moelle épinière est une condition médicalement incurable pour laquelle les cellules souches ont créé l'espoir au cours des dernières années. En effet, ces cellules possèdent d'intéressantes propriétés permettant de moduler l'environnement lésionnel et ainsi favoriser la régénération des axones et la récupération fonctionnelle. Des rapports précliniques antérieurs ont montré que la transplantation de cellules souches mésenchymateuses de moelle osseuse dans des modèles simulés peut produire des résultats encourageants(204).

Une étude faite en 2013 a montré in vivo, que le milieu conditionné par les cellules souches mésenchymateuses (MC-CSM) contenant les facteurs sécrétés par ces dernières, administré au niveau de la lésion, favorise la récupération locomotrice des animaux. Les analyses histologiques révèlent une action pro-angiogénique du MC-CSM ainsi qu'un effet de protection tissulaire. Le traitement n'a pas d'effet sur la repousse axonale, l'inflammation et le développement de la cicatrice astrogliale. In vitro, le MC-CSM permet de protéger les neurones contre l'apoptose, active les macrophages et favorise l'angiogenèse. Finalement, la

caractérisation du MC-CSM par détection protéique multiple et ELISA a permis d'identifier divers facteurs trophiques ainsi que des cytokines probablement impliquées dans les effets observés(205).

Dans notre travail, la majeure partie des patients de neurochirurgie présentait un traumatisme médullaire.

3.2. La maladie d'Alzheimer :

La maladie d'Alzheimer est caractérisée par une dégénération et une perte des neurones et des synapses. Les CSM ont été injectées chez le rat avec une amélioration des fonctions cognitives(206). Le véritable « neuro-remplacement » par les CSM reste limité par les faibles taux de différenciation neuronale, y compris lorsque les CSM sont administrées par injection intra-cérébrale. Cependant, dans les modèles murins de la maladie d'Alzheimer, une étude a rapporté que l'administration IV permet une amélioration de la souris sur le plan cognitif, notamment au niveau de la mémoire spatiale (apprentissage) et de la reconnaissance. Les effets paracrines et neuroprotecteurs des CSM sont capables de stimuler la neurogénèse endogène par la sécrétion de facteurs neurotrophiques(207)(208).

Les CSM administrées de manière IV réduisent également les dépôts amyloïdes et la formation de plaques amyloïdes et sont capables de franchir la barrière hémato-encéphalique et de migrer efficacement vers les régions neuronales lésées, sans induire de réponse tumorale ou immunitaire. Une étude a montré une efficacité similaire des CSM d'origine adipeuse administrées par voie IV ou intra-cérébrale à la fois sur le plan cognitif mais également sur la diminution de la pathologie amyloïde(208).

3.3. La maladie de Parkinson :

La progression de la maladie de Parkinson peut entraîner une invalidité grave, cependant, le traitement actuel se concentre principalement sur la gestion des symptômes par opposition à la restauration de la fonction neuronale. Il y a donc un intérêt intense pour le traitement à potentiel d'interventions cellulaires. Au-delà du remplacement des neurones endommagés, les

CSM pourraient être bénéfiques en raison de leurs propriétés neurotrophiques, anti-inflammatoires, anti-apoptotiques, et d'autres effets. Des études précliniques encourageantes sur la fonction des CSM sont maintenant traduites en essais cliniques(209).

Un essai a été publié, utilisant des CSM autologues dérivées de la MO et implantées par chirurgie stéréotaxique chez 7 patients, a montré une amélioration de leur échelle d'évaluation unifiée de la maladie de Parkinson (210).

4. Autres :

4.1. La maladie de crohn :

La maladie de Crohn est une maladie intestinale inflammatoire qui se complique fréquemment de fistulisation, d'uvéite et d'arthrite. Ces complications locales sont source de gêne fonctionnelle majeure et de surinfection.

Une étude, incluant 49 patients, prospective et randomisée, a montré l'intérêt d'un traitement local par des cellules souches mésenchymateuses issues du tissu adipeux dans les cas de fistule :25 patients ont été traités par fibrine seule et 24 patients par fibrine associée à 20 millions de CSM, une majorité de ces derniers soit 71 % a montré une cicatrisation contre 16 % seulement dans le groupe contrôle. L'action bénéfique se manifeste également par la réduction de l'inflammation et le raccourcissement du délai de cicatrisation locale(139).

4.2. Le diabète de type 1 :

Le diabète de type 1 est caractérisé par une destruction auto-immune des cellules β du pancréas, médiée en partie par les lymphocytes T. L'insulinothérapie permet, en partie, de compenser le déficit en insuline endogène et de contrôler la glycémie, mais ne représente pas un traitement curatif de la maladie.

L'utilisation des CSM trouve sa justification dans leurs propriétés immunomodulatrices, cytoprotectrices et proangiogéniques, pouvant limiter le recours aux immunosuppresseurs et préserver la viabilité du greffon(211).



CONCLUSION



La thérapie par cellules souches mésenchymateuses est porteuse de promesses thérapeutiques dans différents domaines médicaux et suscite un véritable engouement dans le monde scientifique et médical. En plus, la découverte de méthodes de culture in vitro a permis l'élargissement des indications des thérapies régénératives, en fournissant la possibilité d'établir une réserve de matériel biologique.

Les CSM présentent plusieurs sources mais, trois se détachent largement. Ce sont la moelle osseuse, le tissu adipeux et le cordon ombilical. Actuellement, les critères de choix du tissu d'origine des CSM pour les essais cliniques reposent essentiellement sur la richesse des prélèvements et leur facilité d'accès. L'isolement des CSM à partir de prélèvement de moelle osseuse reste la méthode la plus employée.

Au cours de cette décennie, les domaines d'applications thérapeutiques des CSM se sont grandement étoffés. Elles sont proposées dans des domaines comme l'immunologie de la greffe et des maladies auto-immunes, les pathologies ischémiques ou dégénératives. Toutefois, la rapidité avec laquelle ces essais se sont mis en place par rapport aux avancées des connaissances en recherche fondamentale risque d'engendrer un décalage avec les résultats prometteurs des modèles précliniques.

Cependant, il est nécessaire de multiplier les efforts de recherche, non seulement pour uniformiser les protocoles d'isolement, d'administration et tirer des conclusions claires sur la sécurité et l'efficacité des CSM dans les différentes pathologies. Il s'agit aussi d'éviter une exploitation commerciale abusive. Cela implique, du moins en début d'expérience, de réserver l'utilisation des CSM aux centres de recherche et aux centres hospitaliers universitaires pour établir des protocoles claires et codifiés, bâtis sur des preuves solides, avant d'étendre cet outil thérapeutique à la pratique de routine.



ANNEXES



Annexe 1 :

FICHE D'EXPLOITATION

Identité :

Nom :

Prénom :

Sexe : Homme Femme

Age : Date de naissance :

Ville : Numéro de téléphone :

Données cliniques :

Numéro du dossier :

Service :

Indication thérapeutique :

Prélèvement de CSM :

Type du prélèvement : Moelle osseuse Tissu adipeux

Heure du prélèvement :

Heure de réception du prélèvement :

Prélèvement conforme (étiqueté, dans une boîte stérile) : Oui Non

Quantité prélevée : mL

Nombre de seringues :

Après isolement des CSM :

Volume finale :

Nombre total de cellules viables :

Phénotype :

	CD105+	CD90+	CD73+
Pourcentage des cellules viables présentant le marqueur :

Annexe 2 :

FORMULAIRE DE CONSENTEMENT ECLAIRE DU PATIENT

Suite aux informations que j'ai reçues et aux réponses qui ont été apportées à mes éventuelles questions, j'accepte, après réflexion, l'intervention mentionnée ci-dessus. J'ai été informé(e) de la nature et le but de l'intervention proposée.

Date :

Patient (signature) :

En cas d'incapacité de discernement,

Représentant légal.....

Nom, prénom :

Je, soussigné, Dr....., certifie que j'ai expliqué la nature et le but de l'intervention proposée. Je certifie également que l'équipe de travail veillera sur l'anonymat et sur la confidentialité des données. Je certifie aussi, avoir offert au patient la possibilité de poser toutes les questions qu'il souhaite et que j'ai pleinement répondu à ces dernières. Je crois que le patient/représentant légal a bien compris ce que j'ai expliqué. Dans le cas où je ne serais pas présent lors de la signature de ce formulaire par le patient, je comprends qu'il n'a qu'une valeur de documentation, bien que le processus du consentement éclairé ait pris place. Je reste responsable de l'information du patient ainsi que l'obtention de son consentement éclairé.



RESUMES



Résumé

La médecine régénérative apparaît comme une approche thérapeutique innovante. Un type de cellules présente de grands espoirs en médecine régénérative. Les cellules souches mésenchymateuses font l'objet de nombreuses études depuis plusieurs décennies en raison de leurs capacités de régénération. Le but de notre étude est de résumer les connaissances actuelles, d'exposer la véritable avancée que représente l'utilisation des CSM et ses dérivées en médecine régénérative et évaluer l'apport des CSM chez nos patients.

Notre travail est une étude prospective portant sur 70 patients ayant bénéficié d'un traitement de CSM isolées à partir des prélèvements de moelle osseuse ou du tissu adipeux, l'étape d'isolement de CSM a été réalisé au laboratoire durant une période de 18 mois, s'étalant du Janvier 2021 au juillet 2022, au niveau du centre de médecine régénérative du CHU Mohammed VI de Marrakech.

