



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

Année 2022

Thèse N° 375

**Projet pilote de greffe de cellules souches chez
le diabétique de type 1 au service de
Diabétologie CHU MOHAMMED VI**

THÈSE

PRÉSENTÉE ET SOUTENUE PUBLIQUEMENT LE 04/01/2023

PAR

Mlle. OUTAGHYAME Khaoula

Née le 27/10/1998 à DEMNATE

POUR L'OBTENTION DU DOCTORAT EN MÉDECINE

MOTS-CLÉS

Diabète type 1 - Greffe - Cellules souches mésenchymateuses - Tissu Adipeux.

JURY

Mme. N. EL ANSARI

Professeur d'Endocrinologie et Maladies Métaboliques

PRESIDENT

Mme. G. EL MGHARI TABIB

Professeur d'Endocrinologie et Maladies Métaboliques

RAPPORTEUR

Mr. Y. BENCHAMKHA

Professeur de la Chirurgie Réparatrice et Plastique

Mr. A. BELBACHIR

Professeur d'Anatomo-pathologie

JUGES



رَبِّهِمْ
وَالَّذِينَ
يُؤْتُونَ
الْحَقَّ
مِنْ
أَمْوَالِهِمْ
مُتَّعِينَ
بِهَا
وَالَّذِينَ
يُؤْتُونَ
الْحَقَّ
مِنْ
أَمْوَالِهِمْ
مُتَّعِينَ
بِهَا

الَّتِي أَنْعَمْتَ عَلَيَّ وَعَلَىٰ وَالِدَيَّ وَأَنْ أَعْمَلَ صَالِحًا تَرْضَاهُ
وَأَدْخِلْنِي بِرَحْمَتِكَ فِي عِبَادِكَ الصَّالِحِينَ ﴿١٩﴾

{سُورَةُ التَّمَلُّ: ١٩} @HAJARALALFI



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.

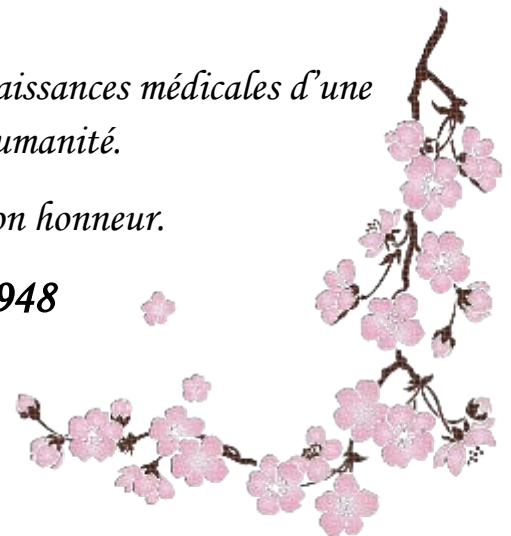
Aucune considération de religion, de nationalité, de race, aucune considération politique et sociale, ne s'interposera entre mon devoir et mon patient.

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

ADMINISTRATION

Doyen

: Pr. Mohammed BOUSKRAOUI

Vice doyen à la Recherche et la Coopération

: Pr. Mohamed AMINE

Vice doyen aux Affaires Pédagogiques

: Pr. Redouane EL FEZZAZI

doyen chargé de la pharmacie

: Pr. Said ZOUHAIR

Secrétaire Générale

: Mr. Azzeddine EL HOUDAIGUI

Professeurs de l'enseignement supérieur

Nom et Prénom	Spécialité	Nom et Prénom	Spécialité
ABKARI Imad	Traumato- orthopédie	FADILI Wafaa	Néphrologie
ABOU EL HASSAN Taoufik	Anesthésie- réanimation	FAKHIR Bouchra	Gynécologie- obstétrique
ABOUCHADI Abdeljalil	Stomatologie et chir maxillofaciale	FAKHRI Anass	Histologie- embryologie cytogénétique
ABOULFALAH Abderrahim	Gynécologie- obstétrique	FOURAJJI Karima	Chirurgie pédiatrique
ABOUSSAIR Nisrine	Génétique	GHANNANE Houssine	Neurochirurgie
ADALI Imane	Psychiatrie	GHOUNDALE Omar	Urologie
ADMOU Brahim	Immunologie	HACHIMI Abdelhamid	Réanimation médicale
AGHOUTANE El Mouhtadi	Chirurgie pédiatrique	HAJJI Ibtissam	Ophtalmologie
AISSAOUI Younes	Anesthésie - réanimation	HAROU Karam	Gynécologie- obstétrique
AIT AMEUR Mustapha	Hématologie Biologique	HOCAR Ouafa	Dermatologie
AIT BENALI Said	Neurochirurgie	JALAL Hicham	Radiologie
AIT BENKADDOUR Yassir	Gynécologie- obstétrique	KADDOURI Said	Médecine interne
AIT-SAB Imane	Pédiatrie	KAMILI El Ouafi El Aouni	Chirurgie pédiatrique

ALJ Soumaya	Radiologie	KHALLOUKI Mohammed	Anesthésie- réanimation
AMAL Said	Dermatologie	KHATOURI Ali	Cardiologie
AMINE Mohamed	Epidémiologie- clinique	KHOUCANI Mouna	Radiothérapie
AMMAR Haddou	Oto-rhino-laryngologie	KISSANI Najib	Neurologie
AMRO Lamyae	Pneumo- phtisiologie	KRATI Khadija	Gastro- entérologie
ANIBA Khalid	Neurochirurgie	KRIET Mohamed	Ophtalmologie
ARSALANE Lamiae	Microbiologie -Virologie	LAGHMARI Mehdi	Neurochirurgie
ASMOUKI Hamid	Gynécologie- obstétrique	LAKMICH MohamedAmine	Urologie
ATMANE El Mehdi	Radiologie	LAKOUICHMI Mohammed	Stomatologie et Chirurgie maxillo faciale
BAIZRI Hicham	Endocrinologie et maladiesmétaboliques	LAOUAD Inass	Néphrologie
BASRAOUI Dounia	Radiologie	LOUHAB Nisrine	Neurologie
BASSIR Ahlam	Gynécologie- obstétrique	LOUZI Abdelouahed	Chirurgie - générale
BELBARAKA Rhizlane	Oncologie médicale	MADHAR Si Mohamed	Traumato- orthopédie
BELKHOU Ahlam	Rhumatologie	MANOUDI Fatiha	Psychiatrie
BEN DRISS Laila	Cardiologie	MANSOURI Nadia	Stomatologie et chiru

			maxillo faciale
BENALI Abdeslam	Psychiatrie	MAOULAININE Fadl mrabih rabou	Pédiatrie (Neonatalogie)
BENCHAMKHA Yassine	Chirurgie réparatrice et plastique	MARGAD Omar	Traumatologie - orthopédie
BENELKHAIAT BENOMAR Ridouan	Chirurgie – générale	MATRANE Aboubakr	Médecine nucléaire
BENHIMA Mohamed Amine	Traumatologie - orthopédie	MLIHA TOUATI Mohammed	Oto-Rhino - Laryngologie
BENJELLOUN HARZIMI Amine	Pneumo- phtisiologie	MOUAFFAK Youssef	Anesthésie - réanimation
BENJILALI Laila	Médecine interne	MOUDOUNI Said Mohammed	Urologie
BOUCHENTOUF Rachid	Pneumo- phtisiologie	MOUFID Kamal	Urologie
BOUKHANNI Lahcen	Gynécologie- obstétrique	MOUTAJ Redouane	Parasitologie
BOUKHIRA Abderrahman	Biochimie – chimie	MOUTAOUAKIL Abdeljalil	Ophtalmologie
BOUMZEBRA Drissi	Chirurgie Cardio-Vasculaire	MSOUGGAR Yassine	Chirurgie thoracique
BOURRAHOUE Aicha	Pédiatrie	NAJEB Youssef	Traumato- orthopédie
BOURROUS Monir	Pédiatrie	NARJIS Youssef	Chirurgie générale
BOUSKRAOUI Mohammed	Pédiatrie	NEJMI Hicham	Anesthésie- réanimation
BSISS Mohamed Aziz	Biophysique	NIAMANE Radouane	Rhumatologie
CHAFIK Rachid	Traumato- orthopédie	OUALI IDRISSE Mariem	Radiologie
CHAKOUR Mohamed	Hématologie Biologique	OUBAHA Sofia	Physiologie
CHELLAK Saliha	Biochimie- chimie	OULAD SAIAD Mohamed	Chirurgie pédiatrique
CHERIF IDRISSE EL GANOUNI Najat	Radiologie	QACIF Hassan	Médecine interne
CHOULLI Mohamed Khaled	Neuro pharmacologie	QAMOUSS Youssef	Anesthésie- réanimation
DAHAMI Zakaria	Urologie	RABBANI Khalid	Chirurgie générale
DAROUASSI Youssef	Oto-Rhino - Laryngologie	RADA Nouredine	Pédiatrie
DRAISS Ghizlane	Pédiatrie	RAIS Hanane	Anatomie pathologique
EL ADIB Ahmed Rhassane	Anesthésie- réanimation	RAJI Abdelaziz	Oto-rhino-laryngologie
EL AMRANI Moulay Driss	Anatomie	ROCHDI Youssef	Oto-rhino- laryngologie
EL ANSARI Nawal	Endocrinologie et maladies métaboliques	SAMKAOUI Mohamed Abdenasser	Anesthésie- réanimation
EL BARNI Rachid	Chirurgie- générale	SAMLANI Zouhour	Gastro- entérologie
EL BOUCHTI Imane	Rhumatologie	SARF Ismail	Urologie
EL BOUIHI Mohamed	Stomatologie et chir maxillofaciale	SORAA Nabila	Microbiologie – Virologie
EL FEZZAZI Redouane	Chirurgie pédiatrique	SOUMMANI Abderraouf	Gynécologie- obstétrique
EL HAOURY Hanane	Traumato- orthopédie	TASSI Noura	Maladies infectieuses
EL HATTAOUI Mustapha	Cardiologie	TAZI Mohamed Illias	Hématologie- clinique
EL HOUDZI Jamila	Pédiatrie	YOUNOUS Said	Anesthésie- réanimation
EL IDRISSE SLITINE Nadia	Pédiatrie	ZAHLANE Kawtar	Microbiologie - virologie
EL KARIMI Saloua	Cardiologie	ZAHLANE Mouna	Médecine interne
EL KHADER Ahmed	Chirurgie générale	ZAOUI Sanaa	Pharmacologie
EL KHAYARI Mina	Réanimation médicale	ZEMRAOUI Nadir	Néphrologie
EL MGHARI TABIB Ghizlane	Endocrinologie et maladies métaboliques	ZIADI Amra	Anesthésie - réanimation
EL OMRANI Abdelhamid	Radiothérapie	ZOUHAIR Said	Microbiologie
ELFIKRI Abdelghani	Radiologie	ZYANI Mohammed	Médecine interne
ESSAADOUNI Lamiaa	Médecine interne		

Professeurs Agrégés

Nom et Prénom	Spécialité	Nom et Prénom	Spécialité
ABDOU Abdessamad	Chiru Cardio vasculaire	SEBBANI Majda	Médecine Communautaire (médecine préventive, santé publique et hygiène)
ABIR Badreddine	Stomatologie et Chirurgie maxillo faciale	HAZMIRI Fatima Ezzahra	Histologie- embyologie cytogénétique
ADARMOUCH Latifa	Médecine Communautaire (médecine préventive, santé publique et hygiène)	JANAH Hicham	Pneumo- phtisiologie
AIT BATAHAR Salma	Pneumo- phtisiologie	LAFFINTI Mahmoud Amine	Psychiatrie
ALAOUI Hassan	Anesthésie -Réanimation	LAHKIM Mohammed	Chirurgie générale
ALJALIL Abdelfattah	Oto- rhino- laryngologie	MESSAOUDI Redouane	Ophtalmologie
ARABI Hafid	Médecine physique et réadaptation fonctionnelle	MOUHSINE Abdelilah	Radiologie
ARSALANE Adil	Chirurgie Thoracique	NADER Youssef	Traumatologie - orthopédie
ASSERRAJI Mohammed	Néphrologie	NASSIM SABAH Taoufik	Chirurgie Réparatrice etPlastique
BELBACHIR Anass	Anatomie- pathologique	RHARRASSI Isam	Anatomie-patologique
BELHADJ Ayoub	Anesthésie -Réanimation	SALAMA Tarik	Chirurgie pédiatrique
BOUZERDA Abdelmajid	Cardiologie	SEDDIKI Rachid	Anesthésie - Réanimation
CHRAA Mohamed	Physiologie	SERGHINI Issam	Anesthésie - Réanimation
EL HAOUATI Rachid	Chirurgie Cardio-vasculaire	TOURABI Khalid	Chirurgie réparatrice etplastique
EL KAMOUNI Youssef	Microbiologie Virologie	ZARROUKI Youssef	Anesthésie - Réanimation
EL MEZOUARI El Moustafa	Parasitologie Mycologie	ZIDANE Moulay Abdelfettah	Chirurgie Thoracique
ESSADI Ismail	Oncologie Médicale	BELGHMAIDI Sarah	OPhtalmologie
GHAZI Mirieme	Rhumatologie	BENNAOUI Fatiha	Pédiatrie
Hammoune Nabil	Radiologie	FENNANE Hicham	Chirurgie Thoracique
ABDELFETTAH Youness	Rééducation etRéhabilitation Fonctionnelle	REBAHI Houssam	Anesthésie - Réanimation
ELBAZ Meriem	Pédiatrie	ZOUIZRA Zahira	Chirurgie Cardio- vasculaire
FDIL Naima	Chimie de CoordinationBio-organique		

Professeurs Assistants

Nom et Prénom	Spécialité	Nom et Prénom	Spécialité
AABBASSI Bouchra	PédoPsychiatrie	ELJAMILI Mohammed	Cardiologie
ABALLA Najoua	Chirurgie pédiatrique	ELOUARDI Youssef	Anesthésie réanimation
ABOUDOURIB Maryem	Dermatologie	EL-QADIRY Raby	Pédiatrie
ABOULMAKARIM Siham	Biochimie	FASSI FIHRI Mohamed jawad	Chirurgie générale
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	IDALENE Malika	Maladies infectieuses
AZAMI Mohamed Amine	Anatomie pathologique	JALLAL Hamid	Cardiologie
AZIZ Zakaria	Stomatologie et chir maxillo faciale	KHALLIKANE Said	Anesthésie-réanimation

AZIZI Mounia	Néphrologie	LACHHAB Zineb	Pharmacognosie
BAALLAL Hassan	Neurochirurgie	LAHLIMI Fatima Ezzahra	Hématologie clinique
BABA Hicham	Chirurgie générale	LAHMINE Widad	Pédiatrie
BELARBI Marouane	Néphrologie	LAMRANI HANCI Asmae	Microbiologie-virologie
BELFQUIH Hatim	Neurochirurgie	LOQMAN Souad	Microbiologie et toxicologie environnementale
BELLASRI Salah	Radiologie	MAOUJOUR Omar	Néphrologie
BENAMEUR Yassir	Médecine nucléaire	MEFTAH Azzelarab	Endocrinologie et maladies métaboliques
BENANTAR Lamia	Neurochirurgie	MILOUDI Mohcine	Microbiologie - Virologie
BENCHAFAI Ilias	Oto- rhino- laryngologie	MOUGUI Ahmed	Rhumatologie
BENYASS Youssef	Traumatologie- orthopédie	MOULINE Souhail	Microbiologie-virologie
BENZALIM Meriam	Radiologie	NASSIH Houda	Pédiatrie
BOUHAMIDI Ahmed	Dermatologie	OUEIAGLI NABIH Fadoua	Psychiatrie
BOUTAKIOUTE Badr	Radiologie	OUMERZOUK Jawad	Neurologie
CHAHBI Zakaria	Maladies infectieuses	RAGGABI Amine	Neurologie
CHEGGOUR Mouna	Biochimie	RAISSI Abderrahim	Hématologie clinique
CHETOUI Abdelkhalek	Cardiologie	RHEZALI Manal	Anesthésie-réanimation
CHETTATI Mariam	Néphrologie	ROUKHSI Redouane	Radiologie
DAMI Abdallah	Médecine Légale	SAHRAOUI Houssam Eddine	Anesthésie-réanimation
DARFAOUI Mouna	Radiothérapie	SALLAHI Hicham	Traumatologie-orthopédie

DOUIREK Fouzia	Anesthésie- réanimation	SAYAGH Sanae	Hématologie
DOULHOUSNE Hassan	Radiologie	SBAAI Mohammed	Parasitologie-mycologie
EL- AKHIRI Mohammed	Oto- rhino- laryngologie	SBAI Asma	Informatique
EL AMIRI My Ahmed	Chimie de Coordinationbio- organique	SIRBOU Rachid	Médecine d'urgence et decatastrophe
EL FADLI Mohammed	Oncologie médicale	SLIOUI Badr	Radiologie
EL FAKIRI Karima	Pédiatrie	WARDA Karima	Microbiologie
EL GAMRANI Younes	Gastro-entérologie	YAHYAOUI Hicham	Hématologie
EL HAKKOUNI Awatif	Parasitologie mycologie	YANISSE Siham	Pharmacie galénique
EL JADI Hamza	Endocrinologie et maladies métaboliques	ZBITOU Mohamed Anas	Cardiologie
EL KHASSOUI Amine	Chirurgie pédiatrique	ZIRAOUI Oualid	Chimie thérapeutique
ELATIQUI Oumkeltoum	Chirurgie réparatrice et plastique	ZOUIA Btissam	Radiologie

LISTE ARRÊTÉE LE 26/09/2022

DÉDICACES

*« Soyons reconnaissants aux personnes qui nous donnent du bonheur, elles sont
les charmants jardiniers par qui nos âmes sont fleuries »
Marcel Proust.*

*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...*

Toutes les lettres ne sauraient trouver les mots qu'il faut...

*Tous les mots ne sauraient exprimer la gratitude, l'amour,
Le respect, la reconnaissance...*

Je dédie cette thèse...

Tout d'abord à ALLAH

À mon Seigneur tout puissant, qui possède tous les pouvoirs et qui m'a donné la force d'en arriver là.

Je le remercie de m'avoir guidé tout au long de mon parcours, et le prie de m'aider à accomplir mon métier de médecin avec conscience et dignité.

Je vous dois ce que je suis devenue, Soumission, louanges et remerciements, Pour votre clémence et miséricorde.

À La mémoire de mon grand-père maternel Mohamed EL MEJDAOUI Et à la mémoire de mes grands-parents paternels Lalla Bacha NBIGUI et Mohamed OUTAGHYAME

Qui ont toujours été dans mon esprit et dans mon cœur, je vous dédie aujourd'hui ce travail. Que Dieu, le miséricordieux, vous accueille dans son éternel paradis.

*À ma très chère et tendre maman : Mme. SAIDA EL MEJDAOUI Ma vie ...
ma joie ... ma fierté...*

Tous les mots de la terre ne seront pas suffisants pour exprimer ce que je ressens envers toi. Tu m'as tout donné, tout transmis, et tu as sacrifié ta vie pour que je sois là où je suis aujourd'hui.

Tu es ma mère, ma meilleure amie, ma sœur et ma confidente. Tu es ma boussole, qui m'a toujours guidé dans mes moments de doute et de faiblesse. Tes yeux, remplis d'amour et de courage, m'ont élevé au-dessus de tous les obstacles de la vie.

Le sens de la responsabilité et la détermination que tu m'as inculqué seront toujours en moi. Tu ne peux savoir la joie que je ressens lorsqu'on me félicite de l'éducation que j'ai reçue, et des qualités que tu as su cultiver en moi. Je suis chanceuse d'avoir une personne comme toi à mes côtés, et je remercie dieu pour cela à chaque instant.

Ce modeste travail est le fruit de nombreux sacrifices souvent au prix de ton confort. Que le tout puissant me donne l'occasion de te combler de joie, qu'il t'accorde une longue vie et une santé de fer.

Je t'aime mamati.

*À mon très cher père : Mr. MOHAMED OUTAGHYAME Mon âne ... mon
refuge ... mon idole...*

*Tu as fait de moi ce que je suis et je te dois tout. Tu as su être un ami et un
exemple pour moi, je n'ai jamais eu peur du lendemain parce que tu es là et ta
confiance en moi est ma force.*

*Ton souci majeur a toujours été de donner le meilleur à tes enfants pour cela tu
as fait des sacrifices sans te ménager.*

*Mon formidable Papa, mon meilleur ami tu es un excellent laboureur, et j'espère
être une récolte honorable.*

*En ce jour ta fille espère réaliser l'un de tes plus grands rêves, et couronner tes
années de sacrifice et d'espoir.*

*Ce travail est une occasion pour t'exprimer mon profond amour et ma grande
gratitude. Puisse dieu, tout puissant te préserver du mal, combler de santé, de
bonheur et te procurer longue vie afin que je puisse te combler à mon tour.*

Je t'aime my hero.

À mon adorable grand-mère maternelle, Mme Habiba TOUFIK, Ima Hnina

*Tes prières et ta bénédiction m'ont été d'un grand secours pour mener à bien mes
études.*

*Ta présence dans la famille est le secret de notre bonheur... Que dieu te préserve
de tout mal et t'accorde une longue vie.*

À mon très cher frère Mohamed Amine OUIAGHYAME

Mon beau Aminou , Tu es le pilier de notre famille, tu es l'exemple du frère parfait.

Aucune expression ne me parait suffisante pour te décrire. Tu étais toujours pour moi le grand frère et mon deuxième père, un bouclier qui ne cesse de me protéger, tu étais présent avec moi dans les moments les plus pénibles, tu ne m'as jamais laissé tomber. Tu étais la personne qui m'as toujours épaulé qui a toujours cru en moi, toutes mes réussites n'allaient jamais voir le jour sans ta présence.

Nos fou-rires, nos disputes, nos discussions bizarres font de toi l'exceptionnel Amine.

Merci d'être toujours là pour moi, merci pour tes encouragements incessants et pour tous les moments passés ensemble. J'espère te rendre fier et je te dédie ce travail.

Je t'aime fort le plus beau médecin du monde.

*À mon très cher frère Oussama O'UTAGHYAME et sa femme Salma Ouahid
Mon SIMSIM, Ta place dans mon cœur et dans ma vie ne pourrait guère être
remplacée. Tu es le frère, l'ami et le papa.*

*Toujours là pour me soutenir et me conseiller. J'ai toujours vu en toi l'homme
charismatique, doux et généreux. Malgré que le destin ait fait que tu ne sois pas
présent avec moi dans ce jour, tu continues à suivre de près les pas de ta petite
sœur. Je te souhaite tout le bonheur et le succès que tu mérites.*

*Je remercie Dieu de m'avoir accordé un frère sur qui je pourrai compter quel que
soit les circonstances. Tu es une personne formidable.*

I love you my best gynecologist

*Salouma, ma belle-sœur préférée, tu as toujours été là pour moi et saches que je
le serai pour toi également.*

*Merci pour ce que tu es. Merci pour tous les moments qu'on a partagé s'en-
semble, tous nos éclats de rire. Merci pour tes conseils précieux.*

Je t'aime ma Gastrologue préférée.

De la part de votre petite soeur préférée

Vous m'avez toujours soutenu tout au long de mon parcours.

*Je vous dédie ce travail à vous, mes confrères, et je ne vous remercierai jamais
assez pour tout ce que vous m'avez appris. Que dieu puisse vous protéger et
vous garder à mes côtés pour toute la vie.*

Ma petite nièce Lilia O'UTAGHYAME

*À la plus petite des Outaghyames, Jamais je n'aurai imaginé aimer un être
comme je t'aime, ma petite Lilou*

*Tu as débarqué dans ma vie et tu l'as fait tienne. J'ai hâte que tu aies l'âge de
lire ces mots et que tu sois fière de ton tati Kowa.*

*Je te promets d'être la tati la plus cool du monde et d'être toujours de ton côté,
je t'aime fort mon petit cœur.*

*Ma très chère sœur Ghizlane O'UTAGHYAME et son mari Adil BOU-
FOUST*

*Ma Ghizou hbiba, ma sœur, ma moitié, ma meilleure amie, ma complice, quoi
que je dise, je ne saurai exprimer l'amour et la tendresse que j'ai pour toi.*

*Tu es ma deuxième maman et ma sœur adorée, tu m'as toujours accompagné,
depuis mes premiers jours de crèche, Je t'aime de tout mon cœur et aucun mot ni
action ne pourra mesurer l'ampleur de cet amour.*

*Merci de m'avoir épaulée dans les instants les plus difficiles. Merci pour nos
petits moments de bonheur, merci pour nos fous rires, nos longues heures de dis-
cussion ... Je ne peux imaginer ma vie sans toi mon cœur*

I just adore you the best engineer and artist ever

*ADIL, toi qui es devenu un troisième 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, votre aide et votre générosité qui ont 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.*

Ma très chère sœur Sabrina OUIAGHYAME et son mari Hamid Garmane,

Sabrina kbida, La prunelle de mes yeux, la plus précieuse et la plus tendre des sœurs, je ne peux exprimer à travers ces lignes tous mes sentiments d'amour envers toi. Tu es la source de tous les bonheurs, d'inspiration, de force et de tendresse. Tu es mon soleil même dans les jours moroses.

Merci pour ton amour et ton soutien. Merci d'avoir foi en moi et de me pousser toujours plus haut, de me comprendre, de m'accompagner, de m'inspirer et d'avoir toujours veillé de près à mon bonheur.

J'ai la chance d'avoir la meilleure grande soeur qui puisse exister. Ta place dans mon cœur est irremplaçable.

Hamid, Je te vois comme un grand frère, une personne très cultivée que j'admire beaucoup. Je tiens à te remercier pour ton soutien, ton aide, et tes conseils précieux.

Puisse Dieu tout-puissant vous préserver du mal, vous combler de santé, de bonheur et vous accorder une longue et heureuse vie.

Que ce travail traduise toute mon affection et mes souhaits de bonheur.

Je vous aime mes Radiologues préférés .

À toute ma famille

Je vous dédie tous ce travail pour votre soutien, amour et encouragements. Vous trouvez dans ce travail, l'expression de mon amour en vous souhaitant beaucoup de bonheur.

À ma meilleure amie et ma soeur, Chayma El Ouatiq

À nos 14 années d'amitié, aux choses extraordinaires que nous avons partagées, à notre merveilleux parcours, et aux longues années de partage qui nous attendent...

Chamita hbiba, Les mots ne peuvent suffire pour exprimer tout mon amour, gratitude, respect et admiration envers toi. Tu es la plus belle sœur que quelqu'un peut souhaiter. Je ne remercierais jamais assez Dieu de t'avoir mis sur mon chemin.

Nous avons passé des moments qui ont rendu nos études médicales moins pénibles, à travers tous nos fous rires, nos nuits blanches et nos facéties.

Tu as toujours été à mes côtés, dans les bons moments mais surtout dans les mauvais, me redonnant espoir en l'existence de personnes aussi pures, fidèles et aimantes que toi. Je te serai à jamais reconnaissant pour ton soutien.

Tu es sans doute un membre de notre famille.

Puisse Dieu faire perdurer notre amitié, dans ce bas monde et même dans l'au-delà, et t'apporter santé, bonheur et réussite dans tout ce que tu entreprends et te garde tes chers parents Khalti, Ami, Rachida et Ahmed, ton adorable frère Aymane, et ton mari Oussama.

I love you to the moon and never back my BFF.

À ma très Chère amie d'enfance Meryem AIT Zirri

Voilà déjà 20 ans qu'on s'est connu. Tu étais et tu resteras pour jamais ma sœur et ma confidente. Nous avons traversé beaucoup de moments ensemble, les bons comme les plus difficiles. Tout est gravé dans le plus profond de ma mémoire, témoin de notre amour et complicité ...

Seules les fausses amitiés souffrent de la distance. Nos rencontres, même rares, m'éprouvent toujours un sentiment de joie, de sérénité et de bonne énergie.

En souvenir des moments merveilleux que nous avons passé ensemble et aux liens solides qui nous unissent, je te dédie ce travail. Avec toute mon affection et estime, je te souhaite beaucoup de réussite et de bonheur, autant dans ta vie professionnelle que privée. Que notre amitié et fraternité soient éternelles.

Je t'aime ma MIMI.

À mes chères amies Imane Qanoune et Ibtissam Quiouch

Pour nos années d'études, pour nos premiers pas à l'hôpital, nos premières gardes et tout un tas de souvenirs, pour tout ça et tout le reste je vous remercie.

Vous êtes la meilleure chose que j'ai pu trouver au sein de cette faculté.

Je vous dédie ce travail, en témoignage de tout mon amour et ma gratitude. Je prie Dieu pour qu'il vous protège de tous les malheurs, et qu'il vous accorde tout le bonheur que vous méritez.

Je vous aime mes chéries.

À ma très Chère amie, ma binoma Radia Thalal

À tous les moments qu'on a passés ensemble, à tous nos souvenirs !

Merci d'avoir été là à tous les instants. Je suis honorée de t'avoir dans ma vie et je te souhaite tout le bonheur et le succès que tu mérites.

J'espère que tu trouveras dans ce travail l'expression de ma grande estime et ma profonde affection.

À mes chers amis Yassine Bouchtalla, Walid Ait Moha

En souvenir des moments merveilleux que nous avons passés, nos fous rires inoubliables, ces petits moments qui sont devenus inoubliables, ce sont souvent les petits moments qui paraissent banals qui créent les meilleurs souvenirs.

Merci d'avoir toujours été là pour apporter votre inépuisable énergie et votre infinie bonté.

Avec toute mon affection, je vous souhaite beaucoup de réussite et de bonheur. Je vous dédie ce travail en témoignage de notre sincère amitié.

À mes chères amies Amal Yassine, Meryem Younsi, Soukaina Injirahi, Kawtar Bennajma, Houda El Garni, Hafsa Bouqourou, Zineb Chbihi, Oumaima Ouahi, Fatine Abbi, Dounia Nadifyine, Aya Mouhcine, Yasmine Rphi.

Vous êtes l'une des meilleures rencontres que j'ai faites durant mon internat. Merci pour tous ces moments magiques passés à vos côtés. J'espère que notre amitié continuera à briller. Veuillez trouver dans ce travail l'expression de ma sincère gratitude et de ma profonde affection.

À mes chers amis Ayoub Mouhssine, Hamza Bennjakhoukh, Amine Boutabaa, Taha Jalil, Soufiane Amarni, Oussama Misely, Hamza Alaoui, Med Amine Hajjou, Abdessamad Laaribi, Anass Elkadouri.

Merci pour vos encouragements, votre soutien tout au long de ces années. Je vous dédie ce travail en reconnaissance à la grande affection que vous me témoignez et pour vous exprimer toute la gratitude et l'amour que je vous porte.

À tous mes amis avec qui j'ai partagé mes années d'externat.

Trois années furent aussi rapides que riches et enrichissantes. Nos premiers pas, gardes et observations sont inoubliables. Je vous souhaite tous l'épanouissement et la réussite que vous méritez.

À mes amis et confrères de la 20ème promotion des médecins internes de Marrakech, OUDADA, TAOUFIKI, ZEROUAL, ERRAMLI, SERGHINI, ZEMRANI, HAYAT, OUIAM, EL FAHLI, KANALI, EZZINE, LEGHRIB, ABDALANI, BADR, MISAB, CHAIT, NAOUIS, CHOUKRI, EL AAKIB, HOUACH, BOUANANI, BOURHT, LAYOUNE, EL ARABI, BOUZITI, GOUJDAMI, AITERROUHI, EL GUERMAI, AIT YAZZA, TAOUHID, GHALBANE, ZOUAKI, BELLAJI,

Je suis reconnaissante à l'internat de m'avoir fait cadeau d'une si belle famille.

Ensemble nous avons traversé le meilleur comme le pire pendant cette rude épreuve que fut l'internat. Grâce à vous je n'en garde que le meilleur.

Je vous souhaite beaucoup de succès dans votre vie professionnelle et familiale.

À mes amis et confrères de la 19ème promotion des médecins internes de Marrakech, Imane Katif, Sahar Rochd, Amine Laalou, Saad Moumen, Soumaya Jamil, Jihane Hamdane, Manal Boulmaat, ...

Les moments qu'on a passés ensemble sont gravés à l'encre indélébile dans mes pensées.

Je vous dédie ce travail en guise de reconnaissance et d'affection qu'aucune épreuve ne saura effacer, pas même celle du temps.

*À mes amis et confrères de la 21ème promotion,
À tous mes collègues de l'association des médecins internes de Marrakech et du comité, c'est une grande fierté pour moi d'être parmi vous.*

À Dr. Fatimzahra Mennani,

Endocrinologue au CHU Mohammed VI de Marrakech,

Merci infiniment pour votre encadrement et votre bienveillance.

Si ce travail a pu être réalisé aujourd'hui, c'est grâce à votre précieuse collaboration. Veuillez recevoir ici l'expression de notre reconnaissance et de notre profonde considération.

À tous ceux qui me sont chers et que j'ai involontairement omis de citer...
À tous ceux qui ont participé de près ou de loin à l'élaboration de ce travail.
À tous ceux qui ont pour mission cette tâche de soulager l'être humain et
d'essayer de lui procurer le bien-être physique, psychique et social.
À tous mes maîtres auprès de qui j'ai eu l'honneur d'apprendre
À tous les
médecins et le cadre médical.
À tous les patients puisse Dieu Tout Puissant vous accorder un prompt
rétablissement et soulager vos souffrances.
À tous ceux dont l'oubli du nom n'est pas celui du cœur.
À tous ceux connus ou inconnus qui vont feuilleter un jour ce travail.

REMERCIEMENTS

*À notre maître et Présidente de thèse Professeur EL ANSARI Nawal,
professeur de l'enseignement supérieur d'Endocrinologie et Chef du service
d'Endocrinologie et Maladies Métaboliques au CHU Mohammed VI de
Marrakech,*

*Je vous remercie vivement pour le privilège et l'honneur que vous me faites en
acceptant de présider mon jury de thèse.*

*Nous vous remercions de votre enseignement et nous vous sommes très
reconnaissants de bien vouloir porter intérêt à ce travail.*

*Nous avons bénéficié, au cours de nos études, de votre enseignement clair et
précis. Votre gentillesse, vos qualités humaines, votre modestie n'ont rien d'égal
que votre compétence. Puissent les générations futures avoir la chance de
profiter de votre savoir qui n'a d'égal que votre sagesse et votre bonté.
Veuillez trouver dans ce travail chère maitre, l'expression de ma gratitude, ma
reconnaissance et mon grand respect.*

À notre maître et rapporteur de thèse Professeur E.L. MGHARI TABIB
Ghizlane
Professeur de l'enseignement supérieur d'Endocrinologie au CHU Mohammed
VI de Marrakech,

Permettez-moi de vous remercier du fin fond de mon cœur, pour la confiance que vous m'avez accordé, en me donnant à traiter un sujet aussi original.

Travailler sous votre direction était un réel honneur.

Votre sérieux, vos qualités pédagogiques et votre intarissable bonté m'inspirent beaucoup d'admiration et de respect.

Votre modestie, votre compréhension, ainsi que vos qualités professionnelles et humaines ne peuvent que susciter ma grande estime.

Vous m'avez toujours réservé le meilleur accueil malgré vos obligations professionnelles. Vous êtes un exemple à suivre pour moi. J'espère avoir été à la hauteur de vos attentes, et vous rendre fière.

Veillez trouver ici le témoignage, de mes plus profonds sentiments, de ma gratitude et ma reconnaissance les plus sincères.

À 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 Mohammed VI de Marrakech,

Nous sommes particulièrement touchés par l'enthousiasme avec lequel vous avez accepté de siéger parmi notre honorable jury, et juger notre travail de thèse, qui fut réalisé en collaboration avec votre service.

Votre parcours professionnel, votre compétence incontestable, votre enseignement et vos qualités humaines font de vous un grand professeur et nous inspirent une grande admiration.

Que ce travail soit l'expression de notre profond respect et de notre reconnaissance.

À notre maître et juge de thèse Professeur BELBACHIR Anass,
Professeur d'Anatomo-Pathologie, Chef de centre de Médecine Régénérative au
CHU Mohamed VI,

C'est un réel honneur que vous acceptez de mener ce travail qui fut réalisé en collaboration avec le centre de Médecine Régénérative.

Travailler à vos côtés était un immense privilège. Vos qualités scientifiques, pédagogiques m'inspirent beaucoup d'admiration et de respect.

Veillez trouver en cette thèse, cher Maître, l'humble témoignage de notre profonde gratitude et de notre haute considération.

Un grand remerciement à tous les professeurs de la FMPPM.

Liste des abréviations

Liste des abréviations :

- ADSC** : Adipose-derived Stem Cells ou cellules souches dérivées du tissu adipeux
- ADSC-CM** : Milieu conditionné des cellule souches dérivées du tissu adipeux
- ADSC-Exo** : Exosomes des cellule souches mésenchymateuses dérivées du tissu adipeux
- ASCs** : Adipose Stem Cells ou cellules souches du tissu adipeux
- ATE** : Extraits du tissu adipeux
- AINS** : Anti-inflammatoire non stéroïdien
- BMSCs** : Bone marrow mesenchymal stem ou cellules souches mésenchymateuses de la moelle osseuse
- CS** : Cellule souche
- CSM** : Cellule souche mésenchymateuse
- CSH** : Cellule souche hématopoïétique
- CSE** : Cellules souches embryonnaires
- CSMAs** : Cellules souches mésenchymateuses d'origine adipeuse
- CFU-F** : Colony forming units fibroblast ou unités formant colonies de fibroblast
- CMR** : Centre de médecine régénérative
- DT1** : Diabète de type 1
- FGF** : Facteur de croissance basique des fibroblastes
- GÀJ** : Glycémie à jeun
- GPP** : Glycémie postprandiale
- GC** : Glycémie capillaire
- HMADS** : Human Adipose Derived Stem ou les cellules souches du tissu adipeux humain
- HBA1C** : Hémoglobine glyquée
- ISCT** : Société internationale de thérapie cellulaire
- IFATS** : Société internationale de technologie appliquée aux graisses
- IMC** : Indice de masse corporelle
- IPS** : Induced pluripotent stem cells ou cellule souche pluripotente induite

LADA : Latent autoimmune diabetes in adult ou le diabète de type 1 latent

MO : Moelle osseuse

ME : Méthode enzymatique

MC : Méthode mécanique

PRP : Plasma riche en plaquettes

PSM : Poste de sécurité microbiologique

PLA : Cellule de lipoaspirat traité

PBS : Solution saline phosphate-buffered stérile

SVF : Stromal-vascular fraction ou fraction vasculaire stromale

TNF : Facteur de nécrose tumoral

TGF : Facteur de croissance tumoral

VEGF : Facteur de croissance endothélial vasculaire

Plan

INTRODUCTION	1
GENERALITES SUR LA MALADIE	4
I. Épidémiologie	5
1. Prévalence	5
II. Rappel anatomo–physiopathologique	6
1. Anatomie	6
2. Histologie du pancréas	7
3. Rôles du pancréas	11
4. L`insuline :	11
5. La physiopathologie du diabète type 1	15
6. Histoire naturelle du diabète type 1	16
7. Facteurs déclenchants	17
8. Processus auto–immun	18
9. Le mode de révélation	20
10. Le diagnostic positif	21
11. Prise en charge du diabète type 1	22
MATERIELS ET METHODES	33
RESULTATS	37
I. Le protocole de la mise en place de la greffe des cellules souches	38
II. Données socio–démographiques	
1. L`âge :	70
2. Le sexe	70
3. La distribution géographique	70
4. Le niveau socio–économique	70
III. Données clinico–paracliniques	71
1. Les antécédents	71
2. Histoire du diabète	73
3. Prise en charge	75
4. Suivi et Surveillance	78
5. Évolution	81
IV. Les paramètres éligibles à l`inclusion des patients DT1 à la greffe des cellules souche mésenchymateuses :	83
1. Paramètres pré–thérapeutiques de base au démarrage pour l`éligibilité des patients de l`étude	83
2. Caractéristiques du prélèvement	86
3. Données de comptage des cellules souches mésenchymateuses selon les profils des patients	87
V. Le déroulement de la greffe des cellules souches mésenchymateuse et le suivi post–greffe	88

1. Transfusion de la solution des CSM	88
2. Paramètres de suivi post-greffe	88
DISCUSSION	101
I. Généralités	102
1. Les cellules souches	102
2. Les cellules souches mésenchymateuses	105
3. Généralités sur le tissu adipeux	117
4. La différence entre les CSMs de la moelle osseuse et ASC du tissu adipeux	131
5. Les applications thérapeutiques des cellules souches mésenchymateuses	132
II. Apport des cellules souches mésenchymateuses chez le diabétique de type 1	142
1. Différenciation des cellules souches pluripotentes en cellules pancréatiques	142
III. Discussion des résultats	150
1. Données épidémiologiques/histoire de la maladie	151
2. Données cliniques pré et post-greffe	153
3. Données paracliniques pré et post-greffe	156
4. Caractéristiques du prélèvement	164
5. Les incidents post-greffe des CSM	171
6. La durée de suivi des patients après la greffe des CSM	171
IV. Perspectives	174
1. Sécurité et contrôle de la qualité des CSM	174
2. Optimisation des modes d'utilisation de CSM	174
3. Les dérivés des CSMA AT, CM, Exosomes	175
4. Nouveaux modes d'utilisation des CSM	177
5. Nouvelles indications cliniques	178
6. Perspectives au service d'Endocrinologie et Diabétologie	179
CONCLUSION	180
RESUMES	183
ANNEXES	190
BIBLIOGRAPHIE	202

INTRODUCTION

Le diabète de type 1 est une maladie chronique qui peut s`installer dès le plus jeune âge. Ce type de diabète se développe le plus fréquemment au moment de l`adolescence et résulte de l`incapacité du pancréas à produire suffisamment d`insuline . Il semble qu`une destruction auto-immune des cellules β soit sous-jacente à ce dysfonctionnement, impliquant à la fois une prédisposition génétique et des facteurs environnementaux.

Jusqu`à ce jour l`unique thérapie possible consiste en un apport externe d`insuline et un monitoring continu de la glycémie, plusieurs fois par jour et durant toute une vie.

Le seul moyen de soigner cette invalidante maladie serait de pouvoir contribuer à la réparation du tissu pancréatique, et éviter la destruction des cellules β par le système immunitaire du patient.

Dans ce sens, et devant le manque de donneurs du pancréas, la transplantation de cellules souches semble être une approche prometteuse. De nombreuses expériences précliniques, suivies par un certain nombre d`essais cliniques , ont été effectués afin d`évaluer la sécurité et l`efficacité des thérapies cellulaires résolument innovantes.[1]

Bien que la technologie pouvant générer des cellules souches in vitro demeure énigmatique, les progéniteurs pancréatiques dérivés de cellules souches se différencient en cellules bêta fonctionnelles. Ces avancées de la dernière décennie témoignent du fait que nous nous approchons des applications cliniques des cellules souches pluripotentes dans le traitement du diabète de type 1. [10][11]

Depuis plusieurs années, la communauté médicale a multiplié les recherches sur les cellules souches. En théorie, celles-ci pourraient remplacer la plupart des cellules malades ou défectueuses du corps. Pour les personnes diagnostiquées avec un diabète de type 1 (DT1), cela semble être une avenue intéressante pour remplacer les cellules productrices d`insuline (cellules bêta des îlots de Langerhans) qui ont été détruites par le système immunitaire de l`individu.[12] [14]

La biologie des cellules souches et leur application thérapeutiques constituent à l'heure actuelle un des sujets les plus intéressants des sciences du vivant [15]. L'intérêt majeur de ces cellules en biologie fondamentale comme en médecine régénérative, réside dans leur capacité unique à aussi bien s'autorenouveler que s'engager dans une ou plusieurs voies de différenciation.[16][17]

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

Enfin, l'utilisation des cellules souches dans un cadre thérapeutique nécessite de définir avec une grande précision les conditions expérimentales permettant leur amplification in vitro et in vivo, de vérifier leur intégration fonctionnelle au sein du tissu lésé et de s'assurer de l'absence de potentiel tumorigène[18][19]

L'objectif de notre étude est de mettre le point sur l'apport des cellules souches mésenchymateuses provenant du tissu adipeux ou de la moelle osseuse dans la régénération des cellules β pancréatiques, et la modulation de la réponse auto-immune. Et par conséquent la diminution des besoins en insuline, et l'amélioration de la prise en charge du diabète de type 1 de découverte récente, afin d'avoir un équilibre glycémique optimal. À travers une étude prospective transversale descriptive portant sur une série de 4 patients atteints de DT1, colligés au service d'Endocrinologie et de Diabétologie de CHU Mohammed VI de Marrakech, sur une période de 12 mois (de Juillet 2021 au Juillet 2022).