Concernant les résultats, La moyenne d'âge de nos patients a été de 45,04 ans avec des extrêmes allant de 14 à 75 ans, la tranche d'âge dominante (35,71%) était de 30 à 49 ans. Une légère prédominance féminine a été notée (sex-ratio H/F=0,91). Le type de prélèvement chez la population âgée de plus de 50 ans était dominé par le prélèvement à partir de la moelle osseuse (34,29%). L'indication principale était la gonarthrose avec un pourcentage de 44,29% suivie de la paraplégie post-traumatique avec 14,29%. L'isolement des CSM du tissu adipeux a été réalisé par digestion enzymatique, les principales indications étaient les cicatrices avec un pourcentage de 14,29% suivie des pertes de substance chronique avec 7,14%. Le comptage et le phénotypage des cellules ont été fait chez tous les patients, les cellules isolées ont été caractérisées par Cytométrie de flux. La moyenne des CSM isolées à partir du tissu adipeux était de 17,75% du nombre total de cellules prélevées, elle était plus élevée que la moyenne des CSM isolées de la moelle osseuse qui ne présentait que 9,36%. On a noté une expression augmentée du CD105+ par rapport aux CD90+ et CD73+ avec un pourcentage de 88,02% chez les CSM issus de la moelle osseuse et 67,36% des CSM issus du tissu adipeux. Les pourcentages, les plus élevés en

CSM dans les prélèvements du tissu adipeux, ont été constatés chez les patients âgés de moins de 50 ans avec une moyenne de 18,9% tandis que dans les prélèvements de la MO, nous n'avons pas constaté une nette prédominance par rapport à l'âge.

Notre revue de la littérature a relevé une grande hétérogénéité dans les protocoles utilisés par différentes équipes de recherche dans l'isolement et la culture des CSM. Cependant, Les résultats rapportés sont encourageants et justifient l'adoption des CSM comme une thérapie expérimentale au niveau des centres de recherche et centres hospito-universitaires afin d'uniformiser les protocoles thérapeutiques et consolider les preuves d'efficacité et de sécurité avant sa généralisation à grande échelle.

Abstract

Regenerative medicine appears as an innovative therapeutic approach. This new medicine, which brings therapeutic promise in all medical fields, is generating a real interest in the scientific and medical world. One type of cells offers great hopes in regenerative medicine: mesenchymal stem cells, which have been the subject of numerous studies for several decades because of their regenerative capacities.

The purpose of our study is to summarize current knowledge, present the true breakthrough in the use of MSCs and their derivatives in regenerative medicine, and assess the quantitative contribution of MSCs to our patients.

Our work is a prospective study of 70 patients who received a treatment of MSCs isolated from bone marrow or adipose tissue sample. The isolation of MSCs was performed in the laboratory for an 18-month period, from January 2021 to July 2022, at the Mohammed VI University Hospital in Marrakech.

Concerning the results, The average age of our patients was 45.04 years with extremes ranging from 14 to 75 years, the dominant age group (35.71%) was 30 to 49 years. A slight female predominance was noted (sex-ratio H/F=0.91). The type of sampling in the population over the age of 50 was dominated by bone marrow sampling of 34.29%. The main indication was gonarthrosis with a percentage of 44.29% followed by post-traumatic paraplegia with a percentage of 14.29%. Isolation of CSM from adipose tissue was achieved by enzymatic digestion while isolation of MSC from bone marrow was achieved by density gradient via centrifugation using a cell separator. Cell counting and phenotyping were done in all patients, isolated cells were characterized by a flow cytometry test. The mean of the MSCs isolated from adipose tissue was 17.75% of the total number of cells collected, higher than the mean of the MSCs isolated from bone marrow, which presented only 9.36%. There was an increased expression of CD105+ compared to CD90+ and CD73+ with a percentage of 88.02% in bone marrow-derived MSCs that was higher than the CD105+ in fat-derived MSCs. The highest percentages of MSCs in the

adipose tissue samples were found in patients under 50 years of age with an average of 18,9% whereas in bone marrow samples there was no clear predominance over age.

Our literature review found a high degree of heterogeneity in the protocols used by different research teams in MHC isolation and culture. However, the results reported are encouraging and justify the adoption of MSCs as an experimental therapy at the research centre level in order to standardize therapeutic protocols and consolidate evidence of efficacy and safety before its generalization to on a large-scale.

ملخص

الطب التجديدي، منهج علاجي مبتكر، يجلب وعدًا علاجيًا في جميع المجالات الطبية، يظهر اهتمامًا حقيقيًا بالعالم العلمي والطبي. يقوم الطب التجديدي على الخلايا الجذعية المتوسطة (CSM)، والتي كانت موضوع دراسات عديدة لعدة عقود بسبب قدراتها التجديدية. الهدف من دراستنا هو تلخيص المعرفة الحالية، وكشف التقدم الحقيقي في استخدام الخلايا الجذعية المتوسطة ومشتقاتها في الطب التجديدي، وتقييم المساهمة الكمية التي يتلقها مرضانا.

عملنا عبارة عن دراسة تحليلية محتملة لـ 70 مريضًا. تم أخذ عينة من نخاع العظام أو الأنسجة الدهنية، ثم تم إجراء خطوة عزل CSM في المختبر لمدة 18 شهرًا، من يناير 2021 إلى يوليو 2022، بمركز الطب التجديدي بمستشفى محمد السادس بمراكش.

فيما يتعلق بالنتائج، كان متوسط عمر مرضانا 45.04 عامًا مع درجات متطرفة تتراوح من 14 إلى 75 عامًا، وكانت الفئة العمرية المهيمنة (35.71%) من 30 إلى 49 عامًا. لاحظنا وجود هيمنة طفيفة على الإناث (النسبة بين الجنسين $H/F = 0.91$). بالنسبة لعدد العينات يوجد هيمنة للعينات المستخلصة من نخاع العظام لدى المرضى الذين تزيد أعمارهم عن 50 بنسبة 34.29%. من أكثر الأمراض والإصابات اللاتي تمت معالجتها عن طريق الخلايا الجذعية المتوسطة هي هشاشة العظام في الركبة بنسبة 44.29% يليها الشلل النصفي ما بعد الصدمة بنسبة 14.29%. تم عزل CSM من الأنسجة الدهنية عن طريق الهضم الإنزيمي بينما تم عزل CSM من نخاع العظام عن طريق تدرج الكثافة بواسطة الطرد المركزي وباستخدام فاصل الخلية. ثم تم إجراء عد الخلايا والتنميط الظاهري لدى جميع المرضى، وتم تمييز الخلايا المعزولة باختبار قياس التدفق الخلوي. كان متوسط CSM المعزولة من الأنسجة الدهنية 17.75% من إجمالي عدد الخلايا التي تم جمعها، وذلك أعلى من متوسط CSM المعزولة من نخاع العظام، والتي تمثل 9.36% فقط. لقد تبين لنا أيضًا أن تعبير + Cd105 مرتفع مقارنة بـ + Cd90 و + Cd73، بنسبة 88.02% لدى CSM المشتقة من نخاع العظام والتي هي أعلى من + Cd105 لدى CSM المشتقة من الدهون. لاحظنا كذلك أعلى النسب المئوية للخلايا الجذعية المتوسطة في عينات الأنسجة الدهنية

لدى المرضى الذين تقل أعمارهم عن 50 سنة بمتوسط 18.9 % بينما في عينات نخاع العظام لم يكن هناك هيمنة واضحة بالنسبة للعمر.

بينت مراجعتنا للأدبيات درجة عالية من عدم التجانس في البروتوكولات المستخدمة من قبل فرق البحث المختلفة في عزلة وتضخيم كمية الخلايا الجذعية المتوسطة. في المقابل، النتائج المبلغ عنها مشجعة وتبرر اعتماد CSM كعلاج تجريبي على مستوى مركز الأبحاث من أجل توحيد البروتوكولات العلاجية وتوحيد الأدلة على الفعالية والسلامة قبل تطبيقها على نطاق واسع.



BIBLIOGRAPHIE



1. **Maehle AH.**
Ambiguous Cells: The Emergence of the Stem Cell Concept in the Nineteenth and Twentieth Centuries.
Notes Rec R Soc Lond. 20 déc 2011;65(4):359-78.
2. **Bacakova L, Zarubova J, Travnickova M, Musilkova J, Pajorova J, Slepicka P, et al.**
Stem cells: their source, potency and use in regenerative therapies with focus on adipose-derived stem cells – a review.
Biotechnol Adv. août 2018;36(4):1111-26.
3. **Takahashi K, Tanabe K, Ohnuki M, Narita M, Ichisaka T, Tomoda K, et al.**
Induction of pluripotent stem cells from adult human fibroblasts by defined factors.
Cell. 30 nov 2007;131(5):861-72.
4. **Takahashi K, Yamanaka S.**
Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors.
Cell. 25 août 2006;126(4):663-76.
5. **De Coppi P, Bartsch G, Siddiqui MM, Xu T, Santos CC, Perin L, et al.**
Isolation of amniotic stem cell lines with potential for therapy.
Nat Biotechnol. janv 2007;25(1):100-6.
6. **Kieffer E, Kuntz S, Viville S.**
[An overview of pluripotent stem cell lines].
Med Sci (Paris). oct 2010;26(10):848-54.
7. **Pittenger MF, Mackay AM, Beck SC, Jaiswal RK, Douglas R, Mosca JD, et al.**
Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells.
Science. 2 avr 1999;284(5411):143-7.
8. **Sieveling DP, Ng MK.**
Thérapies cellulaires pour l'angiogenèse thérapeutique : retour au banc.
Vasc Med. 1 mai 2009;14(2):153-66.
9. **Molofsky AV, Pardoll R, Morrison SJ.**
Diverse mechanisms regulate stem cell self-renewal.
Curr Opin Cell Biol. déc 2004;16(6):700-7.
10. **Ulloa-Montoya F, Verfaillie CM, Hu WS.**
Culture systems for pluripotent stem cells.
J Biosci Bioeng. juill 2005;100(1):12-27.