Généralités sur la maladie :

I.Épidémiologie :

Le diabète sucré est une maladie mondialement répandue. Il concerne 3 % de la population française soit environ 3 millions de personnes. Entre 300000 et 800000 personnes ignorent leur diabète.

On distingue les diabètes de type 1 marqués par une carence absolue en insuline et les diabètes de type 2 où la pathogénie est plus complexe. Le diabète de type 1 représente environ 15 % de l'ensemble des diabètes et plus de 80 % des diabètes de l'enfance et de l'adolescence [10][11]. Le type 2 représente environ 80 à 90 % de l'ensemble des diabètes. Les autres formes sont plus rares ou exceptionnelles. [12]

1. Prévalence :

La prévalence du diabète de type 1 est en forte augmentation depuis quelques années, il touche plus 10% de la population diabétique et principalement une population relativement jeune.

Au Maroc, plus de 2 millions de personnes âgées de 18 ans et plus sont diabétiques, dont 50% méconnaissent leur maladie, et le nombre d'enfants diabétiques est estimé à plus de 15 000.

D'après les estimations de la Fédération Internationale du Diabète, à l'échelle mondiale, 70 000 enfants de moins de 15 ans développent un diabète de type 1 chaque année. L'âge de déclenchement de la maladie est parallèlement en train de se décaler vers une population encore plus jeune, notamment vers les enfants âgés de moins de 5 ans.[14]

II. Rappel anatomo-physiopathologique :

1. Anatomie :

Le pancréas est situé à l'étage abdominal supérieur, sous l'estomac [15]. Il se compose de trois parties :

- ✚ La tête, la plus volumineuse, est en contact avec le cadre duodénal et avec la veine porte et les artères mésentériques, elle est traversée par la dernière partie du canal cholédoque
- ✚ Le corps, de forme allongée, traverse l'épigastre de droite à gauche, est au contact de l'aorte et de la veine cave inférieure
- ✚ La queue, est située au contact du rein gauche. Le pancréas est représenté par la figure suivante :

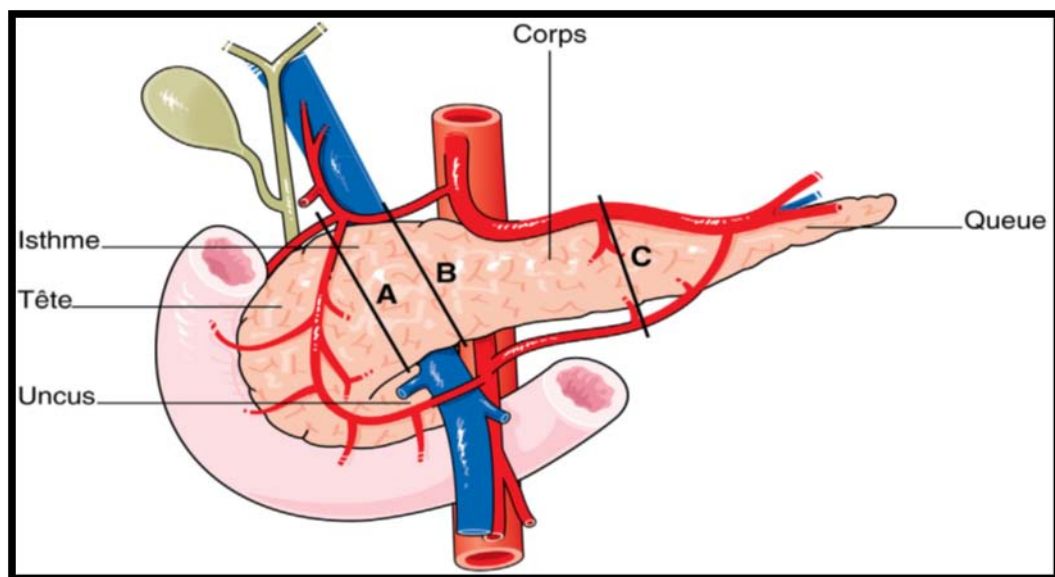


Figure 1 : Anatomie de la loge pancréatique.[16]

- ✚ La ligne A passant par la naissance de l'artère gastroduodénale et le bord droit de l'axe veineux mésentérico-porte forme la limite droite théorique de l'isthme.
- ✚ La ligne B parallèle à la ligne A le long du bord gauche de l'axe mésentéricoporte forme la limite entre le corps et l'isthme.
- ✚ La ligne C tracée au point de croisement de l'artère splénique avec la glande pancréatique définit la naissance de la queue en distalité.

2. Histologie du pancréas :

Le pancréas est une glande amphicrine hétérotypique composée de deux structures distinctes :[17]

a) Pancréas exocrine :

Acinus et canaux excréteurs, assurant :

- La synthèse des enzymes pancréatiques.

b) Îlots de Langerhans :

Pancréas endocrine, de structure diffuse trabéculaire, qui constitue 1% de l'organe et prédomine dans la queue du pancréas, assurant :

- La synthèse d'insuline, de glucagon, de somatostatine.

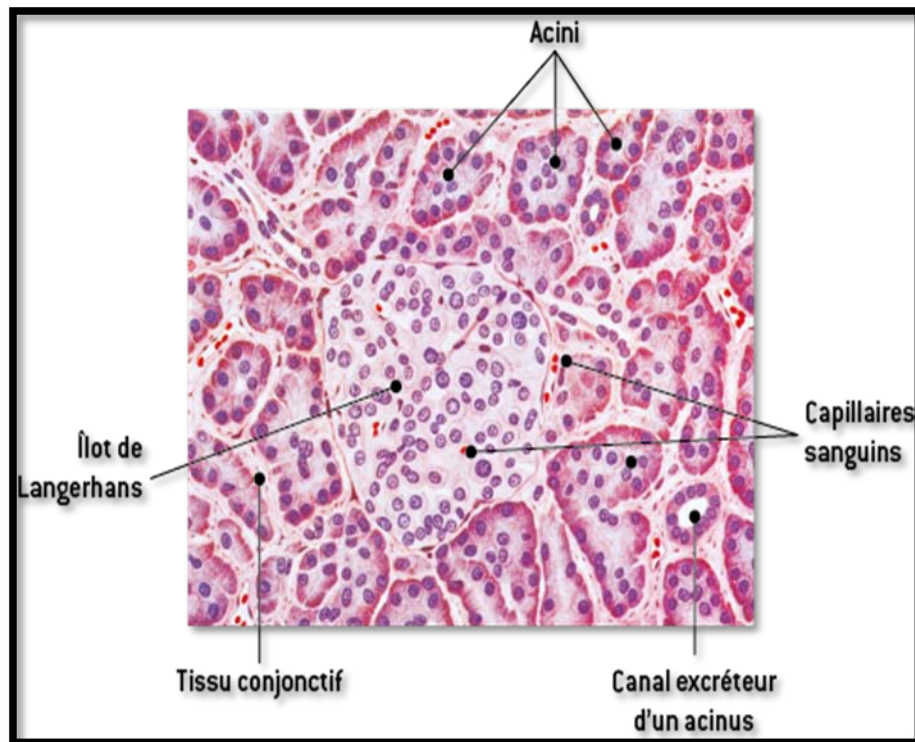


Figure 2 : Histologie du pancréas.

2.1 Caractéristiques des Îlots de Langerhans :

✚ **Amas cellulaires** arrondis peu colorables en microscopie optique en coloration classique (trichrome) :

- 200 à 400 μm de diamètre,
- Plusieurs milliers de cellules par îlot,
- 1 million d'îlots environ mais seulement 1% du pancréas.
- **Dispersés** à l'intérieur du pancréas.
- **Mêlés** aux constituants exocrines.
- **Entourés** d'une fine capsule conjonctive constituée de fibres de réticuline (\pm important selon les espèces).
- Présence de **capillaires fenêtrés**.
- Glande **trabéculée** : cordons irréguliers anastomosés les uns aux autres.
- Richement vascularisés.

2.2. Aspect en Microscope Optique (MO) :

Cellules des îlots plus petites et plus claires par rapport aux cellules acineuses :

- Forme arrondie ou polygonale.
- Chaque Cellule en contact avec réseau capillaire.
- Plusieurs cellules de taille différente.
- Granulations diverses : acidophiles ou basophiles.

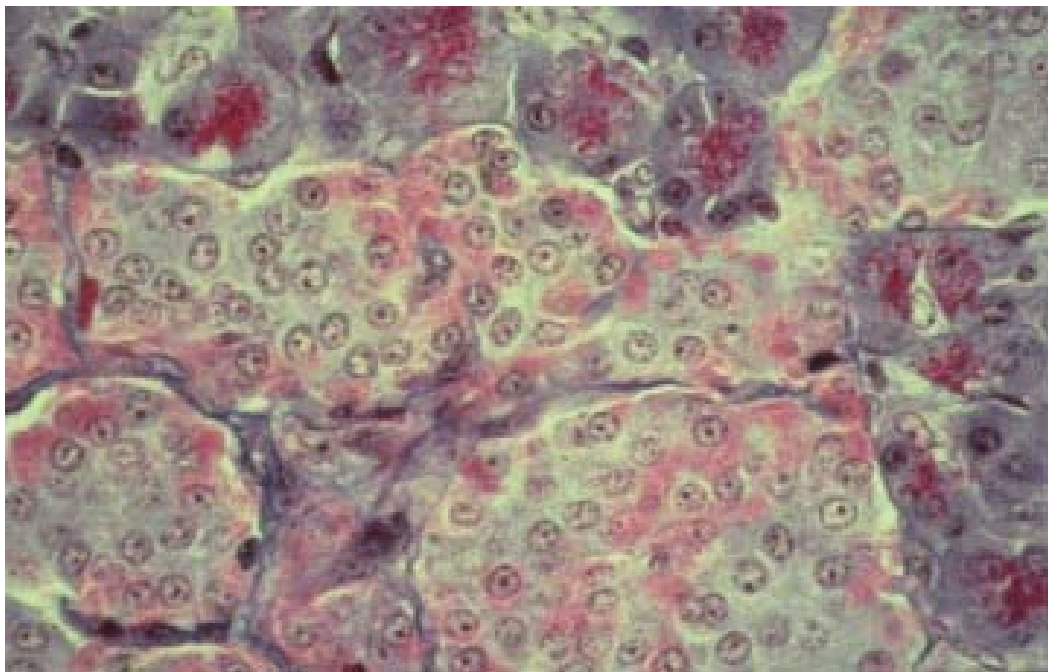


Figure 3 : Granulations diverses en MO.

2.3. Les cellules à insuline (cellules bêta ou cellules B) :

- Réparties dans l'ensemble de l'îlot.
- **Les plus abondantes (environ 70%).**
- REG bien développé.
- Appareil de Golgi important.
- Microtubules et microfilaments en périphérie, interviennent dans l'excrétion de l'insuline.
- Nombreuses enzymes de la dégradation du glucose, transaminases.

- Ca⁺⁺ intracellulaire en grande quantité.
- Nombreuses **granulations** :
 - Grains **bleus** (Gomori = méthode de coloration usuelle).
 - Grains à cœur dense petit et irrégulier (270 nm) entourés d'une membrane. Partie centrale comporte une inclusion cristalline (insuline liée à du **zinc**).
- **Insuline** : hormone protéique :
 - Action : **hypoglycémiante** par entrée de glucose dans les cellules.
 - Si insuline en quantité insuffisante ou si récepteur à insuline en nombre insuffisant -> diabète.[18][19]

2.4. Les cellules à Glucagon :

- Essentiellement à la **périphérie** des îlots : 10 à 30% des cellules des îlots.
- Mêmes organites que cellules à insuline mais moins d'enzymes.
 - Grains de sécrétion :
- **Rouges** (Gomori).
- Grains à cœur dense gros et régulier (230 nm) entourés par une membrane bien visible.
 - **Action : hyperglycémiante.**

2.5. Autres cellules :

- Cellules à **somatostatine (cellules D ou δ)** :
 - Grains non colorables (Gomori).
 - Grains à cœur pâle plus petits (130 nm).
 - Rôle : **antagoniste de l'hormone somatotrope** (hormone de croissance hypophysaire).
- **Cellules PP** :
 - Grains identiques à ceux des cellules à glucagon plus petits (100 nm)

3. Rôles du pancréas :

Le pancréas est une glande mixte constituée de deux tissus principaux [20] : un tissu exocrine et un tissu endocrine. Le tissu exocrine est constitué des acini pancréatiques qui sécrètent les sucs digestifs dans le duodénum. Le tissu endocrine regroupe plusieurs types cellulaires constituant les îlots de Langerhans qui libèrent des hormones directement dans le sang.

Le pancréas endocrine comporte 1 à 2 millions des îlots comprenant chacun plusieurs types cellulaires, qui ont un diamètre d'environ 0,3 mm Ils sont organisés autour de capillaires dans lesquels les cellules des îlots déversent leur contenu hormonal.

Il est possible de différencier 4 types cellulaires :

- ❖ Les cellules alpha, en périphérie, représentent 25 % des îlots et sécrètent le glucagon.
- ❖ Les cellules bêta, tes plus importantes, représentent 60 % des îlots, elles sécrètent l'insuline et sont situées au centre des îlots.
- ❖ Les cellules delta, représentent environ 10 % et sécrètent la somastatine.
- ❖ Les cellules PP sécrètent le peptide pancréatique.

Ces 4 catégories de cellules sont imbriquées dans les îlots ce qui permet une communication de proche en proche entre-elles et un contrôle direct de la sécrétion de certaines hormones par d'autres.

4. L`insuline :

4.1. Structure :

L'insuline est la principale hormone du pancréas [21]. Elle est la seule hormone hypoglycémiante de l'organisme et primordiale dans la régulation de la glycémie [13]. C'est une hormone polypeptidique de 5808 Daltons (Da) [18]. Elle est constituée de 51 acides aminés, répartis en deux chaînes peptidiques : une chaîne A de 21 acides aminés, une chaîne B de 30 acides aminés, reliées entre-elles par des ponts disulfures [14]. En voici une

schématisation :

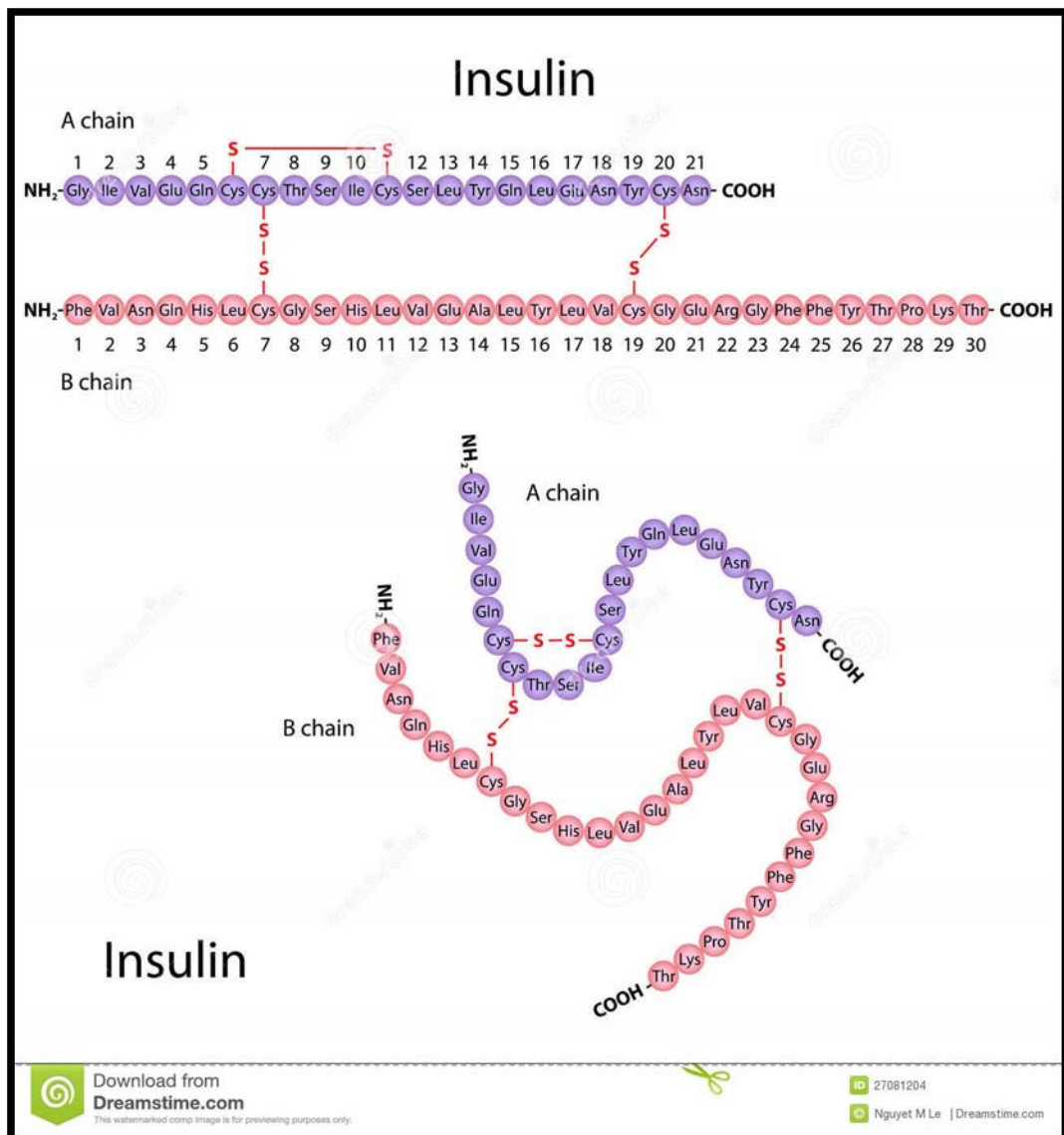


Figure 4 : la structure de l'insuline humaine.

4.2. Biosynthèse

L'insuline est synthétisée par les cellules bêta des îlots de Langerhans [22] sous forme inactive d'une pré-pro-insuline dont le poids moléculaire est d'environ de 12000 Da.

La synthèse de ce précurseur est assurée par les polyribosomes du réticulum endoplasmique rugueux (RER) des cellules b. La séquence « pré » est une séquence signal qui permet à la protéine élaborée par les polyribosomes de pénétrer dans les cavités du réticulum

endoplasmique.

La molécule subit une première transformation : la séquence « pré » est coupée et il y a apparition de ponts disulfures au sein de la molécule. On obtient une pro-insuline à chaîne unique de 86 acides aminés composée de deux chaînes polypeptidiques A et B (reliées par des ponts disulfures) et d'un peptide C de connexion de 33 acides aminés [22][23].

La pro-insuline est transportée par des vésicules vers l'appareil de Golgi où elle subit une deuxième transformation : elle est scindée par clivage enzymatique en insuline active et en peptide C [24]. Cette transformation se fait très lentement : il faut environ 1 heure pour activer la moitié de la pro-insuline en insuline. Après 5 heures, il reste encore de la pro-insuline [25].

L'insuline et de petites quantités de pro-insuline sont ensuite stockées au niveau des granules de sécrétion des cellules b [14]. Le zinc contenu dans les cellules bêta favorise la formation d'hexamères d'insuline dans les granules, en même temps qu'il protège l'insuline de l'attaque enzymatique [13].

4.3. Actions physiologiques [24]

L'insuline est la seule hormone peptidique hypoglycémisante sécrétée par de petits amas de cellules du pancréas, appelés îlots de Langerhans. Son rôle est vital dans le métabolisme.

L'insuline agit essentiellement sur le métabolisme des glucides, des protéides et des lipides.

- **Sur le métabolisme glucidique :**

- Au niveau du foie :

L'insuline favorise les voies d'utilisation du glucose : pénétration massive du glucose dans le foie par activation des transporteurs et son métabolisme immédiat, la glycogénogenèse et la glycolyse.

L'insuline inhibe la néoglucogenèse et la glycogénolyse.

- Au niveau du tissu adipeux :

L'hormone favorise le transport membranaire du glucose, et la formation d'acides gras et de triglycérides.

—Au niveau du muscle :

L'hormone active le transport du glucose dans la cellule, au repos, et son stockage sous forme de glycogène. Pendant l'exercice musculaire, l'utilisation du glucose ne dépend pas de l'insulinosécrétion.

- **Sur le métabolisme protidique :**

Elle inhibe le catabolisme protéique et stimule la synthèse protéique.

Elle maintient l'équilibre azoté, freine la captation des acides aminés par les tissus et inhibe la néoglucogenèse.

- **Sur le métabolisme lipidique :**

Elle a un effet stimulant sur la lipogenèse et inhibe la lipolyse. Au niveau du muscle, sous l'influence de l'insuline, l'oxydation du glucose est accélérée, celle des acides gras diminuée. L'estérification des acides gras en triglycérides est augmentée.

Enfin, l'insuline a un puissant effet anticétogénique.

Au-delà de son effet immédiat sur la régulation des flux de substrats, l'insuline a des effets à plus long terme sur la croissance ; c'est une hormone anabolisante. Il est ici intéressant de souligner la forte homologie entre l'insuline et le principal facteur de la croissance, l'insulin-like growth factor (IGF-1), ou « facteur de croissance similaire à l'insuline ». L'insuline en tant que molécule de signalisation de la présence d'aliments dans le tube digestif peut être assimilée à une hormone de l'abondance, signalant le surplus énergétique permettant la croissance.

L'insuline a des effets anabolisants directs, par son action sur les métabolismes des glucides, protéines et lipides, mais aussi indirects, par la régulation des protéines porteuses de l'IGF-1.

5. La physiopathologie du diabète type 1 :

Le diabète de type I est l'aboutissement d'un processus auto-immun chronique qui attaque et détruit les cellules bêta des îlots de Langerhans du pancréas. Il en résulte une carence complète en insuline.[28]

Les lésions observées sont sélectives des cellules b et ne touchent pas les autres cellules endocrines du pancréas.

L'émergence du diabète clinique résulte d'une destruction de plus de 80 % du capital b, seuil au-delà duquel la sécrétion d'insuline est insuffisante pour maintenir une normoglycémie. Cette destruction met en jeu des mécanismes auto-immuns, à la faveur d'une prédisposition génétique et de facteurs environnementaux, essentiellement viraux ou toxiques.