11. **Pearson J, López-Onieva L, Rojas-Ríos P, González-Reyes A.**
Recent advances in *Drosophila* stem cell biology.
Int J Dev Biol. 1 nov 2009;53(8-9-10):1329-39.
12. **Smith A.**
A glossary for stem-cell biology.
Nature. 28 juin 2006;441:1060-1060.
13. **Greider CW, Blackburn EH.**
Identification of a specific telomere terminal transferase activity in *Tetrahymena* extracts.
Cell. déc 1985;43(2 Pt 1):405-13.
14. **Kalmbach KH, Antunes DMF, Dracxler RC, Knier TW, Seth-Smith ML, Wang F, et al.**
Telomeres and human reproduction.
Fertil Steril. janv 2013;99(1):10.1016/j.fertnstert.2012.11.039.
15. **Cohnheim J. Ueber**
Entzündung und Eiterung. *Archiv f pathol Anat.* 1 sept 1867;40(1):1-79.
16. **Friedenstein AJ, Gorskaja JF, Kulagina NN.**
Fibroblast precursors in normal and irradiated mouse hematopoietic organs.
Exp Hematol. sept 1976;4(5):267-74.
17. **Caplan AI.**
Mesenchymal stem cells.
J Orthop Res. sept 1991;9(5):641-50.
18. **Ishaq M, Bandara N, Morgan S, Nowell C, Mehdi AM, Lyu R, et al.**
Key signaling networks are dysregulated in patients with the adipose tissue disorder, lipedema.
Int J Obes. mars 2022;46(3):502-14.
19. **Young HE, Steele TA, Bray RA, Hudson J, Floyd JA, Hawkins K, et al.**
Human reserve pluripotent mesenchymal stem cells are present in the connective tissues of skeletal muscle and dermis derived from fetal, adult, and geriatric donors.
Anat Rec. 1 sept 2001;264(1):51-62.
20. **De Bari C, Dell'Accio F, Tylzanowski P, Luyten FP.**
Multipotent mesenchymal stem cells from adult human synovial membrane.
Arthritis Rheum. août 2001;44(8):1928-42.

21. **Salingcarnboriboon R, Yoshitake H, Tsuji K, Obinata M, Amagasa T, Nifuji A, et al.**
Establishment of tendon-derived cell lines exhibiting pluripotent mesenchymal stem cell-like property.
Exp Cell Res. 15 juill 2003;287(2):289-300.
22. **Hu Y, Liao L, Wang Q, Ma L, Ma G, Jiang X, et al.**
Isolation and identification of mesenchymal stem cells from human fetal pancreas.
J Lab Clin Med. mai 2003;141(5):342-9.
23. **Alsalameh S, Amin R, Gemba T, Lotz M.**
Identification of mesenchymal progenitor cells in normal and osteoarthritic human articular cartilage.
Arthritis Rheum. mai 2004;50(5):1522-32.
24. **Moretti P, Hatlapatka T, Marten D, Lavrentieva A, Majore I, Hass R, et al.**
Mesenchymal stromal cells derived from human umbilical cord tissues: primitive cells with potential for clinical and tissue engineering applications.
Adv Biochem Eng Biotechnol. 2010;123:29-54.
25. **Dominici M, Blanc KL, Mueller I, Slaper-Cortenbach I, Marini FC, Krause DS, et al.**
Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells.
The International Society for Cellular Therapy position statement. Cytotherapy. 1 janv 2006;8(4):315-7.
26. **Pittenger MF, Martin BJ.**
Mesenchymal stem cells and their potential as cardiac therapeutics.
Circ Res. 9 juill 2004;95(1):9-20.
27. **Raff MC.**
Surface antigenic markers for distinguishing T and B lymphocytes in mice.
Transplant Rev. 1971;6:52-80.
28. **Rege TA, Hagood JS.**
Thy-1 as a regulator of cell-cell and cell-matrix interactions in axon regeneration, apoptosis, adhesion, migration, cancer, and fibrosis.
FASEB J. juin 2006;20(8):1045-54.
29. **Hagood JS, Prabhakaran P, Kumbha P, Salazar L, MacEwen MW, Barker TH, et al.**
Loss of fibroblast Thy-1 expression correlates with lung fibrogenesis.
Am J Pathol. août 2005;167(2):365-79.

30. **Delorme B, Ringe J, Gallay N, Le Vern Y, Kerboeuf D, Jorgensen C, et al.**
Specific plasma membrane protein phenotype of culture–amplified and native human bone marrow mesenchymal stem cells.
Blood. 1 mars 2008;111(5):2631-5.
31. **Maleki M, Ghanbarvand F, Reza Behvarz M, Ejtemaei M, Ghadirkhomi E.**
Comparison of mesenchymal stem cell markers in multiple human adult stem cells.
Int J Stem Cells. nov 2014;7(2):118-26.
32. **Yoshimura K, Shigeura T, Matsumoto D, Sato T, Takaki Y, Aiba–Kojima E, et al.**
Characterization of freshly isolated and cultured cells derived from the fatty and fluid portions of liposuction aspirates.
J Cell Physiol. juill 2006;208(1):64-76.
33. **Kern S, Eichler H, Stoeve J, Klüter H, Bieback K.**
Comparative analysis of mesenchymal stem cells from bone marrow, umbilical cord blood, or adipose tissue.
Stem Cells. mai 2006;24(5):1294-301.
34. **Anderson P, Carrillo–Gálvez AB, García–Pérez A, Cobo M, Martín F.**
CD105 (Endoglin)–Negative Murine Mesenchymal Stromal Cells Define a New Multipotent Subpopulation with Distinct Differentiation and Immunomodulatory Capacities.
PLoS One. 4 oct 2013;8(10):e76979.
35. **Pham LH, Vu NB, Pham PV.**
The subpopulation of CD105 negative mesenchymal stem cells show strong immunomodulation capacity compared to CD105 positive mesenchymal stem cells.
Biomedical Research and Therapy. 30 avr 2019;6(4):3131-40.
36. **Colgan SP, Eltzschig HK, Eckle T, Thompson LF.**
Physiological roles for ecto–5′–nucleotidase (CD73).
Purinergic Signal. juin 2006;2(2):351-60.
37. **Ode A, Schoon J, Kurtz A, Gaetjen M, Ode JE, Geissler S, et al.**
CD73/5′–ecto–nucleotidase acts as a regulatory factor in osteo–/chondrogenic differentiation of mechanically stimulated mesenchymal stromal cells.
Eur Cell Mater. 8 janv 2013;25:37-47.
38. **Mongiú–Tortajada M, Roura S, Gálvez–Montón C, Franquesa M, Bayes–Genis A, Borràs FE.**
Mesenchymal Stem Cells Induce Expression of CD73 in Human Monocytes In Vitro and in a Swine Model of Myocardial Infarction In Vivo.
Front Immunol. 20 nov 2017;8:1577.

39. **Pontikoglou C, Deschaseaux F, Sensebé L, Papadaki HA.**
Bone marrow mesenchymal stem cells: biological properties and their role in hematopoiesis and hematopoietic stem cell transplantation.
Stem Cell Rev Rep. sept 2011;7(3):569-89.
40. **B P, J Z, R I, M K, M H, P B, et al.**
Healing of critically sized femoral defects, using genetically modified mesenchymal stem cells from human adipose tissue.
Tissue engineering [Internet]. févr 2005 [cité 24 oct 2022];11(1-2). Disponible sur: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15738667/>
41. **Aslan H, Zilberman Y, Kandel L, Liebergall M, Oskouian RJ, Gazit D, et al.**
Osteogenic Differentiation of Noncultured Immunoisolated Bone Marrow-Derived CD105+ Cells.
Stem Cells. 1 juill 2006;24(7):1728-37.
42. **Mollentze J, Durandt C, Pepper MS.**
An In Vitro and In Vivo Comparison of Osteogenic Differentiation of Human Mesenchymal Stromal/Stem Cells.
Stem Cells Int. 2021;2021:9919361.
43. **Johnstone B, Hering TM, Caplan AI, Goldberg VM, Yoo JU.**
In Vitro Chondrogenesis of Bone Marrow-Derived Mesenchymal Progenitor Cells.
Experimental Cell Research. 10 janv 1998;238(1):265-72.
44. **Khoo MLM, Shen B, Tao H, Ma DDF.**
Long-term serial passage and neuronal differentiation capability of human bone marrow mesenchymal stem cells.
Stem Cells Dev. oct 2008;17(5):883-96.
45. **Campard D, Lysy PA, Najimi M, Sokal EM.**
Native umbilical cord matrix stem cells express hepatic markers and differentiate into hepatocyte-like cells.
Gastroenterology. mars 2008;134(3):833-48.
46. **Figure 72 □: La plasticité des CSM. Les CSM sont généralement... [Internet]. ResearchGate. [cité 14 juill 2022].**
Disponible sur: https://www.researchgate.net/figure/La-plasticite-des-CSM-Les-CSM-sont-generalement-caracterisees-par-une-tripotence_fig38_337209553

47. **Chavakis E, Urbich C, Dimmeler S.**
Homing and engraftment of progenitor cells: A prerequisite for cell therapy.
Journal of Molecular and Cellular Cardiology. 1 oct 2008;45(4):514-22.

48. **Karp JM, Leng Teo GS.**
Mesenchymal stem cell homing: the devil is in the details.
Cell Stem Cell. 6 mars 2009;4(3):206-16.

49. **Chen J, Li Y, Wang L, Zhang Z, Lu D, Lu M, et al.**
Therapeutic benefit of intravenous administration of bone marrow stromal cells
after cerebral ischemia in rats.
Stroke. avr 2001;32(4):1005-11.

50. **François S, Bensidhoum M, Mouiseddine M, Mazurier C, Allenet B, Semont A, et al.**
Local irradiation not only induces homing of human mesenchymal stem cells at exposed
sites but promotes their widespread engraftment to multiple organs: a study of their
quantitative distribution after irradiation damage.
Stem Cells. avr 2006;24(4):1020-9.

51. **Li Y, Chen J, Zhang CL, Wang L, Lu D, Katakowski M, et al.**
Gliosis and brain remodeling after treatment of stroke in rats with marrow stromal cells.
Glia. févr 2005;49(3):407-17.

52. **Kidd S, Spaeth E, Dembinski JL, Dietrich M, Watson K, Klopp A, et al.**
Direct evidence of mesenchymal stem cell tropism for tumor and
wounding microenvironments using in vivo bioluminescent imaging.
Stem Cells. oct 2009;27(10):2614-23.

53. **Fritz V, Jorgensen C.**
Mesenchymal stem cells: an emerging tool for cancer targeting and therapy.
Curr Stem Cell Res Ther. janv 2008;3(1):32-42.

54. **Yagi H, Soto-Gutierrez A, Parekkadan B, Kitagawa Y, Tompkins RG, Kobayashi N, et al.**
Mesenchymal stem cells: Mechanisms of immunomodulation and homing.
Cell Transplant. 2010;19(6):667-79.

55. **Takahashi M, Suzuki E, Oba S, Nishimatsu H, Kimura K, Nagano T, et al.**
Adipose tissue-derived stem cells inhibit neointimal formation in a paracrine fashion in
rat femoral artery.
Am J Physiol Heart Circ Physiol. févr 2010;298(2):H415-423.

56. **Kwon HM, Hur SM, Park KY, Kim CK, Kim YM, Kim HS, et al.**
Multiple paracrine factors secreted by mesenchymal stem cells contribute to angiogenesis. *Vascul Pharmacol.* oct 2014;63(1):19-28.
57. **Mias C, Lairez O, Trouche E, Roncalli J, Calise D, Seguelas MH, et al.**
Mesenchymal stem cells promote matrix metalloproteinase secretion by cardiac fibroblasts and reduce cardiac ventricular fibrosis after myocardial infarction. *Stem Cells.* nov 2009;27(11):2734-43.
58. **Alfarano C, Roubex C, Chaaya R, Ceccaldi C, Calise D, Mias C, et al.**
Intraparenchymal injection of bone marrow mesenchymal stem cells reduces kidney fibrosis after ischemia-reperfusion in cyclosporine-immunosuppressed rats. *Cell Transplant.* 2012;21(9):2009-19.
59. **Bura A, Planat-Benard V, Bourin P, Silvestre JS, Gross F, Grolleau JL, et al.**
Phase I trial: the use of autologous cultured adipose-derived stroma/stem cells to treat patients with non-revascularizable critical limb ischemia. *Cytotherapy.* févr 2014;16(2):245-57.
60. **Hocking AM, Gibran NS.**
Mesenchymal stem cells: paracrine signaling and differentiation during cutaneous wound repair. *Exp Cell Res.* 15 août 2010;316(14):2213-9.
61. **Yoo SW, Kim SS, Lee SY, Lee HS, Kim HS, Lee YD, et al.**
Mesenchymal stem cells promote proliferation of endogenous neural stem cells and survival of newborn cells in a rat stroke model. *Exp Mol Med.* 31 août 2008;40(4):387-97.
62. **Dong F, Harvey J, Finan A, Weber K, Agarwal U, Penn MS.**
Myocardial CXCR4 expression is required for mesenchymal stem cell mediated repair following acute myocardial infarction. *Circulation.* 17 juill 2012;126(3):314-24.
63. **Manuguerra-Gagné R, Boulos PR, Ammar A, Leblond FA, Krosi G, Pichette V, et al.**
Transplantation of mesenchymal stem cells promotes tissue regeneration in a glaucoma model through laser-induced paracrine factor secretion and progenitor cell recruitment. *Stem Cells.* juin 2013;31(6):1136-48.

64. **Zhang YX, Yuan MZ, Cheng L, Lin LZ, Du HW, Chen RH, et al.**
Treadmillexerciseenhancestherapeuticpotency of transplantedbonemesenchymal stem cells in cerebralischemic rats via anti-apopticeffects.
BMC Neurosci. 5 sept 2015;16:56.
65. **Tögel F, Weiss K, Yang Y, Hu Z, Zhang P, Westenfelder C.**
Vasculotropic, paracrine actions of infusedmesenchymal stem cells are important to the recoveryfrom acute kidney injury.
Am J PhysiolRenalPhysiol. mai 2007;292(5):F1626-1635.
66. **Aggarwal S, Pittenger MF.**
Human mesenchymal stem cells modulateallogeneic immune cell responses.
Blood. 15 févr2005;105(4):1815-22.
67. **Meisel R, Zibert A, Laryea M, Göbel U, Däubener W, Dilloo D.**
Human bone marrow stromal cells inhibit allogeneic T-cell responses by indoleamine 2,3-dioxygenase-mediated tryptophandegradation.
Blood. 15 juin 2004;103(12):4619-21.
68. **Meirelles L da S, Fontes AM, Covas DT, Caplan AI.**
Mechanismsinvolved in the therapeuticproperties of mesenchymal stem cells.
Cytokine Growth Factor Rev. déc 2009;20(5-6):419-27.
69. **Ball LM, Bernardo ME, Roelofs H, van Tol MJD, Contoli B, Zwaginga JJ, et al.**
Multiple infusions of mesenchymal stromal cells inducесustainedremission in childrenwithsteroid-refractory, grade III-IV acute graft-versus-host disease.
Br J Haematol. nov 2013;163(4):501-9.
70. **Xu J, Wang D, Liu D, Fan Z, Zhang H, Liu O, et al.**
Allogeneicmesenchymal stem cell treatmentalleviatesexperimental and clinicalSjögren syndrome.
Blood. 11 oct2012;120(15):3142-51.
71. **Martino G, Franklin RJM, Baron Van Evercooren A, Kerr DA,**
Stem Cells in Multiple Sclerosis (STEMS) Consensus Group. Stem cell transplantation in multiple sclerosis:current status and future prospects.
Nat RevNeurol. mai 2010;6(5):247-55.
72. **Bouffi C, Djouad F, Mathieu M, Noël D, Jorgensen C.**
Multipotent mesenchymal stromal cells and rheumatoidarthritis:risk or benefit?
Rheumatology (Oxford). oct 2009;48(10):1185-9.

73. **Fiorina P, Jurewicz M, Augello A, Vergani A, Dada S, La Rosa S, et al.**
Immunomodulatory function of bone marrow-derived mesenchymal stem cells in experimental autoimmune type 1 diabetes.
J Immunol. 15 juill 2009;183(2):993-1004.
74. **Liang J, Zhang H, Hua B, Wang H, Lu L, Shi S, et al.**
Allogeneic mesenchymal stem cells transplantation in refractory systemic lupus erythematosus: a pilot clinical study.
Ann Rheum Dis. août 2010;69(8):1423-9.
75. **Dalal J, Gandy K, Domen J.**
Role of mesenchymal stem cell therapy in Crohn's disease.
Pediatr Res. avr 2012;71(4 Pt 2):445-51.
76. **Shao J, Zhang W, Yang T.**
Using mesenchymal stem cells as a therapy for bone regeneration and repairing.
Biol Res. 3 nov 2015;48:62.
77. **Spees JL, Lee RH, Gregory CA.**
Mechanisms of mesenchymal stem/stromal cell function.
Stem Cell Research & Therapy. 31 août 2016;7(1):125.
78. **Iso Y, Spees JL, Serrano C, Bakondi B, Pochampally R, Song YH, et al.**
Multipotent human stromal cells improve cardiac function after myocardial infarction in mice without long-term graftment.
Biochem Biophys Res Commun. 16 mars 2007;354(3):700-6.
79. **Dai W, Hale SL, Martin BJ, Kuang JQ, Dow JS, Wold LE, et al.**
Allogeneic mesenchymal stem cell transplantation in postinfarcted rat myocardium: short- and long-term effects.
Circulation. 12 juill 2005;112(2):214-23.
80. **Theise ND.**
On experimental design and discourse in plasticity research.
Stem Cell Rev. 2005;1(1):9-13.
81. **Prockop DJ, Oh JY.**
Medical Therapies with Adult Stem/Progenitor Cells (MSCs): A Backward Journey from Dramatic Results in Vivo to the Cellular and Molecular Explanations.
J Cell Biochem. mai 2012;113(5):1460-9.