Cette maladie apparaît comme une pathologie multifactorielle et de nombreuses études sont encore consacrées à préciser le rôle respectif de chacun des facteurs, en particulier les facteurs génétiques et environnementaux.

L'ancienne définition fondée sur des critères cliniques (diabète insulino-dépendant, ou DID) n'est pas opératoire car certaines formes cliniques n'exigent pas un traitement par l'insuline. Ainsi, le pré diabète de type 1, la phase de rémission et le diabète de type 1 lent, ou LADA sont d'authentiques diabètes de type 1 non « insulino-dépendants ».

On distingue dans la classification de l'American Diabetes Association, qui fait référence, deux sous-types : [26][28]

- Le diabète de type 1 auto-immun, le plus fréquent (il représente plus de 90 % des cas), incluant le type 1 lent ou LADA ;
- Le diabète de type 1 idiopathique (caractérisé par l'absence d'auto-anticorps). Il s'agit d'un cadre nosologique mal défini, incluant les diabètes céto-acidotiques du sujet noir originaire d'Afrique subsaharienne et les diabètes suraigus japonais.

PRÉ DISPOSITON GÉ NÉTIQUE:

La prédisposition génétique est toujours présente, même si dans 85 % des cas il n'existe pas d'antécédents familiaux de diabète de type 1.

Les principaux gènes de prédisposition appartiennent au complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) ; il s'agit de différents antigènes de classe 2 appelés HLA (human leukocyte antigen) : HLA-DR3, - DR4, - DQB1*0201 et DQB1*0302.

Il existe aussi des HLA protecteurs : - DR2, - DQ, - W1-2, - DQB1*0602. En fait, il semble que la prédisposition au diabète de type 1 soit oligogénique, avec au moins une vingtaine de loci identifiés. Outre les gènes du CMH impliqués dans la prédisposition au diabète de type 1, il existe :

- Des éléments variables au sein du gène de l'insuline, les VNTR (variable number tandem repeat).
- Le gène codant la molécule CTLA-4, récepteur lié au phénomène d'immunomodulation des lymphocytes T.
- Le PTP-N22, codant une tyrosine phosphatase qui module l'activation du récepteur T et dont le lien avec cette mutation est retrouvé pour beaucoup de maladies auto-immunes.[27]

6. Histoire naturelle du diabète type 1 :

Le schéma théorique actuellement admis de l'histoire naturelle du diabète de type 1 comporte trois phases.

La première est caractérisée par l'existence d'une susceptibilité génétique à la maladie auto-immune anti-cellules d'îlots. Sur ce terrain, un événement déclenchant, possiblement environnemental, conduirait à l'activation du système immunitaire contre des déterminants antigéniques des cellules d'îlots : c'est la phase préclinique ou prédiabète, au cours de laquelle des marqueurs d'auto-immunité sont détectables.

Le diabète clinique est caractérisé par l'apparition d'une hyperglycémie [25]. Dans les jours qui suivent le diagnostic, après la mise en place du traitement insulinique, peut survenir une rémission transitoire.

Au cours des premières années du diabète, l'insulinosécrétion résiduelle favorise une équilibration relativement facile de celui-ci par de faibles doses d'insuline. Plus les années passent, plus le diabète est difficile à équilibrer. En France, seulement 30 % des diabétiques ont un contrôle glycémique moyen satisfaisant.

7. Facteurs déclenchants :

De nombreux arguments suggèrent l'influence de facteurs environnementaux dans le déclenchement de la maladie : la discordance de fréquence chez les jumeaux identiques, les variations d'incidence entre pays, l'influence de l'alimentation et de certaines infections virales chez les modèles animaux.

7.1. Les virus :

Le rôle potentiel d'une infection virale dans la pathogénie du diabète de type 1 fut suspecté initialement à partir d'études épidémiologiques et par l'existence de modèles de diabètes viro-induits chez l'animal [26].

Il fut remarqué que le début clinique du diabète de type 1 chez l'homme présenté un maximum saisonnier (en automne et en hiver) et qu'il suivait les infections à Coxsackie B. Il est à noter aussi que chez l'enfant, les infections à Coxsackie B présentent des périodes de réinfestation qui coïncident avec les périodes d'apparition du diabète [20].

D'autres virus tels que la rubéole congénitale, les oreillons, le virus d'Epstein-Ban ont été accusés, sans preuve indiscutable [20] [28].

Actuellement, on note des cas de diabète type 1 après l'infection au SARS Covid.

L'intervention des virus dans l'initiation de la maladie reste à l'heure actuelle qu'à l'état d'hypothèse.

7.2. Les toxiques

Il existe certaines substances chimiques ou médicamenteuses capables de détruire les

cellules β . L'alloxane, la streptozocine, la pentamidine et le pyruvate (raticide) présentent une toxicité directe sur les cellules β et de ce fait ont été suspectés de jouer un rôle dans le déclenchement du mécanisme auto-immun, mais sans aucune preuve tangible [16].

7.3. L'alimentation :

Le risque de développer un diabète pourrait dépendre pour partie de certaines habitudes alimentaires, comme suggéré par l'existence d'un gradient Nord-Sud. En effet, une corrélation a pu être établie entre l'introduction de protéines de lait de vache dans l'alimentation chez le rat et l'accélération du diabète de type 1. D'autres facteurs diététiques sont mis en cause [26].

Toutefois bien que les données dans les modèles animaux soient étayées, l'implication des facteurs alimentaires dans le développement du diabète chez l'homme est loin d'être démontrée.

7.4. Agression et stress :

Toute agression, qu'elle soit physique (accident, chirurgie, maladie) ou psychique peut déclencher un diabète de type 1 chez un sujet prédisposé. La responsabilité de ces facteurs dans le déclenchement de la maladie reste discutée [28].

8. Processus auto-immun :

Les principaux auto-antigènes ciblés par la réponse immune sont : [29]

- l'insuline et la pro-insuline ;
- la GAD (décarboxylase de l'acide glutamique) ;
- IA2 (islet antigen number 2)

Il existe des arguments pour suggérer que l'insuline puisse être le premier antigène (souris pro-insuline 2 knock out [ko], premier anticorps à survenir dans certaines études). [30]

Un nouvel auto-anticorps a été identifié. Il s'agit de la molécule Zn T-8 ou Slc30A8. Ce transporteur contrôle les mouvements du zinc, cation dont on connaît par ailleurs l'activité sur la stabilisation de la molécule d'insuline. Les anticorps dirigés contre Zn T-8 sont retrouvés dans 60 à 80 % des cas de diabète de type 1, contre seulement 2 % chez les contrôlés et 3 % dans le diabète de type 2. De surcroît, cette immunoréactivité est retrouvée chez environ un

quart des patients souffrant de diabète de type 1, par ailleurs négatifs pour les auto-anticorps traditionnels.

La lésion pancréatique est l'insulite (inflammation de l'îlot de Langerhans), siège de la destruction des cellules bêta par les lymphocytes cytotoxiques (le diabète de type 1 est considéré comme une maladie à médiation cellulaire faisant intervenir le lymphocyte T), mais aussi par les cytokines macrophagiques.

Au moins l'un des auto-anticorps témoins circulants suivants est détectable dans 95 % des cas au diagnostic (+++) :

- les anticorps anti-îlots (ICA) ;
- les anticorps anti-GAD ;
- les anticorps anti-ZnT8 ;
- les anticorps anti-IA2 ;
- les anticorps anti-insuline.

Les auto-anticorps anti-insuline sont surtout observés chez les sujets âgés de moins de 15 ans. Les anticorps anti-GAD s'observent à tout âge et persistent pendant toute la durée de l'évolution.[31][32]

Nous manquons de moyens standardisables et fiables pour explorer la réaction immune cellulaire dirigée contre des peptides insulaires.

La destruction des cellules bêta est un processus étalé dans le temps, avant et après l'apparition du diabète.

La fréquence des autres maladies auto-immunes associées (10 à 15 %) et/ou des anticorps spécifiques d'organes (30 %) fait entrer le DT1 dans le cadre des syndromes polyendocriniens auto-immuns (APS1 et APS2).

➤ **La cinétique des anticorps spécifiques du DT1 :**

La présence et la cinétique de chaque anticorps du DT1 dépend non seulement de l'âge du patient diabétique au moment du diagnostic, mais aussi de l'ancienneté du diabète.[29]

Concernant l'âge du patient diabétique au moment du diagnostic, selon des études prospectives chez les enfants de mères diabétiques, les IAA (anticorps anti-insuline) sont les premières autos anticorps spécifiques à se positiver ; Il a également été proposé que l'IAA prédisait mieux le DT1 chez les enfants que chez les adultes.

Concernant l'ancienneté du diabète, le pourcentage des auto-anticorps est inversement proportionnel à l'évolution de la maladie diabétique, en effet, le nombre d'auto-anticorps diminue avec la durée du diabète.

Le GAD65Ab a tendance à être le plus répandu par rapport à d'autres auto-antigènes et à persister plus longtemps après le diagnostic de DT1. Près de 50% des patients avec une durée de maladie de 10 ans peuvent toujours être positifs pour GAD65Ab.25.

9. Le mode de révélation :

Les signes cliniques initiaux habituellement rencontrés sont les suivants : [20][31]

- Début rapide ou explosif (quelques semaines), « le coup de tonnerre dans un ciel calme ».
- Syndrome cardinal (polyuro-polydypsie, amaigrissement, polyphagie).
- Troubles visuels transitoires (anomalies de la réfraction, constatées surtout dans les jours qui suivent la normalisation glycémique après introduction de l'insuline).
- Examen pauvre : fonte musculaire (quadriceps), exceptionnelle hépatomégalie, recherche de signes d'acidose (dyspnée de Kusmall).
- Diagnostic par mesure de la glycémie veineuse (souvent franchement élevé).
- Autres éléments, tels que la glycosurie massive et surtout la cétonurie (+++).
- Révélation possible par une acidocétose inaugurale.

Il faut noter que cette forme de début très classique ne résume pas les modes d'entrée dans la maladie, tels que l'hyperglycémie de découverte fortuite, le diabète gestationnel ou le bilan familial, par exemple.

En outre, l'augmentation de l'obésité dans les sociétés industrialisées fait que la maigreur peut être absente.

10. Le diagnostic positif :

Le diabète sucré est caractérisé par une élévation anormale et chronique de la glycémie. Le diagnostic du diabète est maintenant porté pour une glycémie à jeun supérieure à 7,0 mmol/l soit 1,26 g/l à deux reprises selon l'OMS et l'ADA (American Diabetes Association).

Le test biologique de diagnostic serait donc la détermination de la glycémie. Dans certains cas, l'épreuve d'hyperglycémie provoquée par voie orale peut servir au diagnostic.

D'autres tests complémentaires existent mais ont un intérêt limité dans le diagnostic du diabète de type 1.

Le diagnostic peut être clinique si l'hyperglycémie est associée à la triade classique « maigreur/cétose/âge < 35 ans ».

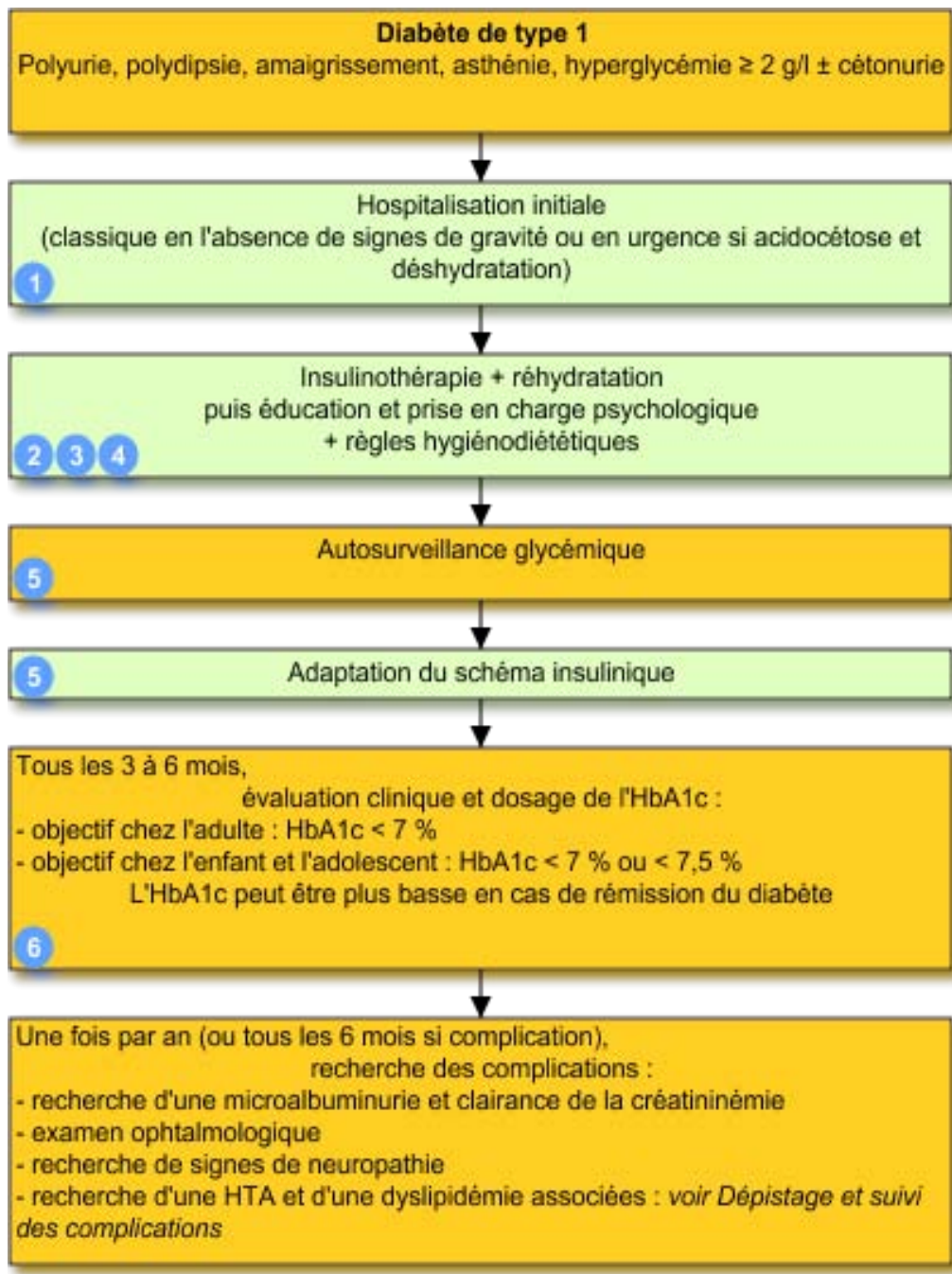
Si un des critères manque, il est préférable de s'aider de paramètres immunogénétiques : auto-anticorps surtout (+++) et, plus accessoirement, le typage HLA. La mesure du peptide C basal ou après stimulation (glucagon ou repas test) est rarement nécessaire, hors protocole de recherche, où la sécrétion endogène résiduelle doit être mesurée.

Si ces marqueurs sont négatifs, il faudra éliminer les autres formes de diabète pouvant ressembler au type 1, tels les Maturity onset diabetes of the young (MODY) 1 et 3, les diabètes secondaires à une mutation du gène de l'insuline, les diabètes mitochondriaux ou le syndrome de Wolfram.[20]

L'interrogatoire et l'histoire familiale, ainsi que l'existence de signes associés tels que les « associations illégitimes » permettront d'orienter la demande de confirmation au moyen du diagnostic moléculaire de l'anomalie génétique

Chez le sujet d'âge moyen, il faudra aussi penser aux diabètes secondaires (cancer du pancréas ou pancréatite chronique, en cas d'alcoolisme, nécessitant une imagerie de la glande ou bien encore l'hémochromatose au contexte évocateur).

11. Prise en charge du diabète type 1 :



- **Hospitalisation**

Elle est systématique pour la mise en route du traitement. Elle est urgente en cas d'acidocétose et de déshydratation, et peut nécessiter des mesures de réanimation.

- **Insulinothérapie**

Elle est débutée immédiatement en cas d'acidocétose, en association avec d'éventuelles mesures de réanimation (réhydratation, correction de l'hypokaliémie). L'insuline peut ensuite être administrée selon différents schémas, pour mimer au mieux l'insulinosécrétion physiologique.

La pompe à insuline externe est une alternative utile chez le jeune enfant, la femme enceinte ou l'adulte volontaire.[33][37]

- **Éducation thérapeutique et aide psychologique**

Essentielle, l'éducation thérapeutique doit être dispensée par des professionnels de santé qui prennent en compte le vécu du patient et de son entourage.

Le diabète peut provoquer une détresse personnelle et familiale grave. Un soutien psychologique peut améliorer le contrôle métabolique.[34]

- **Règles hygiéno-diététiques**

Les conseils nutritionnels doivent être adaptés aux traditions culturelles, ethniques et familiales, et agissent de façon indissociable de l'action de l'insulinothérapie.

La pratique régulière d'une activité physique permet souvent de diminuer les doses quotidiennes d'insuline et favorise un meilleur équilibre métabolique. Elle nécessite une éducation pour éviter hypo et hyperglycémie au moment du sport et/ou en différé.[35]

- **Auto-surveillance et adaptation du traitement**

L'auto-surveillance par mesure de la glycémie capillaire est essentielle. Elle permet d'évaluer les réponses glycémiques à l'insuline, à l'alimentation et à l'exercice physique.[33][36]

L'adaptation est nécessaire en cas d'événements intercurrents : infections, fièvre, chirurgie, traumatisme.

La mesure continue de la glycémie permet, chez certains patients, d'améliorer le contrôle glycémique, notamment chez les patients sous multi-injections d'insuline et sous pompe à insuline externe.

- **Les nouvelles technologies d'auto-surveillance glycémique**

Pour définir la dose d'insuline à s'injecter, les diabétiques de type 1, doivent effectuer des auto-mesures de leur glycémie (taux de glucose dans le sang) plusieurs fois par jour. Ces piqûres sont à la fois contraignantes et douloureuses pour les patients. Par ailleurs, les diabétiques sont amenés à consulter très souvent leur médecin pour adapter leur traitement.

De nouveaux dispositifs ont récemment été évalués par la HAS (Haute Autorité de Santé) : **Le système capteur-lecteur glycémique, le logiciel de télésurveillance du diabète , Pancréas Artificiel**, dont le but est de faciliter l'auto-surveillance glycémique et la rendre moins contraignante pour le patient.

Le système capteur-lecteur glycémique :

Ce système [38] est un système d'auto-surveillance du glucose sans piqûre, qui comprend un capteur et un lecteur. Pour mesurer le glucose, un **capteur** (3 cm de diamètre) relié à un filament inséré sous la peau est placé sur la face postérieure du bras.

Un simple **scan** avec le **lecteur** au niveau du capteur permet de connaître le taux de glucose interstitiel (glucose présent entre les cellules, reflet du taux de glucose dans le sang). Le **glucose interstitiel** est mesuré en continu jour comme nuit par le capteur.

L'appareil indique plusieurs paramètres :

- La valeur du glucose interstitiel ;
- L'historique des mesures sur les 8 dernières heures ;
- La tendance à l'**hypo-** ou à l'**hyperglycémie** grâce à de simples flèches ;

Les piqûres pour déterminer le glucose sanguin disparaissent du quotidien des diabétiques et se limitent à quelques situations particulières (évolution rapide du taux de glucose, imminence d'une hypoglycémie, symptômes incohérents avec la mesure du glucose

interstitielle). Quant au capteur, il est compatible avec toutes les activités quotidiennes (douche, sport, natation, etc.). Il doit simplement être changé toutes les deux semaines.

Ce nouveau dispositif permet d'améliorer considérablement la vie des diabétiques traités par insuline en limitant le recours aux piqûres. Destiné à tous les diabétiques traités par insuline et réalisant plus de 3 auto-mesures de glucose par jour, il est simple d'utilisation. Toutefois, une **éducation thérapeutique** sur le diabète et une **formation** à l'utilisation de Freestyle Libre sont indispensables pour garantir une bonne utilisation du dispositif. Une période d'**essai** d'un mois est préconisée pour évaluer la **tolérance** au capteur et l'efficacité du suivi glycémique.



Figure 5 : Capteur du lecteur Freestyle libre.



Figure 6 : Lecteur de glycémie Freestyle libre.

↑	Le taux de glucose augmente rapidement (plus de 2 mg/dL par minute)
↗	Le taux de glucose augmente (entre 1 et 2 mg/dL par minute)
→	Le taux de glucose se modifie lentement (moins de 1 mg/dL par minute)
↘	Le taux de glucose est en baisse (entre 1 et 2 mg/dL par minute)
↓	Le taux de glucose est en baisse rapide (plus de 2 mg/dL par minute)
Remarque : la flèche de tendance du taux de glucose peut ne pas toujours apparaître avec votre résultat.	

Figure 7 : Flèche de tendance et signification.

Un logiciel de télésurveillance du diabète :

C'est un logiciel[38][39] développé pour les diabétiques de type 1. Connecté à une application smartphone, il offre la possibilité d'un accompagnement et d'une surveillance médicale à distance. Le patient saisit dans un carnet de surveillance électronique plusieurs données :

- Son taux de glycémie ;
- Son activité physique ;
- Les doses d'insuline injectées ;
- La quantité de sucre qu'il pense consommer dans les prochaines heures.

A partir de ces données, Diabéo calcule la dose d'insuline à injecter et donne des conseils adaptés. Ces données sont également transmises en temps réel aux médecins qui suivent à distance le patient (service de télémédecine).

Grâce à ce dispositif, le patient bénéficie d'un meilleur suivi de sa maladie, maîtrise mieux son traitement et parvient à mieux concilier sa maladie avec sa vie quotidienne. Il devient un véritable **acteur** de sa santé.

Pancréas artificiel :

Il ne s'agit pas d'un faux organe qui serait implanté dans le patient, mais d'une technologie externe, destinée à pallier la perte de sécrétion d'insuline par l'organe défaillant.[40]

Le dispositif est constitué de **trois composants clés : un capteur, une pompe et un algorithme.**

- Le capteur sous-cutané mesure la glycémie du patient en continu.
- La pompe perfuse l'insuline en continu, par l'intermédiaire d'une fine tubulure positionnée sous la peau.
- La troisième partie du système : l'algorithme capable de faire le lien entre le capteur et la pompe de façon automatique.