82. **Alvarez-Dolado M, Pardo R, Garcia-Verdugo JM, Fike JR, Lee HO, Pfeffer K, et al.**
Fusion of bone-marrow-derived cells with Purkinje neurons, cardiomyocytes and hepatocytes.
Nature. oct 2003;425(6961):968-73.
83. **Caplan AI, Dennis JE.**
Mesenchymal stem cells as trophic mediators.
J Cell Biochem. 1 août 2006;98(5):1076-84.
84. **Rustom A, Saffrich R, Markovic I, Walther P, Gerdes HH.**
Nanotubular highways for intercellular organelle transport.
Science. 13 févr 2004;303(5660):1007-10.
85. **Spees JL, Olson SD, Whitney MJ, Prockop DJ.**
Mitochondrial transfer between cells can rescue aerobic respiration.
Proc Natl Acad Sci U S A. 31 janv 2006;103(5):1283-8.
86. **Islam MN, Das SR, Emin MT, Wei M, Sun L, Westphalen K, et al.**
Mitochondrial transfer from bone-marrow-derived stromal cells to pulmonary alveoli protects against acute lung injury.
Nat Med. 15 avr 2012;18(5):759-65.
87. **Trams EG, Lauter CJ, Salem N, Heine U.**
Exfoliation of membrane ecto-enzymes in the form of micro-vesicles.
Biochim Biophys Acta. 6 juill 1981;645(1):63-70.
88. **Yeo RWY, Lai RC, Tan KH, Lim SK.**
Exosome : un raffinement thérapeutique nouveau et plus sûr des cellules souches mésenchymateuses.
Exosomes and Microvesicles. 1 janv 2013;1:7.
89. **Lai RC, Arslan F, Lee MM, Sze NSK, Choo A, Chen TS, et al.**
Exosome secreted by MSC reduces myocardial ischemia/reperfusion injury.
Stem Cell Res. mai 2010;4(3):214-22.
90. **Budoni M, Fierabracci A, Luciano R, Petrini S, Di Ciommo V, Muraca M.**
L'effet immunosuppresseur des cellules stromales mésenchymateuses sur les lymphocytes B est médié par les vésicules membranaires.
Cell Transplant. 1 févr 2013;22(2):369-79.

91. **Kordelas L, Rebmann V, Ludwig AK, Radtke S, Ruesing J, Doeppner TR, et al.**
MSC-derived exosomes: a novel tool to treat therapy-refractory graft-versus-host disease.
Leukemia. avr 2014;28(4):970-3.
92. **Tan CY, Lai RC, Wong W, Dan YY, Lim SK, Ho HK.**
Mesenchymal stem cell-derived exosomes promote hepatic regeneration in drug-induced liver injury models.
Stem Cell Res Ther. 10 juin 2014;5(3):76.
93. **Akyurekli C, Le Y, Richardson RB, Fergusson D, Tay J, Allan DS.**
A Systematic Review of Preclinical Studies on the Therapeutic Potential of Mesenchymal Stromal Cell-Derived Microvesicles.
Stem Cell Rev and Rep. 1 févr 2015;11(1):150-60.
94. **Baglio SR, Pegtel DM, Baldini N.**
Mesenchymal stem cell secreted vesicles provide novel opportunities in (stem) cell-free therapy.
Front Physiol. 2012;3:359.
95. **Pountos I, Giannoudis PV.**
Biology of mesenchymal stem cells.
Injury. nov 2005;36 Suppl 3:S8-12.
96. **Wegmeyer H, Bröske AM, Leddin M, Kuentzer K, Nisslbeck AK, Hupfeld J, et al.**
Mesenchymal stromal cell characteristics vary depending on their origin.
Stem Cells Dev. 1 oct 2013;22(19):2606-18.
97. **Nery AA, Nascimento IC, Glaser T, Bassaneze V, Krieger JE, Ulrich H.**
Human mesenchymal stem cells: from immunophenotyping by flow cytometry to clinical applications.
Cytometry A. janv 2013;83(1):48-61.
98. **Tonk CH, Witzler M, Schulze M, Tobiasch E.**
Mesenchymal Stem Cells. In: Brand-Saberi B, éditeur. *Essential Current Concepts in Stem Cell Biology* [Internet].
Cham: Springer International Publishing; 2020 [cité 25 oct 2022]. p. 21-39. (Learning Materials in Biosciences). Disponible sur: https://doi.org/10.1007/978-3-030-33923-4_2

99. **Mimeault M, Batra SK.**
Concise review: recent advances on the significance of stem cells in tissue regeneration and cancer therapies.
Stem Cells. nov 2006;24(11):2319-45.
100. **Herzog EL, Chai L, Krause DS.**
Plasticity of marrow-derived stem cells.
Blood. 15 nov 2003;102(10):3483-93.
101. **Gronthos S, Zannettino ACW, Hay SJ, Shi S, Graves SE, Kortessidis A, et al.**
Molecular and cellular characterisation of highly purified stromal stem cells derived from human bone marrow.
J Cell Sci. 1 mai 2003;116(Pt 9):1827-35.
102. **Mizuno H.**
Adipose-derived stem cells for tissue repair and regeneration: ten years of research and a literature review.
J Nippon Med Sch. avr 2009;76(2):56-66.
103. **Yoshimura H, Muneta T, Nimura A, Yokoyama A, Koga H, Sekiya I.**
Comparison of rat mesenchymal stem cells derived from bone marrow, synovium, periosteum, adipose tissue, and muscle.
Cell Tissue Res. mars 2007;327(3):449-62.
104. **Bunnell BA, Estes BT, Guilak F, Gimble JM.**
Differentiation of adipose stem cells.
Methods Mol Biol. 2008;456:155-71.
105. **Girolamo L de, Lopa S, Arrigoni E, Sartori MF, Baruffaldi Preis FW, Brini AT.**
Human adipose-derived stem cells isolated from young and elderly women: their differentiation potential and scaffold interaction during in vitro osteoblastic differentiation.
Cytotherapy. 1 janv 2009;11(6):793-803.
106. **Madonna R, Renna FV, Cellini C, Cotellese R, Picardi N, Francomano F, et al.**
Age-dependent impairment of number and angiogenic potential of adipose tissue-derived progenitor cells.
European Journal of Clinical Investigation. 2011;41(2):126-33.

107. **Anatomie Du Cordon Ombilical. Deux Veines Ombilicales Et Une Artère Ombilicale**
Illustration Stock – Illustration du mère, bleu: 176551916 [Internet]. [cité 14 juill 2022].
Disponible sur: <https://fr.dreamstime.com/anatomie-du-cordon-ombilical-deux-veines-ombilicales-artere-ombilicale-situees-a-l-interieur-vien-bleue-rouge-image176551916>
108. **Lee OK, Kuo TK, Chen WM, Lee KD, Hsieh SL, Chen TH.**
Isolation of multipotent mesenchymal stem cells from umbilical cord blood.
Blood. 1 mars 2004;103(5):1669-75.
109. **Bieback K, Kern S, Klüter H, Eichler H.**
Critical parameters for the isolation of mesenchymal stem cells from umbilical cord blood.
Stem Cells. 2004;22(4):625-34.
110. **Lin Y, Zhu W, Chen X.**
The involving progress of MSCs based therapy in atherosclerosis.
Stem Cell Research & Therapy. 5 juin 2020;11(1):216.
111. **Zeddou M, Briquet A, Relic B, Josse C, Malaise MG, Gothot A, et al.**
The umbilical cord matrix is a better source of mesenchymal stem cells (MSC) than the umbilical cord blood.
Cell Biol Int. juill 2010;34(7):693-701.
112. **Fukumoto T, Sperling JW, Sanyal A, Fitzsimmons JS, Reinholz GG, Conover CA, et al.**
Combined effects of insulin-like growth factor-1 and transforming growth factor- β 1 on periosteal mesenchymal cells during chondrogenesis in vitro.
Osteoarthritis and Cartilage. 1 janv 2003;11(1):55-64.
113. **Nöth U, Osyczka AM, Tuli R, Hickok NJ, Danielson KG, Tuan RS.**
Multilineage mesenchymal differentiation potential of human trabecular bone-derived cells.
J Orthop Res. sept 2002;20(5):1060-9.
114. **Kuznetsov SA, Mankani MH, Gronthos S, Satomura K, Bianco P, Robey PG.**
Circulating skeletal stem cells.
J Cell Biol. 28 mai 2001;153(5):1133-40.
115. **Abedin M, Tintut Y, Demer LL.**
Mesenchymal stem cells and the artery wall.
Circ Res. 1 oct 2004;95(7):671-6.

116. **Jones EA, English A, Henshaw K, Kinsey SE, Markham AF, Emery P, et al.**
Enumeration and phenotypic characterization of synovial fluid multipotential mesenchymal progenitor cells in inflammatory and degenerative arthritis.
Arthritis Rheum. mars 2004;50(3):817-27.
117. **Sugiura F, Kitoh H, Ishiguro N.**
Osteogenic potential of rat mesenchymal stem cells after several passages.
Biochem Biophys Res Commun. 26 mars 2004;316(1):233-9.
118. **Sabatini F, Petecchia L, Tavian M, Jodon de Villeroché V, Rossi GA, Brouty-Boyé D.**
Human bronchial fibroblasts exhibit a mesenchymal stem cell phenotype and multilineage differentiating potentialities.
Lab Invest. août 2005;85(8):962-71.
119. **Caen J, Caen MM, Cazenave C, Jouannet J, Mignon M, Uzan U, et al.**
Les cellules souches du cordon et du placenta : de la recherche aux applications thérapeutiques.
Bulletin de l'Académie Nationale de Médecine. 1 janv 2010;194(1):141-52.
120. **Charbord P, Casteilla L.**
La biologie des cellules souches mésenchymateuses d'origine humaine.
Med Sci (Paris). mars 2011;27(3):261-7.
121. **Bain BJ.**
Bone marrow aspiration.
J Clin Pathol. sept 2001;54(9):657-63.
122. **arthrose du genou, extraction transplantation cellules souches, Dr Michel Assor, chirurgien orthopédique à Marseille [Internet].**
STEMS-CELLS – KNEE INSTITUTE ARTHROSPORT. [cité 18 oct 2022]. Disponible sur: <http://www.stems-cells.com/extraction-et-transplantation.html>
123. **Chamberlain G, Fox J, Ashton B, Middleton J.**
Concise review: mesenchymal stem cells: their phenotype, differentiation capacity, immunological features, and potential for homing.
Stem Cells. nov 2007;25(11):2739-49.
124. **Stolzing A, Jones E, McGonagle D, Scutt A.**
Age-related changes in human bone marrow-derived mesenchymal stem cells: consequences for cell therapies.
Mech Ageing Dev. mars 2008;129(3):163-73.

125. **Castro–Malaspina H, Gay RE, Resnick G, Kapoor N, Meyers P, Chiarieri D, et al.**
Characterization of Human Bone Marrow Fibroblast Colony–Forming Cells (CFU–F) and Their Progeny.
Blood. 1 août 1980;56(2):289-301.
126. **Mueller SM, Glowacki J.**
Age–related decline in the osteogenic potential of human bone marrow cells cultured in three–dimensional collagen sponges.
Journal of Cellular Biochemistry. 2001;82(4):583-90.
127. **Rosset P, Deschaseaux F, Layrolle P.**
Cell therapy for bone repair.
Orthop Traumatol Surg Res. févr 2014;100(1 Suppl):S107–112.
128. **Rose JG, Lucarelli MJ, Lemke BN, Dortzbach RK, Boxrud CA, Obagi S, et al.**
Histologic comparison of autologous fat processing methods.
Ophthalmic Plast Reconstr Surg. juin 2006;22(3):195-200.
129. **Condé–Green A, de Amorim NFG, Pitanguy I.**
Influence of decantation, washing and centrifugation on adipocyte and mesenchymal stem cell content of aspirated adipose tissue: a comparative study.
J Plast Reconstr Aesthet Surg. août 2010;63(8):1375-81.
130. **Raposo E, Caruana G, Petrella M, Bonomini S, Grieco MP.**
A Standardized Method of Isolating Adipose–Derived Stem Cells for Clinical Applications.
Ann Plast Surg. janv 2016;76(1):124-6.
131. **Magalon J, François P, Velier M, Grimaud F, Veran J, Calmels B, et al.**
Thérapie cellulaire et cellules souches en 2018.
Revue Francophone des Laboratoires. 1 déc 2018;2018(507):34-43.
132. **Salehinejad P, Alitheen NB, Ali AM, Omar AR, Mohit M, Janzamin E, et al.**
Comparison of different methods for the isolation of mesenchymal stem cells from human umbilical cord Wharton’s jelly.
In Vitro Cell Dev Biol–Animal. 1 févr 2012;48(2):75-83.
133. **Tsagias N, Koliakos I, Karagiannis V, Eleftheriadou M, Koliakos GG.**
Isolation of mesenchymal stem cells using the total length of umbilical cord for transplantation purposes.
Transfusion Medicine. 2011;21(4):253-61.

134. **Majore I, Moretti P, Hass R, Kasper C.**
Identification of subpopulations in mesenchymal stem cell-like cultures from human umbilical cord.
Cell Commun Signal. 20 mars 2009;7:6.
135. **Margossian T.**
Caractérisation des cellules souches mésenchymateuses du sang placentaire et de la gelée de Wharton. :181.
136. **Bieback K, Kern S, Klüter H, Eichler H.**
Critical parameters for the isolation of mesenchymal stem cells from umbilical cord blood.
Stem Cells. 2004;22(4):625-34.
137. **Lee OK, Kuo TK, Chen WM, Lee KD, Hsieh SL, Chen TH.**
Isolation of multipotent mesenchymal stem cells from umbilical cord blood.
Blood. 1 mars 2004;103(5):1669-75.
138. **Park JH, Kim DY, Sung IY, Choi GH, Jeon MH, Kim KK, et al.**
Long-term results of spinal cord injury therapy using mesenchymal stem cells derived from bone marrow in humans.
Neurosurgery. mai 2012;70(5):1238-47; discussion 1247.
139. **Garcia-Olmo D, Herreros D, Pascual I, Pascual JA, Del-Valle E, Zorrilla J, et al.**
Expanded adipose-derived stem cells for the treatment of complex perianal fistula: a phase II clinical trial.
Dis Colon Rectum. janv 2009;52(1):79-86.
140. **Al-Najar M, Khalil H, Al-Ajlouni J, Al-Antary E, Hamdan M, Rahmeh R, et al.**
Intra-articular injection of expanded autologous bone marrow mesenchymal cells in moderate and severe knee osteoarthritis is safe: a phase I/II study.
J Orthop Surg Res. 12 déc 2017;12(1):190.
141. **McBride SH, Knothe Tate ML.**
Modulation of stem cell shape and fate A: the role of density and seeding protocol on nucleus shape and gene expression.
Tissue Eng Part A. sept 2008;14(9):1561-72.
142. **Song IH, Caplan AI, Dennis JE.**
Dexamethasone inhibition of confluence-induced apoptosis in human mesenchymal stem cells.
J Orthop Res. févr 2009;27(2):216-21.

- 143. Garg A, Houlihan DD, Aldridge V, Suresh S, Li KK, King AL, et al.**
Non-enzymatic dissociation of humanmesenchymal stromal cells improves chemokine-dependent migration and maintains immunosuppressive function.
Cytotherapy. avr 2014;16(4):545-59.
- 144. Timmins NE, Kiel M, Günther M, Heazlewood C, Doran MR, Brooke G, et al.**
Closed system isolation and scalable expansion of humanplacentalmesenchymal stem cells.
BiotechnolBioeng. juill 2012;109(7):1817-26.
- 145. Croughan MS, Hamel JF, Wang DI.**
Effects of microcarrier concentration in animal cell culture.
BiotechnolBioeng. 5 oct1988;32(8):975-82.
- 146. Cherry RS, Papoutsakis ET.**
Physical mechanisms of cell damage in microcarrier cell culture bioreactors.
BiotechnolBioeng. 5 oct1988;32(8):1001-14.
- 147. Yang HS, Jeon O, Bhang SH, Lee SH, Kim BS.**
Suspension culture of mammalian cells usingthermosensitivemicrocarrierthatalloes cell detachmentwithoutproteolytic enzyme treatment.
Cell Transplant. 2010;19(9):1123-32.
- 148. Bertolo A, Häfner S, Taddei AR, Baur M, Pötzel T, Steffen F, et al.**
Injectable microcarriers as humanmesenchymal stem cell support and their application for cartilage and degeneratedintervertebral disc repair.
Eur Cell Mater. 12 janv2015;29:70-80; discussion 80-81.
- 149. Benders KEM, van Weeren PR, Badylak SF, Saris DBF, Dhert WJA, Malda J.**
Extracellular matrix scaffolds for cartilage and boneregeneration.
Trends Biotechnol. mars 2013;31(3):169-76.
- 150. Zhang S, Liu P, Chen L, Wang Y, Wang Z, Zhang B.**
The effects of spheroid formation of adipose-derived stem cells in a microgravitybioreactor on stemnessproperties and therapeuticpotential.
Biomaterials. févr 2015;41:15-25.
- 151. Bartosh TJ, Ylöstalo JH, Mohammadipoor A, Bazhanov N, Coble K, Claypool K, et al.**
Aggregation of humanmesenchymal stromal cells (MSCs) into 3D spheroidsenhancestheirantiinflammatoryproperties.
Proc NatlAcadSci U S A. 3 août 2010;107(31):13724-9.