Figure 8 : Les différentes composantes du Pancréas Artificiel.

Ces dispositifs améliorent considérablement le quotidien des diabétiques. Une nouvelle preuve de l'intérêt des nouvelles technologies dans le domaine de la santé.

- **Surveillance de l'HbA1c**

C'est un paramètre indispensable de surveillance tous les 2 à 3 mois, à interpréter en fonction de la présence éventuelle d'hypoglycémies.

L'objectif est de maintenir HbA1c à moins de 7,5% (glycémie considérée comme bien équilibrée, à moduler par le spécialiste selon les patients et les situations particulières).

- **Insulinothérapie : instauration et suivi du traitement**

La dose quotidienne d'insuline est variable et dépend de nombreux facteurs : âge, poids, stade pubertaire, ancienneté du diabète, état des zones d'injection, répartition des apports nutritionnels, niveau d'activité physique, habitudes de vie, maladies intercurrentes. Elle doit être réévaluée régulièrement par l'auto-surveillance glycémique.

Aucun des schémas d'insulinothérapie utilisés ne reproduit exactement la physiologie normale. Seuls les traitements par pompe permettent de s'en approcher, à condition d'effectuer une auto-surveillance glycémique régulière et répétée.[40]

Au moment de la découverte d'un diabète, les doses d'insuline peuvent baisser très rapidement les premières semaines « lune de miel » et justifient une auto-surveillance glycémique accrue. Par la suite, elles ré-augmentent sur une période très variable d'un individu à l'autre.

L'évaluation de l'efficacité du traitement repose sur la mesure de l'hémoglobine glyquée (HbA1c), la survenue d'hypoglycémies, la prise en compte de la croissance chez l'enfant, et de la qualité de vie chez tous les patients.

Chez l'adulte, les principaux schémas utilisés pour les traitements d'entretien sont les suivants :

- Quatre à 5 injections par jour (schéma basal-bolus) : une insuline rapide (ou analogue rapide) avant chacun des principaux repas et une insuline d'action intermédiaire matin et soir ou analogue lent une fois par jour, de préférence le soir au coucher.
- Trois injections par jour : mélange d'insuline d'action rapide (ou analogue rapide) et d'insuline d'action intermédiaire (ou analogue intermédiaire) avant le petit déjeuner et le repas du soir, et une insuline d'action rapide (ou analogue rapide) avant le repas de midi. Dans ce schéma, le mélange de l'insuline rapide + insuline d'action intermédiaire du soir peut être décalée au moment du coucher pour mieux couvrir les besoins insuliniques de fin de nuit, et l'insuline rapide du midi remplacée par un mélange d'insuline d'action rapide (ou analogue rapide) et d'insuline d'action intermédiaire.
- Éventuellement, 2 injections par jour : mélange d'insuline d'action rapide (ou analogue rapide) et d'insuline d'action intermédiaire (avant le petit déjeuner et le repas du soir).
- L'administration par pompe portable d'insuline ou analogue rapide permet un débit de base fixe ou variable selon les horaires de la journée ou de la nuit, ainsi que des bolus au moment des repas. Elle relève au moins au départ d'une prise en charge spécialisée.

Les schémas d'administration de type basal-bolus ou par pompe sont ceux qui reproduisent le mieux la physiologie normale. En cas de mauvais contrôle, un changement du schéma insulinique est discuté après avoir pris en compte les autres paramètres de l'équilibre glycémique (régime alimentaire, activité physique, observance).

Certaines équipes prônent l'utilisation de l'insulinothérapie fonctionnelle avec adaptation des doses d'insuline sur la quantité de glucides ingérés, possible chez des patients volontaires et très éduqués.

Pour certains experts, les insulines biphasiques sont trop souvent utilisées au détriment des schémas basal-bolus.

Chez l'enfant, une approche individualisée est souhaitable et le schéma basal/bolus avec dissociation des insulines rapides des basales est recommandé à condition d'éviter hyper et hypoglycémies.

Pendant les phases de rémission partielle, appelées « lunes de miel », l'insulinothérapie sera allégée la plupart du temps mais pas supprimée, pour en faciliter l'acceptation (1 injection par jour étant parfois suffisante pour un contrôle glycémique satisfaisant).

Les biguanides n'ont pas leur place dans le traitement initial du diabète de type 1. En revanche, ils sont parfois utilisés pour diminuer les doses d'insuline dans certains cas de diabète de type 1 de l'adulte avec insulino-résistance.

Le suivi comprend une réévaluation périodique des apports alimentaires (problème de la prise de poids sous insuline parfois responsable d'un déséquilibre glycémique par rupture de traitement observé à l'adolescence).

- **Dépistage et suivi des complications**

Les complications du diabète sont liées :

- À l'athérome : insuffisance coronaire, artériopathie des membres inférieurs, accident vasculaire cérébral (AVC) ischémique, dysfonction érectile.
- À la microangiopathie : rétinopathie, néphropathie, neuropathie (des membres ou viscérale : diarrhée, hypotension orthostatique, etc.).
- À l'hyperglycémie, qui peut mener à l'acidocétose et au coma hyperosmolaire (en cas de déshydratation).
- Aux risques infectieux en partie liés à l'hyperglycémie.
- Aux effets indésirables de l'insulinothérapie : hypoglycémie.
- Au déficit en insuline, qui peut mener à l'acidocétose, voire au coma diabétique.

Les examens suivants sont recommandés :

- À chaque consultation : Interrogatoire et examen clinique à la recherche de complications, y compris pied diabétique.[33][38]

- **Conseils aux patients**

Une éducation du patient diabétique est indispensable. Elle améliore l'observance et participe à un meilleur contrôle glycémique.

La prise en charge est, au mieux, assurée par une équipe : médecin traitant, pédiatre spécialisé en diabétologie, infirmiers spécialisés et/ou éducateurs, diététiciens.[36]

L'auto-surveillance glycémique par mesure de la glycémie capillaire est un outil utile à cette éducation, et peut être demandée jusqu'à 6 à 8 fois par jour, notamment quand le patient possède une pompe externe.

Une mesure continue de la glycémie avec utilisation de logiciels de recueil des valeurs permet une amélioration du contrôle glycémique de patients sous pompe à insuline externe. Certains systèmes d'auto-surveillance du glucose interstitiel, via des capteurs, permettent de simplifier le suivi, sans nécessité de prélèvement de sang.

Le projet éducatif doit être personnalisé, énoncé en termes d'objectifs et, si possible, impliquer l'entourage du patient. Il doit comporter l'apprentissage des gestes techniques (auto-injection d'insuline, auto-surveillance glycémique).

Une évaluation régulière de l'intégration des principes d'éducation par le patient doit être effectuée.

L'adhésion à une association de malades ou autre groupe de soutien est souvent utile.

Le port d'une « carte de diabétique » peut aider à la prise en charge des urgences.

Lorsque les injections ne peuvent être réalisées par le patient, l'intervention d'un infirmier à domicile est nécessaire.

L'assistante sociale, l'école et le médecin du travail aident au choix des métiers et peuvent aménager des postes devenus inadaptés.

Le permis de conduire relève d'une procédure adaptée.

MATERIELS ET METHODES

I. Matériels de l'étude :

1. Lieu et durée de l'étude :

Cette étude a été effectuée au service d'Endocrinologie et de Diabétologie du Centre hospitalier universitaire (CHU) Mohammed VI de Marrakech, sur une durée d'un an, allant du 1 Juillet 2021 au 1 Juillet 2022.

2. L'objectif de l'étude :

L'objectif de notre étude est d'établir un protocole de la mise en place de la greffe des cellules souches, et de mettre le point sur l'apport de ces cellules souches provenant du tissu adipeux ou de la moelle osseuse, dans la régénération des cellules β pancréatiques, et la modulation de la réponse auto-immune. Et par conséquent diminuer les besoins en insuline et améliorer la qualité de la prise en charge des diabétiques de type 1 de découverte récente, pour avoir un équilibre glycémique optimal.

3. Population de l'étude :

Il s'agit d'une étude prospective transversale descriptive, portant sur une série de 4 patients diabétiques type 1, ayant bénéficié d'une autogreffe de cellules souches mésenchymateuses dérivées du tissu adipeux ou de la moelle osseuse, au service d'Endocrinologie-Diabétologie du Centre Hospitalier Universitaire (CHU) Mohammed VI, à Marrakech

3.1. Critères d'inclusion :

L'étude a inclus :

- Des patients diagnostiqués diabétiques type 1, sans autres maladies auto-immune associées,
- Des patients diabétique type 1 récemment découverts (< 5 ans), acceptant la greffe des cellules souches mésenchymateuses,
- Des patients à indice de masse corporelle normal (IMC),
- Des patient avec des marqueurs tumoraux négatifs (AFP, Ca125, ACE, Ca15-3, Ca19-9).

3.2. Critères d'exclusion :

On a exclu de l'étude :

- Les patients diagnostiqués diabétiques type 2,
- Les patients diagnostiqués diabétiques type 1 avec autres maladies auto-immune associées (thyroïdite auto-immune, la maladie cœliaque, la maladie d'Addison, l'anémie de Biermer),
- Les autres types de diabète :
 - le diabète lié à la mucoviscidose, c'est un diabète insulino-dépendant, mais d'un mécanisme différent de celui du diabète de type 1.
 - le diabète de type MODY (Maturity Onset-Type Diabetes of Youth).
 - Autres types très rares :
 - Le diabète néonatal ;
 - Les diabètes par résistance extrême à l'insuline ;
 - Le diabète mitochondrial ;
 - Les formes génétiques très rares de diabète sucré ;
- Les patients avec des marqueurs tumoraux positifs (AFP ,Ca125 ,ACE ,Ca15-3 ,Ca19-9),
- Les patient avec des sérologies de l'hépatite C/ hépatite B/ HIV positives,
- Les patients porteurs d'une pathologie cardiaque, respiratoire, hépatique, rénale ou psychiatrique,
- La grossesse.

4. Projet du service :

- Exemple type de multidisciplinarité :
 - Service d'Endocrinologie : qui recrute les patients candidats, qui veille au bon déroulement de la greffe, à la surveillance du patient en post greffe, et au suivi du patient.

- Service de chirurgie plastique : qui va réaliser le prélèvement.
- Le centre de recherche en médecine régénérative : qui va assurer le traitement du prélèvement et l'isolement des cellules souches.

II. Méthodes et protocole du projet :

Il s'agit d'un projet pilote de greffe de cellules souches chez des diabétiques type 1 soigneusement sélectionnés, dont le recueil des données anamnestiques, cliniques, paracliniques, thérapeutiques, et évolutives de chaque patient, a été réalisé à partir des dossiers médicaux d'Endocrinologie et Diabétologie de l'hôpital Arrazi du CHU Mohammed VI , à Marrakech

Ces dossiers ont été exploités grâce à une fiche d'exploitation (annexe 1) comprenant les caractéristiques épidémiologiques du patient, les antécédents, les données cliniques et paracliniques (bilan biologique, immunologique, les sérologies), la prise en charge thérapeutique, et le suivi post-greffe des patients.

III. Consentement éclairé et photographie :

Une documentation photographique précise a devenu incontournable en chirurgie plastique à des fins cliniques et scientifiques.

En règle générale , le « consentement éclairé » exige que le patient soit informé des risques du traitement, le pronostic et les traitements alternatifs avant d'approuver le traitement.

Le consentement n'est pas un événement ou une signature mais est un processus continu de communication qui se poursuit tout au long de la période préopératoire , pé ri-opé ratoire, et les soins postopératoires. (voir la fiche de consentement-annexe 2).

IV. Considérations éthiques:

Le recueil des données a été effectué avec le respect de l'anonymat des patients et de la confidentialité des informations.

RESULTATS

I. Le protocole de la mise en place de la greffe des cellules

souches :

La thérapie cellulaire consiste à greffer des cellules souches afin de restaurer la fonction d'un tissu ou d'un organe.

Ces cellules sont obtenues à partir de cellules souches pluripotentes (pouvant donner tous types de cellules) ou multipotentes (pouvant donner un nombre limité de types de cellules) provenant du patient lui-même.

De nombreuses approches de thérapie cellulaire sont en cours de développement. Quelques-unes sont en outre déjà validées.

1. Première étape:

Préparation du patient à la greffe des cellules souches :

La préparation du patient à une hospitalisation pour la greffe des cellules souches est un processus qui commence très tôt.

La consultation de l'endocrinologue, le chirurgien plastique ou le traumatologue selon le site du prélèvement, d'anesthésie et infirmière sont les premières étapes d'information.

La préparation administrative a pour objectif de vérifier et regrouper tous les éléments nécessaires à l'intervention dans le dossier médical du patient.

La préparation physique comprend, la préparation du site de prélèvement, et une douche complète avec une solution antiseptique ou non.

La préparation psychologique consiste à informer le patient sur l'ensemble des étapes du protocole de la greffe des cellules souches : les soins préopératoires, le transfert en salle d'intervention, la surveillance en salle de surveillance post-interventionnelle (SSPI), le transfert en suite de soins, les soins post-opératoires et le retour à domicile. La diminution de l'anxiété peut être faite grâce à une écoute active du patient, une verbalisation des craintes, une réponse aux questions pour le rassurer.

A. Consultations pré-greffe des cellules souches :

Une première consultation médicale et infirmière est organisée.

Cette consultation dure 1h30 à 2h et permet d'aborder en dialogue avec le patient :

- Le déroulement général de la greffe des cellules souches et de la prise en charge pendant l'ensemble du processus.
- Les questions médicales : les raisons de ce traitement, les résultats attendus, les effets secondaires, les complications éventuelles, etc.
- Consultation chez le chirurgien plastique pour vérifier la disponibilité du tissu adipeux et choisir le site de prélèvement (le haut de l'abdomen, le bas de l'abdomen, l'intérieur des cuisses, l'extérieur des cuisses, les flancs, les genoux ou la région trochantérienne : sites les plus communs). Si l'IMC est diminué, le cas échéant choisir la ponction de la moelle osseuse.
- La signature des consentements.

B. Bilan pré-greffe :

Il est réalisé une semaine avant le jour de la greffe des cellules souches.

De nombreux examens sont organisés à un rythme soutenu pour établir une évaluation complète du fonctionnement de son corps.

- Bilan approfondi du sang.

Bilan biologique :

- NFS, bilan d'hémostase,
- Bilan infectieux (CRP, ECBU, Rx thorax),
- Bilan hépatique (ASAT, ALAT, GGT),
- Bilan rénal (urée, créatinine, microalbuminurie), acide urique, ionogramme complet,
- Bilan lipidique complet (cholestérol total, LDL, HDL, triglycérides),
- Troponines ultrasensibles,
- HBA1C, peptide C de base, peptide C après ingestion de 75 g de glucose,
- BHCG chez la femme.

Bilan immunologique : AC anti GAD65, AC anti-ilôts, AC anti-IA2, AC anti-ZnT8.

Bilan sérologique : hépatite B, hépatite C, VIH, syphilis.

Les marqueurs tumoraux : AFP, Ca125, ACE, Ca15-3, Ca19-9.

- Consultations spécialisées : endocrinologue, chirurgie plastique ou traumatologue selon le site de prélèvement, nutritionniste, psychologue, etc.

2. Deuxième étape :

Prélèvement du tissu adipeux en chirurgie plastique ou ponction la moelle osseuse en traumatologie :

- Sous anesthésie locale ou générale
- Choix du prélèvement : tissu adipeux ou la moelle osseuse
- Quantité du tissu adipeux à prélever > 50 à 60 cc

A. Prélèvement du tissu adipeux :

Le tissu adipeux, permettant des prélèvements d'un gros volume de tissu sans inconvénient majeur pour le patient, représente une source possible et prometteuse de cellules souches multipotentes.

Ces cellules, nommées "*human Adipose Derived Stem*" (hMADS), possèdent les caractéristiques des cellules souches, à savoir une forte capacité d'auto-renouvellement et le pouvoir de se différencier en différents types cellulaires à l'état clonal.

Les cellules souches du tissu adipeux représentent un puissant outil dans la thérapie cellulaire régénératrice.

A.1.Préparation du geste :

Les consignes suivantes devaient strictement être respectées avant l'intervention :

- Arrêt de la prise d'aspirine, d'AINS, ou d'anticoagulants oraux dans les 15 jours qui précèdent l'intervention.
- Arrêt de la contraception orale 1 mois avant l'intervention.
- Une douche la veille de l'intervention.

A.2. Au bloc opératoire :

Tous nos patients ont été admis dans une salle de petite chirurgie spécialement dédiée au prélèvement de graisse et équipée de matériels spécifiques à la lipoaspiration.

Au moment de l'intervention, le patient est amené au bloc opératoire, où l'équipe de la chirurgie plastique est déjà présente avec les consignes à tenir :

1. La désinfection du matériel,
2. L'installation des champs opératoires,
3. Les schémas des incisions à réaliser,
4. La table opératoire qui est composée de deux parties principales :
 - le plateau opératoire sur lequel est positionné le patient durant l'intervention
 - le support plateau qui soutient le plateau opératoire et les accessoires particuliers du

prélèvement du tissu adipeux qui sont :

- Canules de lipoaspiration mécanique à basse pression ou manuelle à la seringue.
- Lidocaïne pour anesthésie locale.
- Antiseptiques et champs stériles.
- Pincés chirurgicales.
- Seringue stérile 60 cc de Luer Lock.
- Compresses stériles.
- Instrument pour sutures.
- La manche de Bistouri.

L'intervention dure généralement entre une demi-heure et deux heures, selon la quantité du tissu adipeux à prélever.



Figure 9 : La table d` instrumentation pour le prélèvement du tissu adipeux en chirurgie plastique.



Figure 10 : Canules de lipoaspiration (à gauche) et d'infiltration (à droite)

A.3. Le choix du site du prélèvement :

La première étape essentielle est évidemment le prélèvement du tissu adipeux sous-cutané. Depuis sa mise au point en 1977, la lipoaspiration s'est avérée être la méthode de choix pour effectuer ce prélèvement.

De plus, la technique tumescente a révolutionné la lipoaspiration en éliminant à la fois les risques liés à l'anesthésie générale et les saignements, tout en apportant un certain confort au patient.

Le prélèvement du tissu adipeux est effectué à partir d'une micro -incision, cachée généralement dans les plis naturels pour accentuer le caractère esthétique.

La région de prélèvement est choisie en fonction des réserves de graisse, là où elles sont en excès, (figure 11). Il s'agit le plus souvent de la région abdominale, de la région trochantérienne, ou de la face interne des genoux. Chez les patients très minces, toutes les zones du tissu adipeux peuvent être touchées.

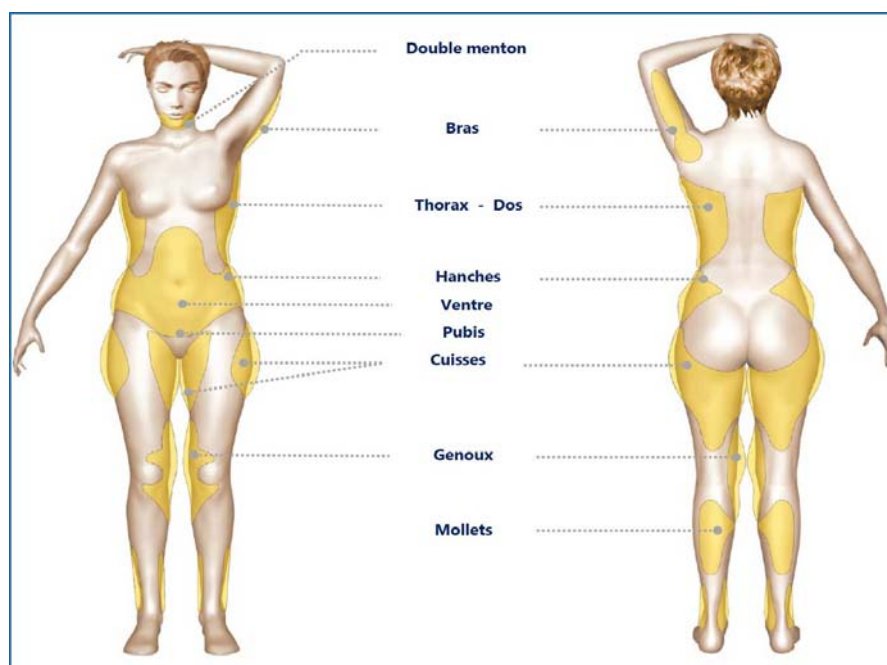


Figure 11 : Zones habituelles de lipoaspiration.

A.5. Description de la technique :

La technique d'autogreffe de tissu adipeux se compose de 3 grandes étapes : le choix du site de prélèvement, le prélèvement du tissu adipeux, et son traitement.

Pour chaque étape de l'autogreffe de tissu adipeux , de nombreuses méthodes ont été développées afin d'améliorer la survie des cellules adipeuses greffées et donc le résultat de cette technique [2].

Ces étapes ne sont actuellement pas standardisées et les pratiques varient selon les équipes médicales [3][7] :

- Le site de prélèvement du tissu adipeux peut être le haut de l'abdomen, le bas de l'abdomen, l'intérieur des cuisses, l'extérieur des cuisses, les flancs, les genoux ou la région trochantérienne (sites les plus communs) [3] ;
- Le prélèvement se fait actuellement le plus souvent par lipoaspiration mécanique à basse pression ou par aspiration manuelle à la seringue (les canules peuvent être de diamètres variables et les seringues de différentes contenances), mais d'autres techniques, comme la biopsie chirurgicale, ont été décrites dans la littérature [7] ;
- Le traitement du tissu adipeux peut être réalisé par décantation, par technique de filtration ou, plus fréquemment, par centrifugation à différentes forces et durées [3] ;

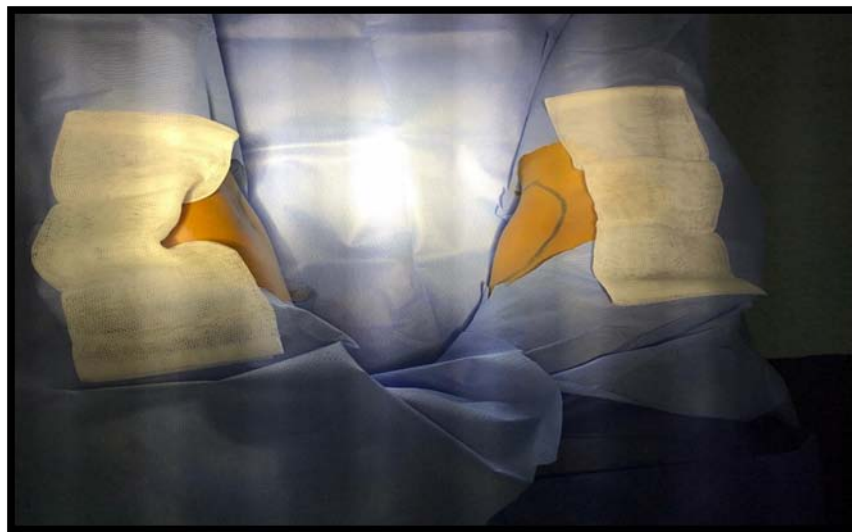


Figure 12 : Repérage du site du prélèvement du tissu adipeux (la face interne des deux genoux) et désinfection locale.



Figure 13 : Anesthésie locale par une injection sous cutanée de la lidocaïne.



Figure 14 : Une mini-incision en regard du site du prélèvement pour introduire les canules de la lipoaspiration.

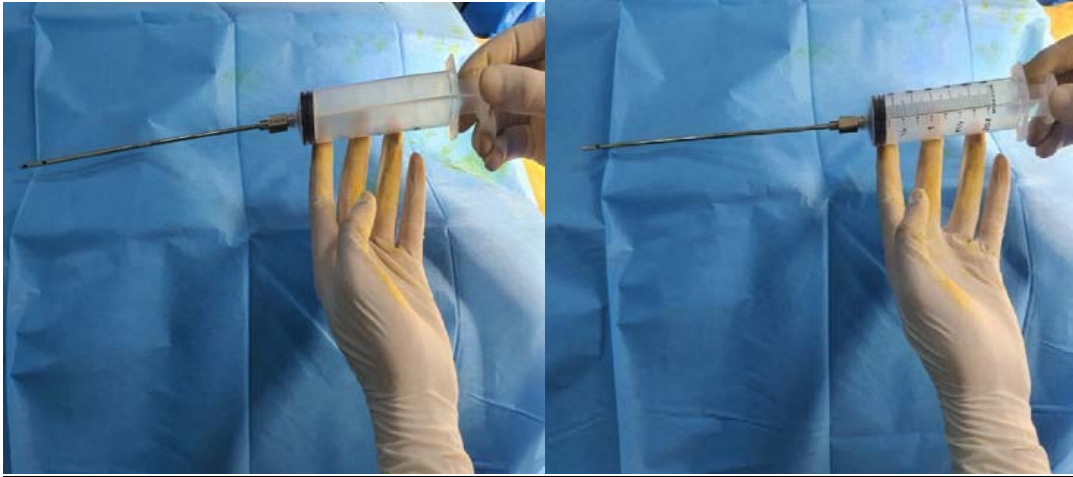


Figure 15 : Les canules de lipoaspiration montées sur seringue

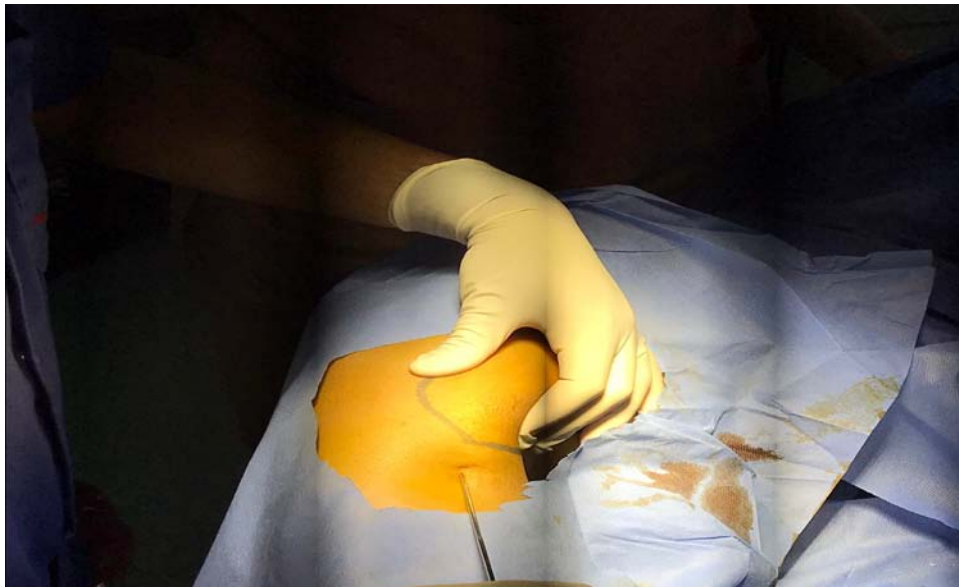


Figure 16 : Introduction de la canule de la lipoaspiration dans le site de prélèvement.



Figure 17 : L`aspiration des cellules graisseuses à l'aide de fines canules à bouts arrondis introduites dans la zone à prélever.



Figure 18 : Lipoaspiration au niveau abdominal

La lipoaspiration fait appel à des canules mousses, atraumatiques, en titane malléable, de calibre 4 mm avec 5 trous (4 latéraux et 1 grand ventral). La canule est montée sur une seringue de 60 cc.

Le vide est fait par le verrou autobloquant, permettant l'aspiration à travers un tunnel par des mouvements de va et vient, en vérifiant constamment le saignement, si ce dernier est observé, le tunnel est changé.

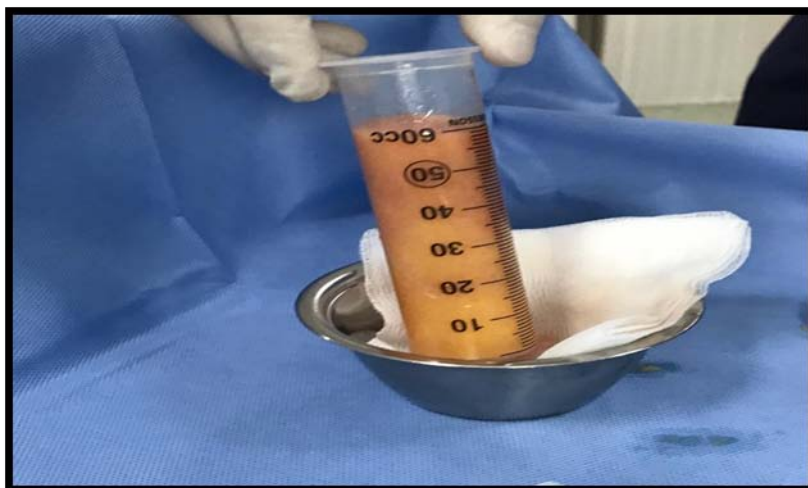


Figure 19 : le recueil des cellules graisseuses dans une seringue stérile 60 cc pour canule Luer Lock.

B. Prélèvement de la moelle osseuse :

B.1. Généralités sur la moelle osseuse :

La moelle osseuse est la partie molle et spongieuse à l'intérieur de la plupart des os. Elle fabrique les cellules sanguines.

Il existe 2 types principaux de moelle osseuse, la moelle rouge et la moelle jaune. C'est dans la moelle rouge que les cellules souches évoluent en globules rouges, en globules blancs et en plaquettes. La moelle jaune, quant à elle, entrepose le tissu graisseux.

Chez l'adulte, la moelle osseuse qui fabrique le plus de cellules sanguines se trouve dans les os des hanches (bassin), les os des épaules (scapula), les os de la colonne vertébrale (vertèbres), les côtes, le sternum et le crâne.

L'hématopoïèse est le processus qui permet de former des cellules sanguines. Toutes les cellules sanguines se développent à partir de jeunes cellules immatures appelées cellules souches. Celles-ci peuvent se transformer en différents types de cellules selon les besoins du corps.

Les cellules souches se développent en divers types de cellules par un processus appelé différenciation.

Les cellules souches se développent en cellules sanguines dans la moelle osseuse. Lorsque les cellules sanguines sont matures et capables de fonctionner, elles quittent la moelle osseuse pour aller dans le sang.[50][51]

B.2.Description de la technique :

La procédure se déroule habituellement dans une salle d'opération ou une salle normale au service, et prend d'une à deux heures.

Pour effectuer la ponction de moelle osseuse :

- Un infirmier appliquera une petite quantité de crème anesthésique afin d'engourdir l'endroit où la ponction sera effectuée 15 à 30 minutes avant l'intervention.



Figure 20 : Le timbre contient petite quantité de crème topique anesthésiante qui sera utilisée pour insensibiliser temporairement la peau.

- Le patient sera mis en position couché sur le côté.

- Le bas de son dos sera désinfecté et le médecin injectera un anesthésiant local pour engourdir la région.
- Le médecin introduit la canule jusqu'à ce qu'elle touche la partie supérieure de l'os de la hanche « crête iliaque postéro-supérieure ». C'est l'os du bassin le plus gros et situé le plus haut, il renferme une grande quantité de moelle osseuse.
- Dès que la canule touche l'os de la hanche, elle est poussée afin de pénétrer la couche extérieure dure de l'os et la moelle osseuse.
- Une seringue est alors jointe à la canule pour aspirer une petite quantité du liquide de la moelle osseuse. Il est parfois nécessaire de s'y prendre à plusieurs reprises pour obtenir un échantillon approprié, ce qui peut vouloir dire qu'il faudra peut-être repositionner la canule sur la région opposée du bassin.
- L'échantillon de moelle osseuse sera envoyé au laboratoire pour le traiter et isoler les cellules souches.

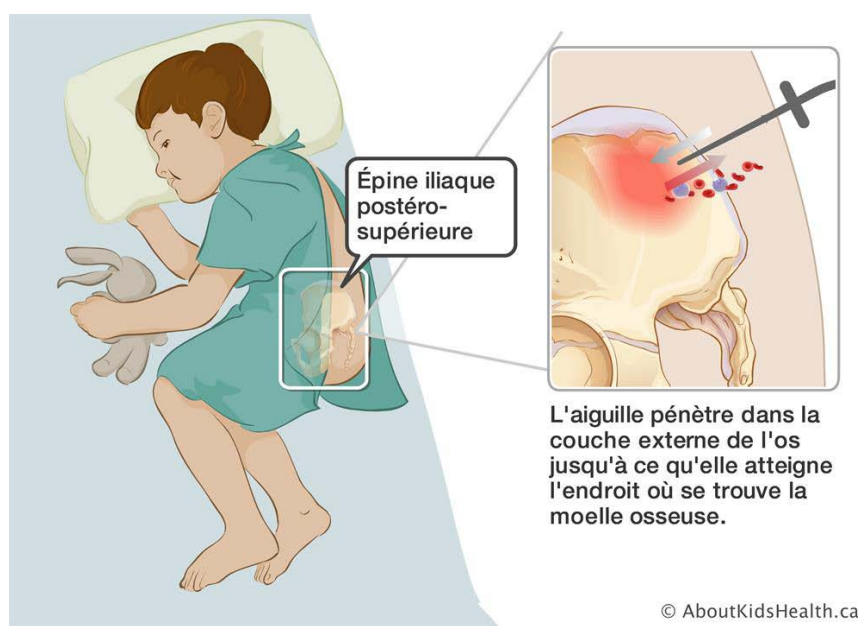


Figure 21 : Introduction d`une canule dans l`épine iliaque postéro-supérieur.

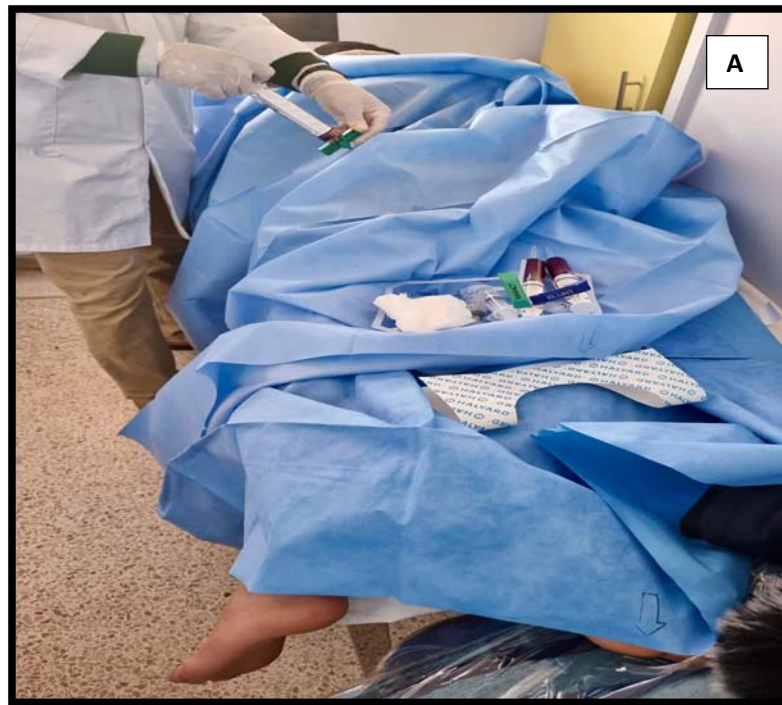


Figure 22 (A-B): Aspiration du liquide de la moelle osseuse à l`aide d`une seringue jointe à une canule.



Figure 23 : le recueil du prélèvement de la moelle osseuse dans des seringues stériles.

B.3.Après l'intervention :

Le patient restera couché pendant 10 à 15 minutes après l'intervention.

Le site du prélèvement peut être douloureux pendant quelques jours. Il pourrait aussi y avoir une ecchymose sur le site, qui guérira très vite. Pour aider le patient à se sentir mieux :

- Appliquer des poches de glace sur le site.
- Encouragez le patient à marcher.
- En cas d'hémorragie, il suffira d'appliquer de la pression sur le site de la biopsie.

B.4.Quelles complications peuvent survenir ?

Les ponctions de moelle osseuse et les biopsies sont en général des interventions sans danger.

Bien que le patient puisse avoir un peu mal pendant une journée ou deux après l'intervention, les complications graves sont rares.

Parfois, des problèmes surviennent au site où le prélèvement ou la biopsie ont été réalisés, comme :

- Des saignements : les risques de saignement sont plus importants chez les patients qui ont des problèmes de saignements préexistants. Dans ce cas, le médecin demandera des transfusions de plaquettes et/ou de plasma avant le test du patient pour empêcher tout saignement qui pourrait se produire. En cas d'hémorragie, il suffira d'appliquer de la pression sur le site de la biopsie.
- Une infection : si la peau ou les os s'infectent et sont douloureux, ou en présence de rougeurs et de gonflements, le médecin pourrait donner des antibiotiques au patient par voie IV ou orale.

3. Troisième étape :

Prélèvement du sang pour obtention d'un plasma riche en plaquette (PRP) par centrifugation en médecine régénérative :

Le plasma riche en plaquettes (PRP), décrit pour la première fois en 1998, est un produit biologique issu de la centrifugation du sang dans un tube contenant un anticoagulant.

Il s'agit d'un produit liquide défini comme une suspension de plaquettes dans du plasma caractérisé par une concentration en plaquettes supérieure à celle du sang total du patient.

Le PRP est destiné à un usage autologue (pour chaque patient lui-même). Une multitude de PRP différents existent selon le protocole de préparation, plus ou moins riches en leucocytes, plus ou moins purs, plus ou moins concentrés.

Les plaquettes contiennent un réservoir naturel de facteurs de croissance dans leurs granules alpha, qui représentent la substance active du PRP.

Ces facteurs de croissance sont le TGF β (transforming growth factor beta), PDGF (platelet-derived growth factor), IGF1 (insulin-like growth factor), FGF1 (fibroblast growth factor), EGF (epidermal growth factor) et le VEGF (vascular endothelial growth factor).

Ils sont impliqués dans la prolifération et la différenciation cellulaire des cellules souches mésenchymateuses prélevés du tissu adipeux ou de la moelle osseuse.

A. Prélèvement sanguin :

Un prélèvement sanguin a été réalisé via une veine périphérique en utilisant un tube contenant le citrate de sodium comme anticoagulant (figure 24 et 25). Les tubes seront acheminés ensuite au Centre de Médecine Régénérative.



Figure 24 : Prélèvement sanguin.



Figure 25 : Tubes citratés pour recueil du PRP

B. Préparation du Plasma riche en plaquettes :

- Les tubes ont subi un double processus de centrifugation ; (Figure 26)
- Après la première centrifugation , le plasma surnageant contenant les plaquettes a été récupéré ;
- La seconde centrifugation, a permis de séparer le mélange plasma/Plaquettes en une fraction plasma pauvre en plaquette PPP (le surnageant) et le PRP (le 1/3 inférieur) ;
- Le PRP a été homogénéisé et préparé pour qu'il soit mélangé avec les cellules souches mésenchymateuses ;
- Une activation du PRP, a été réalisée



Figure 26 : Centrifugation de six tubes de sang pendant 20 à 30 min pour isoler le plasma riche en plaquettes.

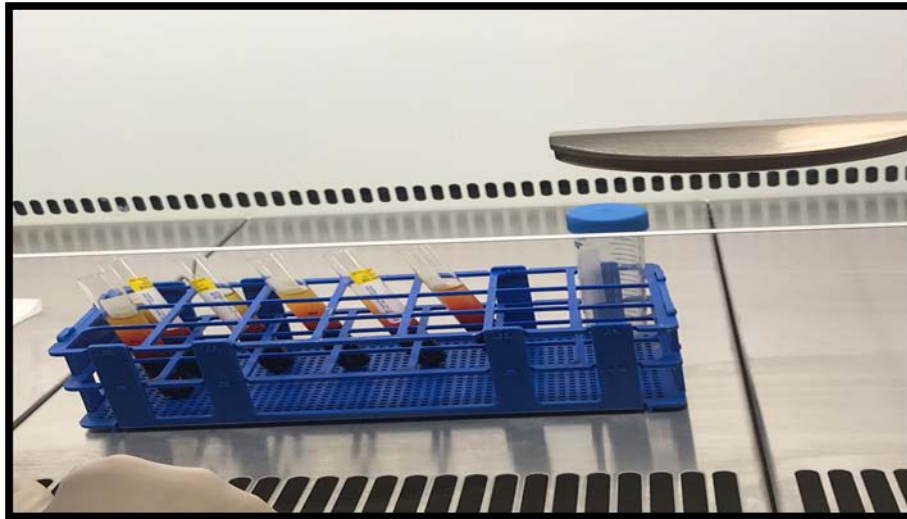


Figure 27 : Séparation du plasma pauvre en plaquettes (partie haute) du plasma riche en plaquettes (partie basse) après la centrifugation.

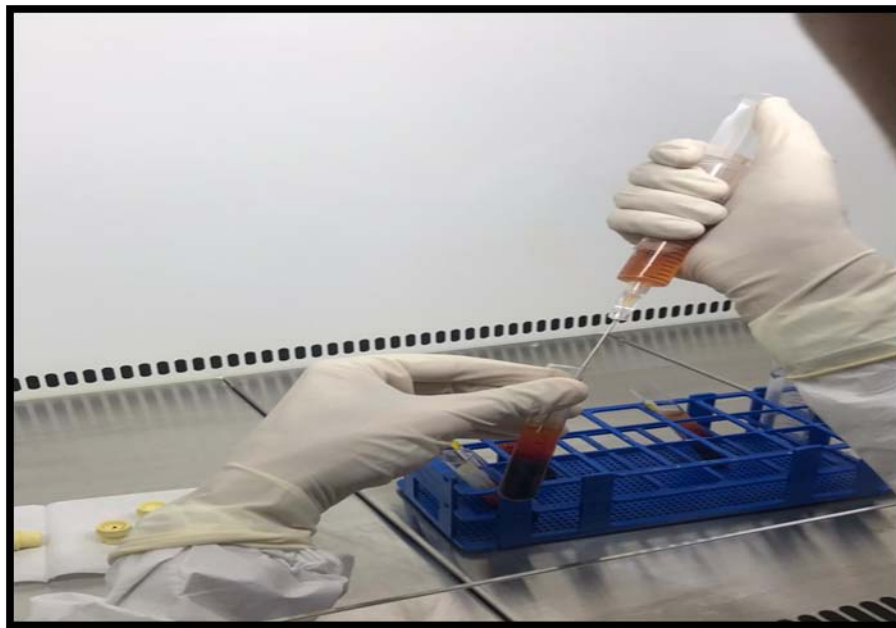


Figure 28 : Élimination des 2/3 supérieures du plasma (plasma pauvre en plaquettes).



Figure 29 : Récupération du 1/3 inférieure du plasma= plasma riche en plaquettes.



Figure 30 : Activation du PRP

4. Quatrième étape :

Acheminement et isolement des cellules souches mésenchymateuses d'origine adipeuse au Centre de Médecine ré générative

- Quantité de cellules souches à isoler > 2 millions
- Mélange du PRP déjà préparé avec le concentré de CSM
- Les différentes étapes sont présentées par les figures suivantes:

A. Acheminement des prélèvements :

Les seringues sont verrouillées à l'aide d'un bouchon , étiquetées puis placées dans une boîte stérile.

Les prélèvements du tissu adipeux et sanguins ont été mis dans un récipient stérile au Centre de Médecine Ré générative , à température ambiante, dans les 5 minutes suivant le prélèvement, munis d'une fiche dûment remplie.(voir Annexe 3)

B. Isolement des cellules souches mésenchymateuses d'origine adipeuse :

Les CSMA ont été isolées à partir de la fraction vasculaire stromale (SVF), qui a été obtenue à partir du tissu adipeux après lavage mécanique , digestion enzymatique et centrifugation.

L'immunophénotypage des différentes cellules contenues dans la SVF a été basé sur la Cryométrie de flux.

B.1.Préparation du poste de travail : (Figure 31)

- Mise en marche du poste de sécurité microbiologique (PSM) ;
- Désinfection des mains par une solution hydro-alcoolique ;
- Utilisation de gants chirurgicaux stériles ;
- Désinfection des surfaces par l'éthanol à 70% ;

- Introduction des cellules et éléments du kit dans le PSM en les aspergeant avec de l'éthanol à 70 %.



Figure 31 : Poste de travail.