152. **Wang YH, Wu JY, Chou PJ, Chen CH, Wang CZ, Ho ML, et al.**
Characterization and evaluation of the differentiationability of human adipose-derived stem cells growing in scaffold-free suspension culture.
Cytotherapy. avr 2014;16(4):485-95.
153. **Rafiq QA, Hanga MP, Heathman TRJ, Coopman K, Nienow AW, Williams DJ, et al.**
Process development of human multipotent stromal cell microcarrier culture using an automated high-throughputmicrobioreactor.
BiotechnolBioeng. oct 2017;114(10):2253-66.
154. **Schallmoser K, Rohde E, Reinisch A, Bartmann C, Thaler D, Drexler C, et al.**
Rapid Large-Scale Expansion of Functional Mesenchymal Stem Cells fromUnmanipulated Bone Marrow Without Animal Serum.
Tissue Engineering Part C: Methods. sept 2008;14(3):185-96.
155. **Schirmaier C, Jossen V, Kaiser SC, Jüngerkes F, Brill S, Safavi-Nab A, et al.**
Scale-up of adipose tissue-derived mesenchymal stem cell production in stirred single-use bioreactorsunderlow-serum conditions.
Engineering in Life Sciences. 2014;14(3):292-303.
156. **Singh V.**
Disposablebioreactor for cell culture usingwave-induced agitation.
Cytotechnology. juill 1999;30(1-3):149-58.
157. **Timmins NE, Kiel M, Günther M, Heazlewood C, Doran MR, Brooke G, et al.**
Closed system isolation and scalable expansion of humanplacentalmesenchymal stem cells.
BiotechnolBioeng. juill 2012;109(7):1817-26.
158. **Schwarz RP, Goodwin TJ, Wolf DA.**
Cell culture for three-dimensional modeling in rotating-wallvessels: an application of simulatedmicrogravity.
J Tissue Cult Methods. 1992;14(2):51-7.
159. **Neumann A, Lavrentieva A, Heilkenbrinker A, Loenne M, Kasper C.**
Characterization and Application of a DisposableRotatingBedBioreactor for Mesenchymal Stem Cell Expansion.
Bioengineering (Basel). 27 nov2014;1(4):231-45.
160. **Weber C, Pohl S, Pörtner R, Wallrapp C, Kassem M, Geigle P, et al.**
Cultivation and Differentiation of EncapsulatedhMSC-TERT in a Disposable Small-Scale Syringe-Like FixedBedReactor.
Open Biomed Eng J. 29 oct2007;1:64-70.

161. **Knazek RA, Gullino PM, Kohler PO, Dedrick RL.**
Cell culture on artificial capillaries: an approach to tissue growth in vitro.
Science. 6 oct 1972;178(4056):65-6.
162. **Hanley PJ, Mei Z, Durett AG, Cabreira-Hansen M da G, Cabreira-Harrison M da G, Klis M, et al.**
Efficient manufacturing of therapeutic mesenchymal stromal cells with the use of the Quantum Cell Expansion System.
Cytotherapy. août 2014;16(8):1048-58.
163. **Martin C.**
Étude des procédés d'amplification de cellules souches mésenchymateuses humaines.
:380.
164. **Barbash IM, Chouraqui P, Baron J, Feinberg MS, Etzion S, Tessone A, et al.**
Systemic delivery of bone marrow-derived mesenchymal stem cells to the infarcted myocardium: feasibility, cell migration, and body distribution.
Circulation. 19 août 2003;108(7):863-8.
165. **Lim YL, Eom YW, Park SJ, Hong T, Kang SH, Baik SK, et al.**
Bone Marrow-Derived Mesenchymal Stem Cells Isolated from Patients with Cirrhosis and Healthy Volunteers Show Comparable Characteristics.
Int J Stem Cells. 31 août 2020;13(3):394-403.
166. **Nagaya N, Fujii T, Iwase T, Ohgushi H, Itoh T, Uematsu M, et al.**
Intravenous administration of mesenchymal stem cells improves cardiac function in rats with acute myocardial infarction through angiogenesis and myogenesis.
Am J Physiol Heart Circ Physiol. déc 2004;287(6):H2670-2676.
167. **Kurtz A.**
Mesenchymal stem cell delivery routes and fate.
Int J Stem Cells. nov 2008;1(1):1-7.
168. **Galipeau J, Sensébé L.**
Mesenchymal Stromal Cells: Clinical Challenges and Therapeutic Opportunities.
Cell Stem Cell. 1 juin 2018;22(6):824-33.
169. **Watanabe M, Yavagal DR.**
Intra-arterial delivery of mesenchymal stem cells.
Brain Circ. sept 2016;2(3):114-7.

170. **von Roth P, Duda GN, Radojewski P, Preininger B, Strohschein K, Röhner E, et al.**
Intra-Arterial MSC Transplantation Restores Functional Capacity After Skeletal Muscle Trauma.
Open Orthop J. 2012;6:352-6.
171. **Na Kim H, Yeol Kim D, Hee Oh S, Sook Kim H, Suk Kim K, Hyu Lee P.**
Feasibility and Efficacy of Intra-Arterial Administration of Mesenchymal Stem Cells in an Animal Model of Double Toxin-Induced Multiple System Atrophy.
Stem Cells Transl Med. mai 2017;6(5):1424-33.
172. **Vulliet PR, Greeley M, Halloran SM, MacDonald KA, Kittleson MD.**
Intra-coronary arterial injection of mesenchymal stromal cells and microinfarction in dogs.
Lancet. 6 mars 2004;363(9411):783-4.
173. **Braid LR, Wood CA, Wiese DM, Ford BN.**
Intramuscular administration potentiates extended dwell time of mesenchymal stromal cells compared to other routes.
Cytotherapy. févr 2018;20(2):232-44.
174. **Caplan H, Olson SD, Kumar A, George M, Prabhakara KS, Wenzel P, et al.**
Mesenchymal Stromal Cell Therapeutic Delivery: Translational Challenges to Clinical Application.
Front Immunol. 2019;10:1645.
175. **Hanson SE, Bentz ML, Hematti P.**
Mesenchymal stem cell therapy for nonhealing cutaneous wounds.
Plast Reconstr Surg. févr 2010;125(2):510-6.
176. **Falanga V, Iwamoto S, Chartier M, Yufit T, Butmarc J, Kouttab N, et al.**
Autologous bone marrow-derived cultured mesenchymal stem cells delivered in a fibrin spray accelerate healing in murine and human cutaneous wounds.
Tissue Eng. juin 2007;13(6):1299-312.
177. **Kan C, Chen L, Hu Y, Lu H, Li Y, Kessler JA, et al.**
Microenvironmental factors that regulate mesenchymal stem cells: lessons learned from the study of heterotopic ossification.
Histol Histopathol. oct 2017;32(10):977-85.
178. **Caplan H, Olson SD, Kumar A, George M, Prabhakara KS, Wenzel P, et al.**
Mesenchymal Stromal Cell Therapeutic Delivery: Translational Challenges to Clinical Application.
Frontiers in Immunology [Internet]. 2019 [cité 8 mai 2022];10. Disponible sur:
<https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fimmu.2019.01645>

179. **Nijboer CH, Kooijman E, van Velthoven CT, van Tilborg E, Tiebosch IA, Eijkelkamp N, et al.**
Intranasal Stem Cell Treatment as a Novel Therapy for Subarachnoid Hemorrhage.
Stem Cells Dev. 1 mars 2018;27(5):313-25.
180. **Schäfer S, Berger JV, Deumens R, Goursaud S, Hanisch UK, Hermans E.**
Influence of intrathecal delivery of bone marrow-derived mesenchymal stem cells on spinal inflammation and pain hypersensitivity in a rat model of peripheral nerve injury.
J Neuroinflammation. 12 sept 2014;11:157.
181. **Petrou P, Gothelf Y, Argov Z, Gotkine M, Levy YS, Kassis I, et al.**
Safety and Clinical Effects of Mesenchymal Stem Cells Secreting Neurotrophic Factor Transplantation in Patients With Amyotrophic Lateral Sclerosis: Results of Phase 1/2 and 2a Clinical Trials.
JAMA Neurol. mars 2016;73(3):337-44.
182. **Hlebokazov F, Dakukina T, Ihnatsenko S, Kosmacheva S, Potapnev M, Shakhbazov A, et al.**
Treatment of refractory epilepsy patients with autologous mesenchymal stem cells reduces seizure frequency: An open label study.
Adv Med Sci. sept 2017;62(2):273-9.
183. **Junyi L, Na L, Yan J.**
Mesenchymal stem cells secrete brain-derived neurotrophic factor and promote retinal ganglion cell survival after traumatic optic neuropathy.
J Craniofac Surg. mars 2015;26(2):548-52.
184. **Satarian L, Nourinia R, Safi S, Kanavi MR, Jarughi N, Daftarian N, et al.**
Intravitreal Injection of Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells in Patients with Advanced Retinitis Pigmentosa: a Safety Study.
J Ophthalmic Vis Res. mars 2017;12(1):58-64.
185. **Wright A, Arthaud-Day ML, Weiss ML.**
Therapeutic Use of Mesenchymal Stromal Cells: The Need for Inclusive Characterization Guidelines to Accommodate All Tissue Sources and Species.
Frontiers in Cell and Developmental Biology [Internet]. 2021 [cité 25 oct 2022];9.
Disponible sur: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fcell.2021.632717>
186. **Masson E.**
Approches thérapeutiques de la gonarthrose [Internet].
EM-Consulte. [cité 13 mai 2022]. Disponible sur: <https://www.em-consulte.com/article/1079519/approches-therapeutiques-de-la-gonarthrose>