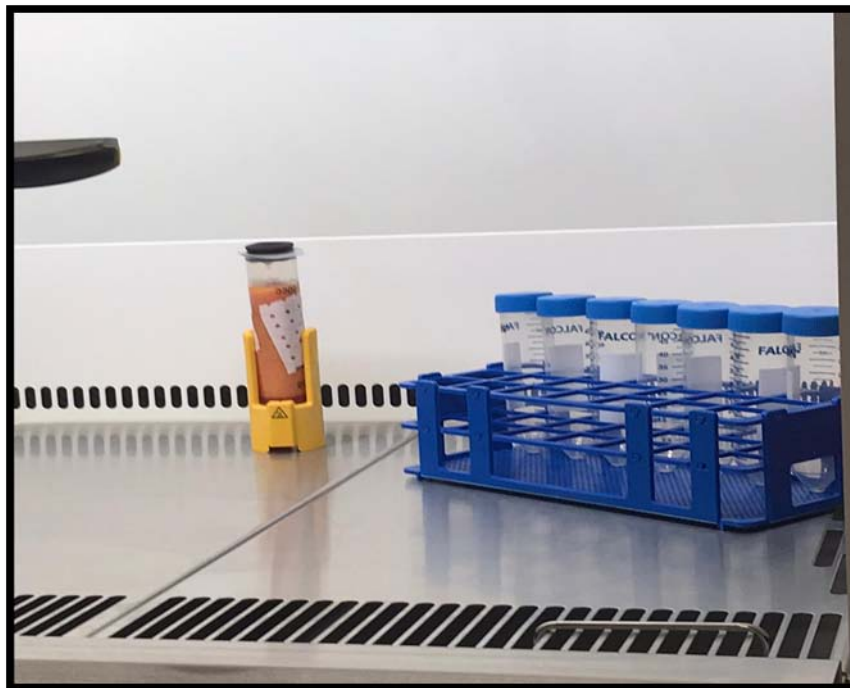


Figure 32 : Mise du prélèvement dans une haute à flux laminaire (Poste de sécurité microbologique)



Figure 33 : Séparation du prélèvement dans des différents flacons.

B.2. Décantation et Lavage :

Les seringues bouchonnées sont placées verticalement pour séparer les fragments de tissus flottants de la solution tumescente et du sang (figure 32).

Après retrait du bouchon la fraction flottante, qui est de couleur orange vif, elle est retirée par pression sur le piston de la seringue et est éliminée.

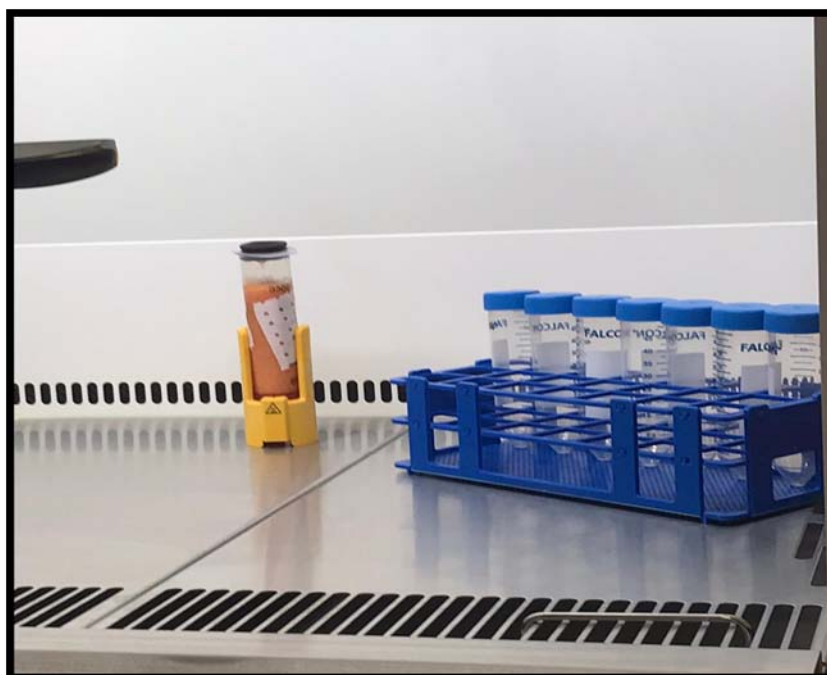


Figure 34 : Décantation sous l'action de la gravité

Un lavage des cellules est réalisé par l'ajout de sérum physiologique.
Cette opération est répétée autant que nécessaire jusqu'à obtention d'une solution finale claire.



Figure 35 : Lavage au sérum salé.



Figure 36 : Rinçage du prélèvement par une solution du sérum salé ou de l'eau physiologique pour séparer la partie aqueuse de la partie lipidique.



Figure 37 : Aspiration de la partie aqueuse (liquide) par un kit spécifique.

B.3. La digestion enzymatique et la centrifugation :

- Préparation de l'enzyme de digestion : l'enzyme utilisée est la collagénase type I et II ou la protéase. Elle est sous forme de poudre dans un flacon stérile. Elle est préparée par l'ajout de solution saline stérile. (Figure 38).
- Le produit cellulaire, initialement lavée est séparé équitablement après le dernier lavage sur 4 tubes à fond coniques stériles de 50mL ;
- Le mélange collagénase-sérum salé est ajouté aux tubes. Les tubes sont placés sur un agitateur thermique, préchauffé à 37 °C pendant 20 mn environ. (Figure 39).
- Le processus de digestion est inspecté visuellement. Il est arrêté une fois le processus de digestion est terminé.

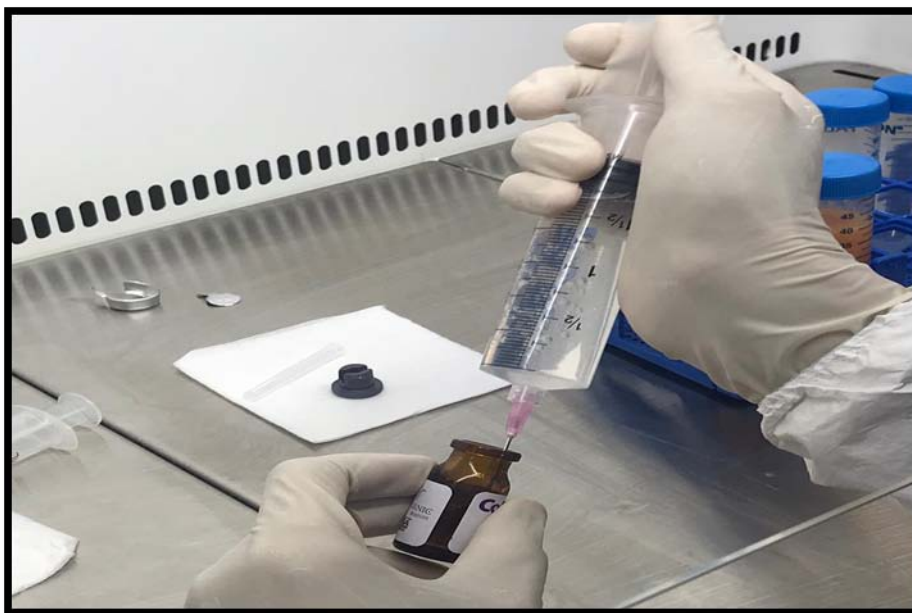


Figure 38 : Digestion enzymatique par l`ajout de deux enzymes : Collagénase ou Protéase, à l`aide d`un filtre de 0,2 micro, (ajouter 15 cc de solution enzymatique dans chaque 15cc de tissu adipeux)

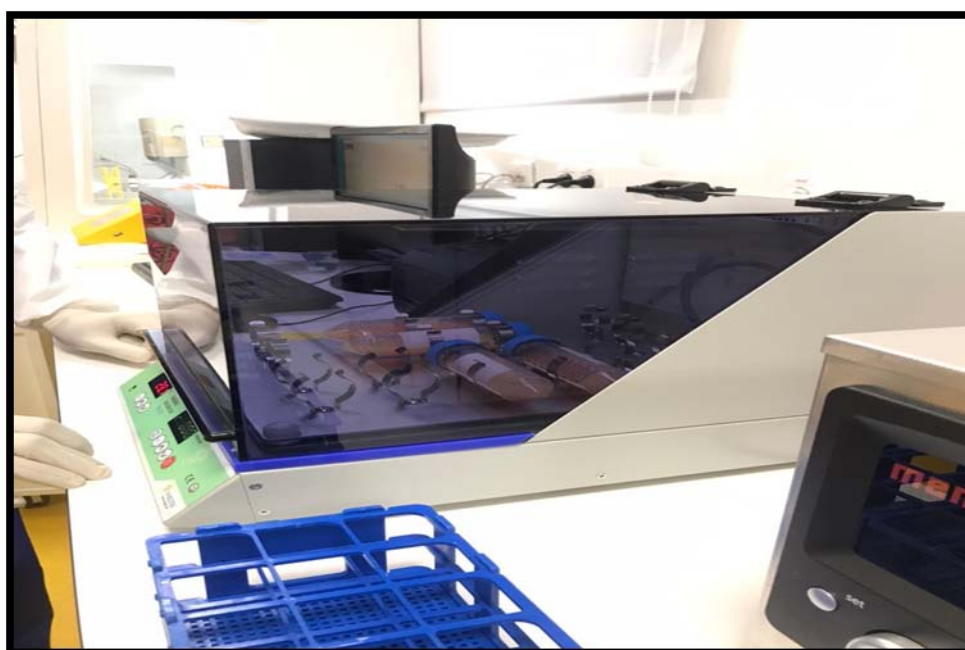


Figure 39 : Incubation à une température de 37 °C pendant 30 à 40min (Température optimale pour le fonctionnement des enzymes) + Agitation (Pour éviter la sédimentation).

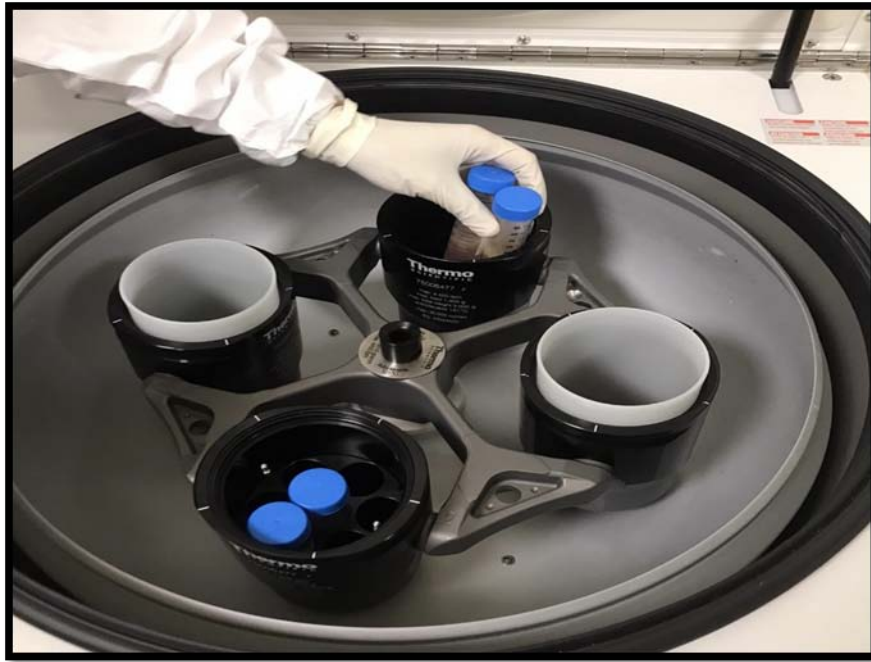


Figure 40 : Centrifugation du produit obtenu après l`incubation pour séparer les différentes phases (aqueuse, lipidique, cellules souches).

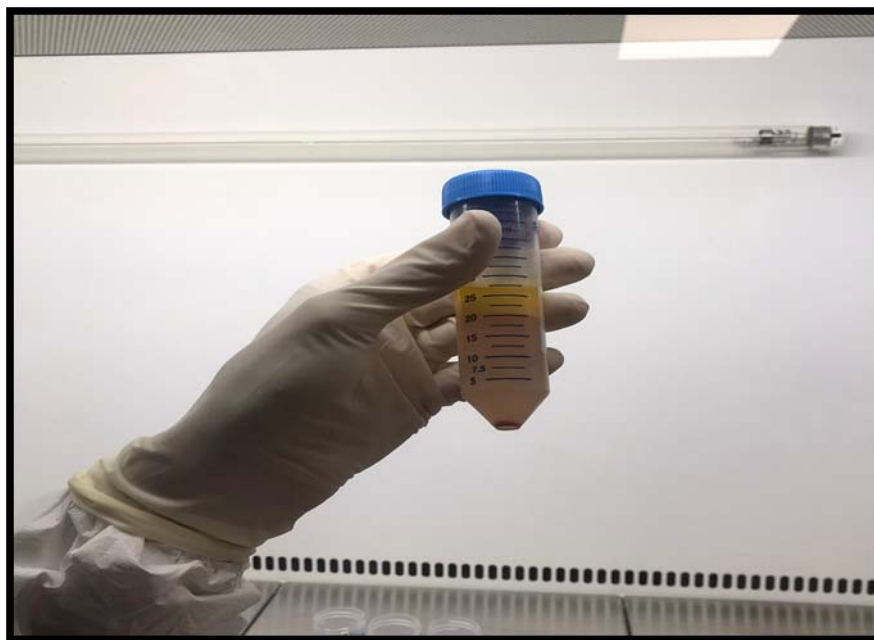


Figure 41 : Séparation des trois phases, lipidique (la partie jaune), aqueuse (la partie rose pâle), cellules souches mésenchymateuse (le culot rouge en bas)

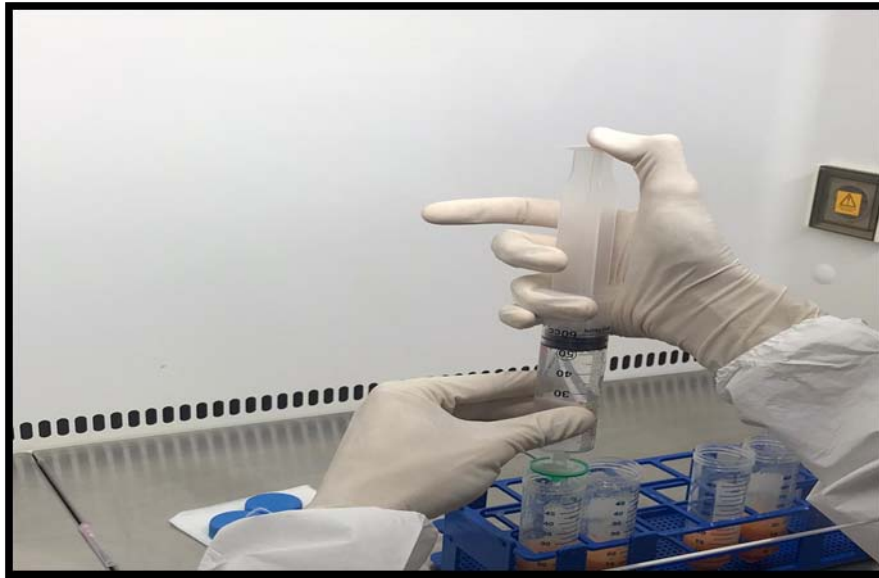


Figure 42 : L`ajout du sérum salé ou PBS (tampon phosphate salin) pour laver les cellules souches et éliminer les lipides résiduels et le liquide (la phase lipidique et aqueuse).



Figure 43 : Récupération des cellules souches mésenchymateuses (le culot rouge en bas).

B.4. Mélange du Plasma riche en plaquettes et cellules souches mésenchymateuses d'origine adipeuse et acheminement au service d'Endocrinologie:

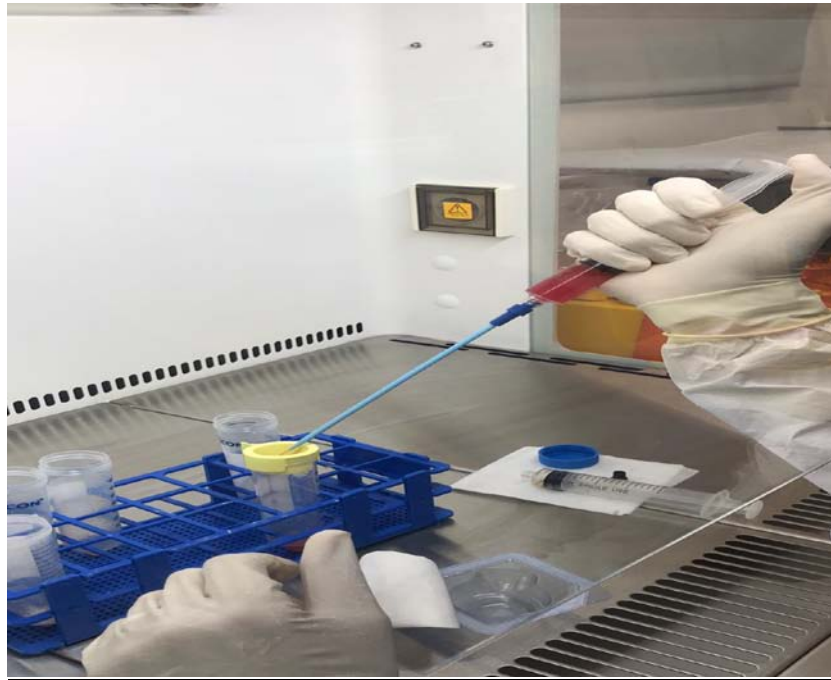


Figure 44 : Mélange du PRP déjà préparé avec le concentré de CSM à l'aide d'un filtre.



Figure 45 : Ajout de 1,8 CC de PRP aux CSM.

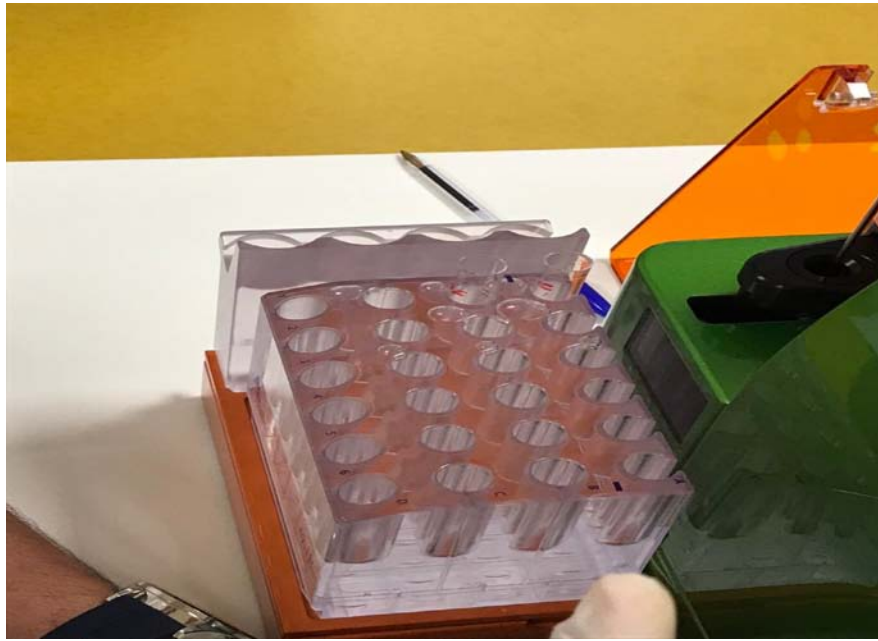


Figure 46 : CSM concentrées dans 1,8 CC de PRP : 2 gouttes pour la quantification



Figure 47 : L`appareil de la cryométrie en flux permettant la quantification des CSM.

5. Cinquième étape :

Transfusion de la solution à diluer dans 100 CC du sérum salé au service d`Endocrinologie :

- Durée de la transfusion : (30 à 40 min) à passer lentement.
- Quantité de la solution du PRP avec des cellules souches à transfuser est environ 15 CC.
- Surveillance :
 - Nausées, vomissements,
 - Réactions cutanées locale en regard du site du prélèvement,
 - Température chaque deux heures,
 - Glycémie capillaire chaque 2 heures,
 - Glycémie veineuse chaque 4 heures,
 - Fréquence cardiaque, tension artérielle chaque 2 heures.

- Traitement :
 - Amoxicilline acide clavulanique pendant 48 heures,
 - Antalgique si douleur,
 - Antiémétique si nausée ou vomissement.



Figure 48 : Transfusion du concentré des CSM dilué dans 100 cc du sérum salé.

II. Données socio-démographiques :

4 patients répondaient aux critères d'inclusion et d'exclusion ont été candidats à une greffe de cellules souches mésenchymateuses avec résultats comme suit :

1. L'âge:

Moyenne d'âge: 20.5 avec des extrêmes de 11 à 34 ans.

La majorité des patients appartenait à une tranche d'âge comprise entre 0 et 15 ans, constituant ainsi 50 % des patients.

2. Le sexe :

Notre étude dénombrait au total 2 femmes et 2 hommes, avec un sexe ratio de 1.

3. La distribution géographique :

les 4 patients provenaient du milieu urbain.

4. Le niveau socio-économique :

Le niveau socio-économique des patients a été jugé par rapport à leur profession et le type de couverture sociale dont ils bénéficient (Ramed, mutuelle, ...)

Dans notre série, 75% des patients avaient un niveau socioéconomique moyen, et 25% avaient un niveau socioéconomique élevé.

III. Données clinico–paracliniques :

1. Les antécédents :

1.1 Les ATCDs personnels :

a) Médicaux :

Les antécédents médicaux n`ont pas été retrouvés chez aucun patient de notre étude notamment :

- Pas de maladies auto–immunes associées,
- Pas de thyroépathie,
- Pas de cardiopathie,
- Pas de néphropathie,
- Pas d`hépatopathie,
- Pas d`HTA .

b) Chirurgicaux :

Les antécédents chirurgicaux n`ont pas été retrouvés chez aucun patient de notre étude.

c) toxico-allergique et médicamenteuse :

Aucun patient de notre série n`a pas été tabagique, alcoolique , ou allergique notamment au gluten.

Pas de prise médicamenteuse connue notamment une corticothérapie.

1.2 Les ATCDs familiaux :

a) Consanguinité :

La consanguinité parentale n`a pas été notée chez aucun patient de notre étude.

b) Diabète type 1 :

Le diabète de type 1 a été retrouvé dans 50%, chez la fratrie des familles des patients diabétiques.