187. **Maumus M, Pers YM, Ruiz M, Jorgensen C, Noël D.**
Cellules souches mésenchymateuses et médecine régénératrice – Quel avenir pour l’arthrose□?
Med Sci (Paris). 1 déc2018;34(12):1092-9.
188. **Gupta PK, Das AK, Chullikana A, Majumdar AS.**
Mesenchymal stem cells for cartilage repair in osteoarthritis.
Stem Cell Res Ther. 9 juill2012;3(4):25.
189. **Wittig O, Romano E, González C, Diaz–Solano D, Marquez ME, Tovar P, et al.**
A method of treatment for nonunion after fractures using mesenchymal stromal cells loaded on collagen microspheres and incorporated into platelet–rich plasma clots.
Int Orthop. mai 2016;40(5):1033-8.
190. **Zhang ZY, Teoh SH, Chong MSK, Lee ESM, Tan LG, Mattar CN, et al.**
Neo–vascularization and bone formation mediated by fetal mesenchymal stem cell tissue–engineered bone grafts in critical–size femoral defects.
Biomaterials. févr 2010;31(4):608-20.
191. **Quarto R, Mastrogiacomo M, Cancedda R, Kutepov SM, Mukhachev V, Lavroukov A, et al.**
Repair of large bone defects with the use of autologous bone marrow stromal cells.
N Engl J Med. 1 févr2001;344(5):385-6.
192. **Warnke PH, Springer ING, Wiltfang J, Acil Y, Eufinger H, Wehmöller M, et al.**
Growth and transplantation of a custom vascularised bone graft in a man.
Lancet. 28 sept 2004;364(9436):766-70.
193. **Morishita T, Honoki K, Ohgushi H, Kotobuki N, Matsushima A, Takakura Y.**
Tissue engineering approach to the treatment of bone tumors: three cases of cultured bone grafts derived from patients’ mesenchymal stem cells.
Artif Organs. févr 2006;30(2):115-8.
194. **Horwitz EM, Prockop DJ, Fitzpatrick LA, Koo WW, Gordon PL, Neel M, et al.**
Transplantability and therapeutic effects of bone marrow–derived mesenchymal cells in children with osteogenesis imperfecta.
Nat Med. mars 1999;5(3):309-13.
195. **Horwitz EM, Gordon PL, Koo WKK, Marx JC, Neel MD, McNall RY, et al.**
Isolated allogeneic bone marrow–derived mesenchymal cells engraft and stimulate growth in children with osteogenesis imperfecta: Implications for cell therapy of bone.
Proc Natl Acad Sci U S A. 25 juin 2002;99(13):8932-7.

196. **Le Blanc K, Götherström C, Ringdén O, Hassan M, McMahon R, Horwitz E, et al.**
Fetal mesenchymal stem-cell engraftment in bone after in utero transplantation in a patient with severe osteogenesis imperfecta.
Transplantation. 15 juin 2005;79(11):1607-14.
197. **Mazini L, Rochette L, Admou B, Amal S, Malka G.**
Hopes and Limits of Adipose-Derived Stem Cells (ADSCs) and Mesenchymal Stem Cells (MSCs) in Wound Healing.
Int J Mol Sci. 14 févr 2020;21(4):E1306.
198. **Phinney DG, Prockop DJ.**
Concise review: mesenchymal stem/multipotent stromal cells: the state of transdifferentiation and modes of tissue repair--current views.
Stem Cells. nov 2007;25(11):2896-902.
199. **Domaszewska-Szostek AP, Krzyżanowska MO, Czarnecka AM, Siemionow M.**
Local Treatment of Burns with Cell-Based Therapies Tested in Clinical Studies.
J Clin Med. 21 janv 2021;10(3):396.
200. **Kim WS, Park BS, Park SH, Kim HK, Sung JH.**
Antiwrinkle effect of adipose-derived stem cell: activation of dermal fibroblast by secretory factors.
J Dermatol Sci. févr 2009;53(2):96-102.
201. **Kim JH, Jung M, Kim HS, Kim YM, Choi EH.**
Adipose-derived stem cells as a new therapeutic modality for ageing skin.
Exp Dermatol. mai 2011;20(5):383-7.
202. **Fukuoka H, Narita K, Suga H.**
Hair Regeneration Therapy: Application of Adipose-Derived Stem Cells.
Curr Stem Cell Res Ther. 2017;12(7):531-4.
203. **Sadan O, Melamed E, Offen D.**
Bone-marrow-derived mesenchymal stem cell therapy for neurodegenerative diseases.
Expert Opin Biol Ther. déc 2009;9(12):1487-97.
204. **Pal R, Venkataramana NK, Bansal A, Balaraju S, Jan M, Chandra R, et al.**
Ex vivo-expanded autologous bone marrow-derived mesenchymal stromal cells in human spinal cord injury/paraplegia: a pilot clinical study.
Cytotherapy. 2009;11(7):897-911.

- 205. Cantinieaux D.**
Le milieu conditionné de cellules souches mésenchymateuses: une alternative prometteuse à la transplantation de cellules souches mésenchymateuses après lésion de la moelle épinière [Internet]. 2014 [cité 15 mai 2022].
Disponible sur: <http://bictel.ulg.ac.be/ETD-db/collection/available/ULgetd-10122013-233523/>
- 206. Peister A, Zeitouni S, Pfankuch T, Reger RL, Prockop DJ, Raber J.**
Novel object recognition in Apoe(-/-) mice improved by neonatal implantation of wild-type multipotential stromal cells.
ExpNeurol. sept 2006;201(1):266-9.
- 207. Cui Y, Ma S, Zhang C, Cao W, Liu M, Li D, et al.**
Human umbilical cord mesenchymal stem cells transplantation improves cognitive function in Alzheimer's disease mice by decreasing oxidative stress and promoting hippocampal neurogenesis.
Behav Brain Res. 1 mars 2017;320:291-301.
- 208. Kim S, Chang KA, Kim J a, Park HG, Ra JC, Kim HS, et al.**
The preventive and therapeutic effects of intravenous human adipose-derived stem cells in Alzheimer's disease mice.
PLoS One. 2012;7(9):e45757.
- 209. Aaroe AE, Henchcliffe C.**
Chapter 12 – Promises and Challenges of MSC-Based Therapies: Parkinson Disease and Parkinsonism. In: Chen XD, éditeur.
A Roadmap to Non-Hematopoietic Stem Cell-based Therapeutics [Internet]. Academic Press; 2019 [cité 9 nov 2022]. p. 297-320. Disponible sur:
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780128119204000124>
- 210. Venkataramana NK, Kumar SKV, Balaraju S, Radhakrishnan RC, Bansal A, Dixit A, et al.**
Open-labeled study of unilateral autologous bone-marrow-derived mesenchymal stem cell transplantation in Parkinson's disease.
Transl Res. févr 2010;155(2):62-70.
- 211. Laporte C, Derouiche R, Fotino C, Cottet C, Gauchezp AS, Benhamou PY, et al.**
Apport des cellules souches mésenchymateuses pour la préservation de la fonctionnalité cellulaire bêta dans la thérapie cellulaire de diabète de type 1.
Annales d'Endocrinologie. 1 sept 2016;77(4):325.

قَسَمِ الطَّبِيبِ



أُقْسِمُ بِاللَّهِ الْعَظِيمِ

أَنْ أُرَاقِبَ اللَّهَ فِي مِهْنَتِي.

وَأَنْ أَصُونَ حَيَاةَ الْإِنْسَانِ فِي كَافَّةِ أَطْوَارِهَا فِي كُلِّ الظُّرُوفِ
وَالْأَحْوَالِ بِإِذْنِ اللَّهِ وَسَعْيِي فِي إِنْقَاذِهَا مِنَ الْهَلَاكِ وَالْمَرَضِ
وَالْأَلَمِ وَالْقَلْقِ.

وَأَنْ أَحْفَظَ لِلنَّاسِ كِرَامَتَهُمْ، وَأَسْتُرَ عَوْرَتَهُمْ، وَأَكْتُمَ سِرَّهُمْ.
وَأَنْ أَكُونَ عَلَى الدَّوَامِ مِنْ وَسَائِلِ رَحْمَةِ اللَّهِ، بِإِذْنِ رِعَايَتِي الطَّبِيبِيَّةِ لِلْقَرِيبِ وَالْبَعِيدِ،
لِلصَّالِحِ وَالطَّالِحِ، وَالصَّدِيقِ وَالْعَدُوِّ.

وَأَنْ أَثَابِرَ عَلَى طَلَبِ الْعِلْمِ، وَأَسَخَّرَهُ لِنَفْعِ الْإِنْسَانِ لَا لِأَذَاهِ.
وَأَنْ أَوْقَرَ مَنْ عَلَّمَنِي، وَأَعْلَمَ مَنْ يَصْغُرَنِي، وَأَكُونَ أَخًا لِكُلِّ زَمِيلٍ فِي الْمِهْنَةِ الطَّبِيبِيَّةِ
مُتَعَاوِنِينَ عَلَى الْبِرِّ وَالتَّقْوَى.

وَأَنْ تَكُونَ حَيَاتِي مِصْدَاقَ إِيمَانِي فِي سِرِّي وَعَلَانِيَتِي، نَقِيَّةً مِمَّا يُشِينُهَا تَجَاهَ
اللَّهِ وَرَسُولِهِ وَالْمُؤْمِنِينَ.

وَاللَّهُ عَلَى مَا أَقُولُ شَهِيدٌ

الخلايا الجذعية المتوسطة ومشتقاتها: القواعد الأساسية مع تجربة مركز الطب التجديدي

الأطروحة

قدمت ونوقشت علانية يوم 2022/11/22

من طرف

السيد إسكندر القسطلبي

المزداد في 10 ماي 1996 بنابل - تونس

لنيل شهادة الدكتوراه في الطب

الكلمات الأساسية:

الخلايا الجذعية المتوسطة- نخاع العظام - الأنسجة الدهنية - إكسوسوم-
تكبير كمية الخلايا - القياس الخلوي

اللجنة

الرئيس

م. أ. بنهيمه

السيد

المشرف

أستاذ في جراحة وتقويم العظام

السيد

أ. بلبشير

أستاذ في التشريح المرضي

السيد

ي. بنشمخة

أستاذ في جراحة التجميل والترميم

السيدة

م. غزي

أستاذة مبرزة في أمراض الروماتيزم

الحكام

{