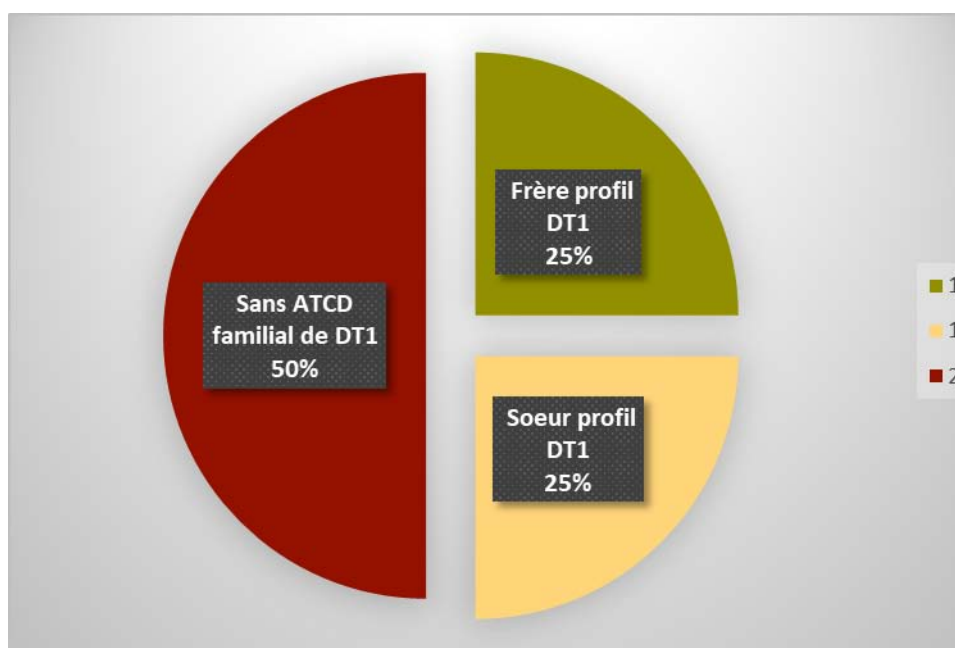


Figure 49 : La répartition des patients en fonction de leurs ATCDs familiaux de DT1.

c) **Diabète type 2 :**

Des antécédents familiaux de diabète de type 2 ont été notés dans 75% des cas, essentiellement chez la grande famille (grands parents, oncles et tantes), et un seul cas de diabète type 2 chez le père.

d) **Antécédents familiaux de maladies auto-immunes :**

Aucun patient de notre série n'a présenté un ATCD familial de maladies auto-immune notamment :

- La thyroïdite auto-immune
- La maladie cœliaque,
- La maladie d'Addison,
- Le vitiligo,
- L'anémie de Biermer.

2. Histoire du diabète :

1.3 Âge de découverte du DT1 :

La moyenne d'âge de découverte du diabète était de 18 ans avec des extrêmes allant de 9 à 32 ans.

Chez 50 % de nos patients le diagnostic a été posé avant l'âge de 10 ans.

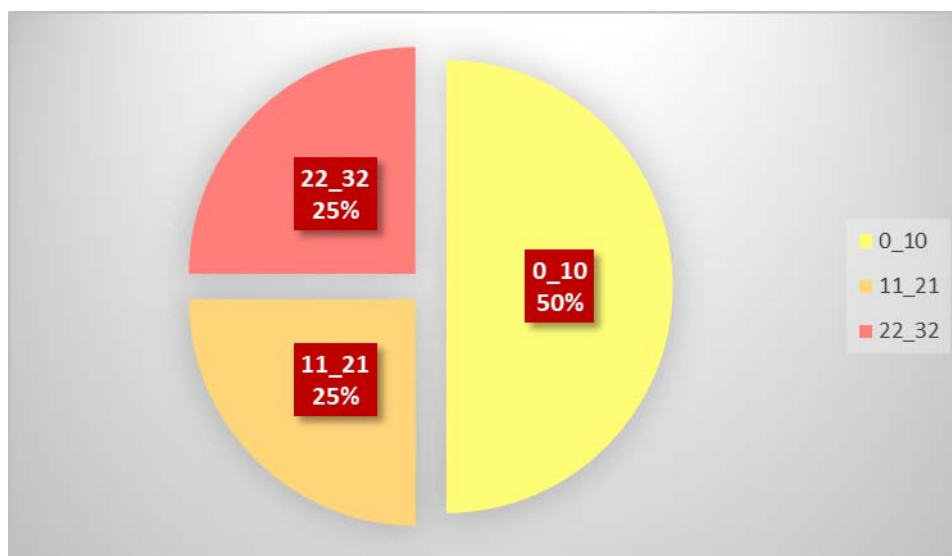


Figure 50 : Répartition des patients diabétiques en fonction de l'âge de découverte du diabète.

1.4 Circonstances de découverte du DT1 :

Dans 50 % des cas, le diagnostic de DT1 a été posé au stade de syndrome polyuropolydipsique sans amaigrissement, ni polyphagie.

Dans 25% des cas, la découverte était fortuite à l'occasion d'une glycémie capillaire élevée de 2g, en regard d'une hba1c de 8 %.

Aucun patient de notre série n'a fait une acidocétose diabétique inaugurale, néanmoins 25% des patients ont fait une cétose inaugurale.

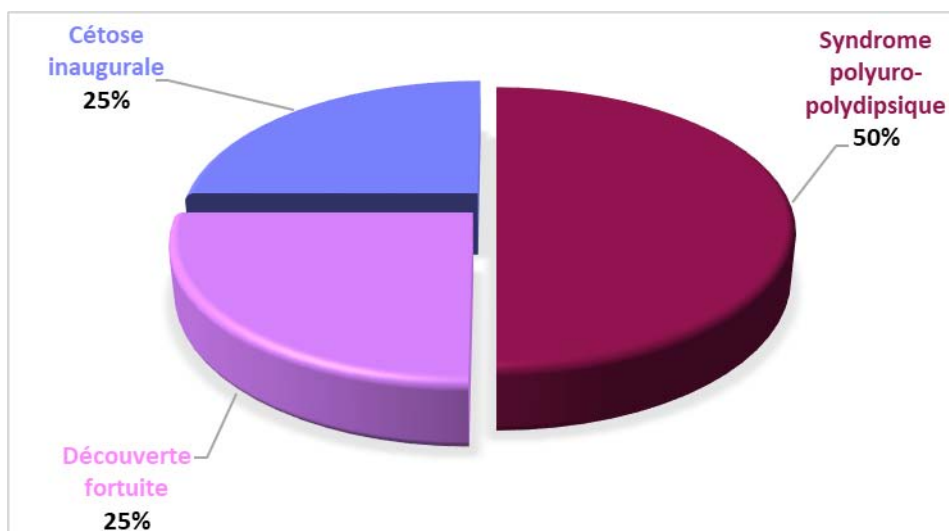


Figure 51 : Répartition des malades en fonction des circonstances de découverte du diabète.

1.5 Durée d'évolution du DT1:

La durée moyenne d'évolution du diabète type 1 chez nos patients était de 2,45 ans avec des extrêmes allant de 10 mois à 5 ans.

75% des patients de notre étude avaient une durée d'évolution du diabète de 1 à 5 ans.

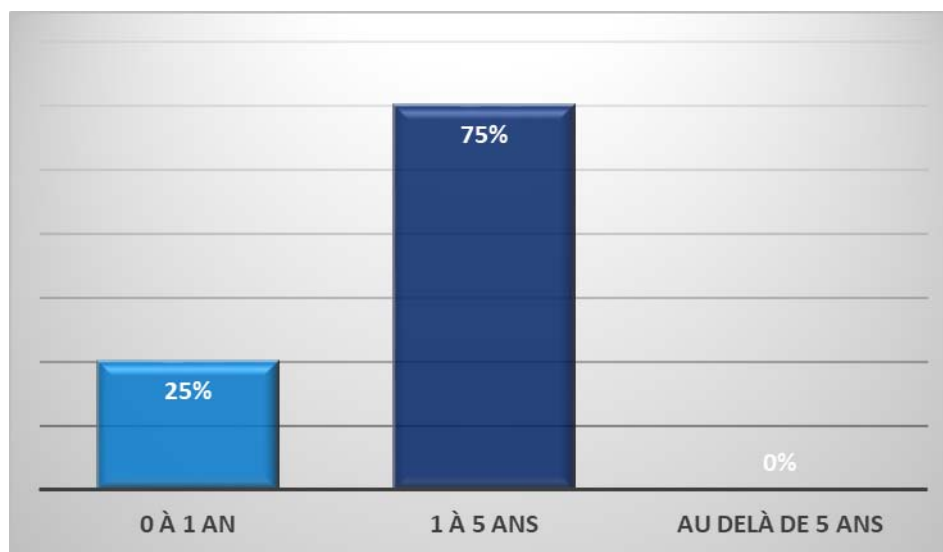


Figure 52 : Répartition des malades en fonction de la durée d'évolution du diabète.

1.6 Recherche des maladies auto-immunes associées :

Dans notre série , aucun patient n`a présenté une maladie auto-immune associée, notamment : une thyroïdite auto-immune ou maladie cœliaque, avec une batterie immunologique négatif (Ac antithyroïdiens anti-TPO, Ac anti-transglutaminase)

3. Prise en charge :

3.1 Types d`insuline :

Les analogues d`insuline ont été utilisés par 75 % des patients. Tandis que seulement 25% des malades utilisaient les 2 types d`insuline : les analogues d`insuline pour la basale et les insulines humaines pour la rapide.

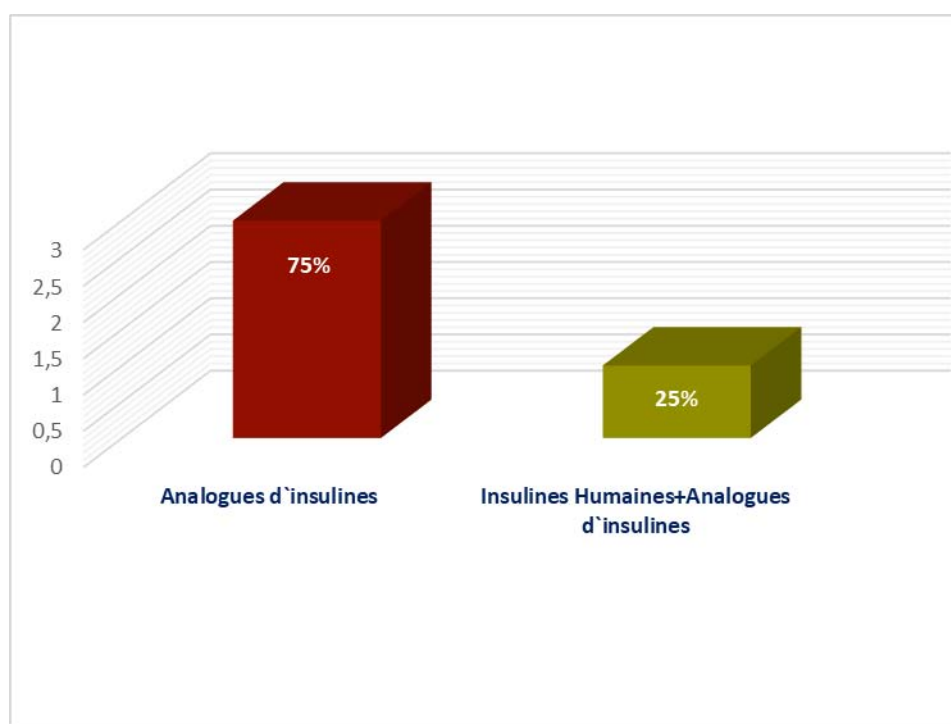


Figure 53 : Répartition des malades en fonction du type d`insuline utilisé.

3.2 Dose d`insuline :

La dose quotidienne moyenne d`insuline chez les patients de notre série était de : 0,37 UI/Kg/j pour l`insuline rapide avec des extrêmes allant de 0,16 à 0,81 UI/Kg/j. et de 0,3 UI/Kg/j pour l`insuline basale avec des extrêmes allant de 0,10 à 0,59 UI/Kg/j.

3.3 Schémas d'insuline :

75% des patients de notre série étaient sous schéma basal-bolus, tandis que 25% sous insulinothérapie fonctionnelle .

3.4 Modes d'administration d'insuline :

Les stylos ou les seringues d'insuline étaient utilisées par tous les patients , avec un changement des aiguilles tous les deux à trois jours.

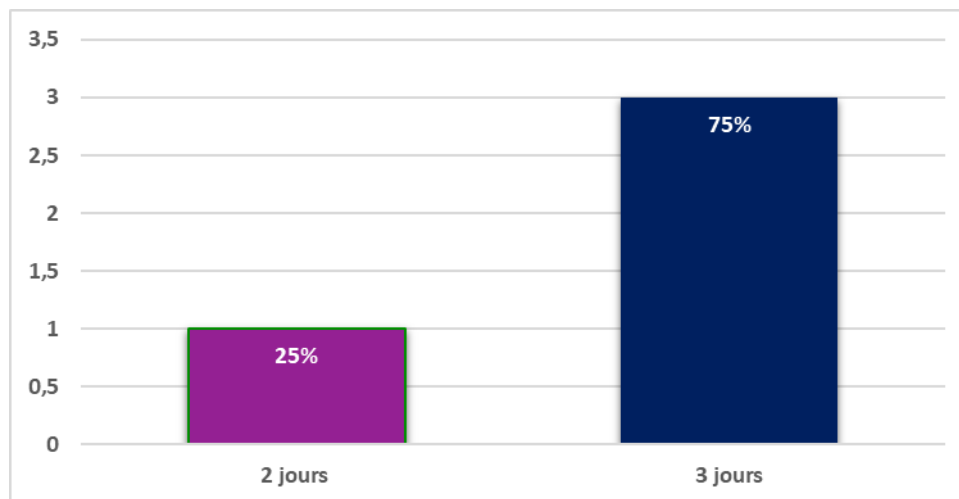


Figure 54 : La durée de réutilisation des aiguilles.

3.5 Variations des sites d'injection :

Tous les patients de notre étude, alternaient de façon régulière les sites et les points d'injection d'insuline avec un respect du zoning , aucun d'entre eux n'avait des zones de lipodystrophies.

3.6 Respect des conditions d'asepsie et les règles de conservations :

L'étude d'asepsie avant l'injection d'insuline, chez les patients diabétiques, a montré que uniquement 25% des malades respectaient les conditions d'asepsie avant l'injection (lavage des mains + désinfection du site d'injection).



Figure 55 : Respect des conditions d'asepsie avant l'injection d'insuline.

Tous les patients de notre série ont bien respecté les règles de conservations d`insuline.

3.7 Les injections d'insuline :

Tous les patients de notre série étaient autonomes dans la réalisation des injections d'insuline.

3.8 Les mesures hygiéno-diététiques:

Tous les patients de notre série avaient un nombre moyen de 3 repas par jour ,avec parfois des collations, pris dans 75% des cas, à des horaires réguliers.

Une activité physique régulière était pratiquée par tous les patients de notre série, avec une intensité modérée dans 75% et moyenne dans 25%, à type de cyclisme, la marche lente et rapide.

Tableau I : Intensité de l`activité physique pratiquée par les patients.

Intensité de l`activité physique	Effectif	Pourcentage
modérée	3	75%
moyenne	1	25%
Total	4	100%

4. Suivi et Surveillance :

4.1 Rythme des consultations médicales :

Le suivi était régulier dans 75% des cas : 50% des patients consultaient tous les 3 mois au Centre Hospitalier Universitaire ,et 25% tous les 6 mois au Centre hospitalier Provincial.

Tandis que le quart des malades (25%) consultait de façon irrégulière en privé.

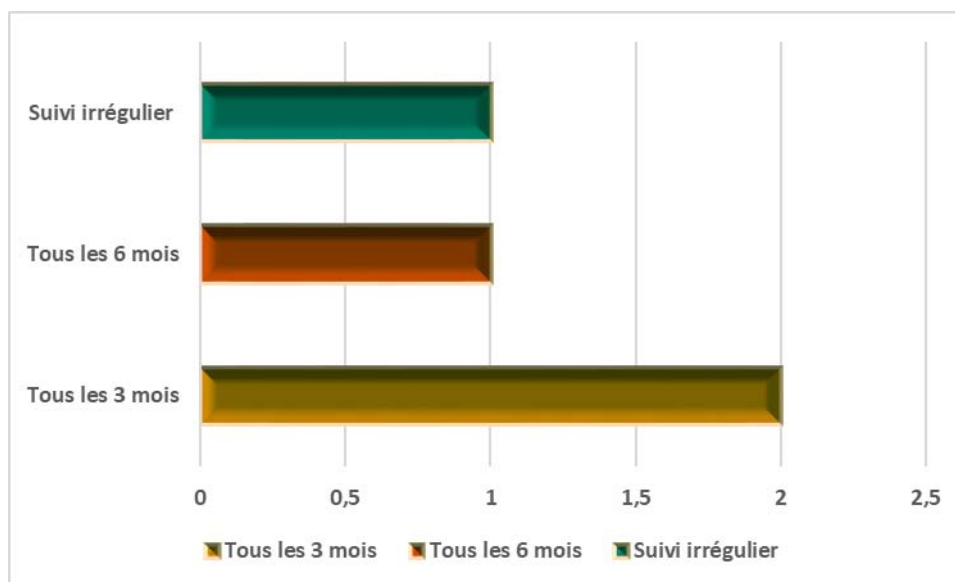


Figure 56 : Répartition des malades en fonction du rythme des consultations médicales.

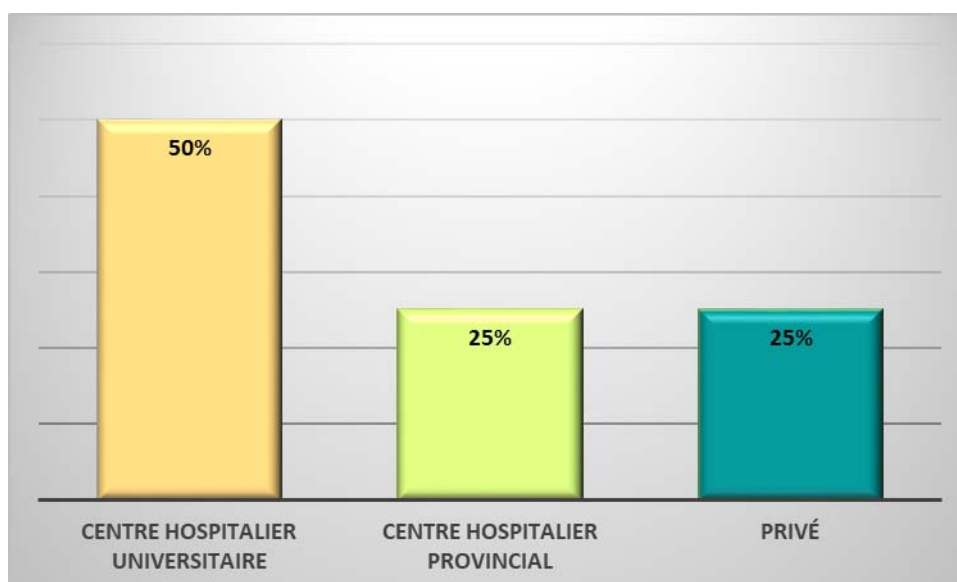


Figure 57 : Répartition des malades selon le lieu de suivi.

4.2 Carnet de surveillance :

L'entretien du carnet de surveillance se faisait par les parents dans 50% des cas, et par le patient lui-même dans 50% des cas.

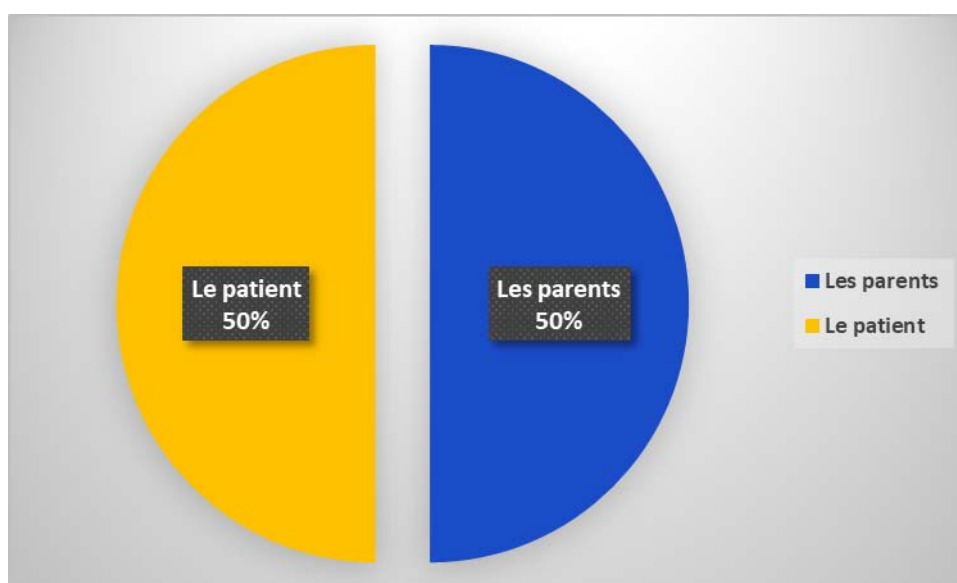


Figure 58 : La personne responsable de l'entretien du carnet de surveillance.

4.3 Fréquence de l'auto-Surveillance glycémique :

Parmi les patients inclus dans l'étude, 75% disposaient d'un glucomètre tandis que 25% disposaient d'un lecteur glycémie Freestyle Libre.

La majorité des malades surveillaient leurs glycémies capillaires de façon irrégulière et ce sont essentiellement les glycémies avant les injections qui sont mesurées.

Le nombre moyen de mesure de la glycémie capillaire par jour était 5,5 avec des extrêmes allant de 3 à 10 mesures de glycémie capillaire par jour.

Tableau II : Fréquence de la surveillance de la glycémie capillaire.

Fréquence de la Surveillance de la GC	Effectif	Pourcentage
3 fois/J	2	50%
6 fois/J	1	25%
10 fois/J	1	25%
Total	4	100%

4.4 Surveillance urinaire :

50% des malades cherchaient l'acétonurie et la glucosurie en cas d'hyperglycémie (si glycémie supérieure à 2,5g/l) ,alors que 50% des malades ne faisaient aucune surveillance urinaire.

4.5 L'hémoglobine glyquée :

L'HbA1c moyenne était de 7,25% avec des extrêmes allant de 6,1% à 9,2% , 25% seulement des patients qui avait une HbA1c > 7,5%.

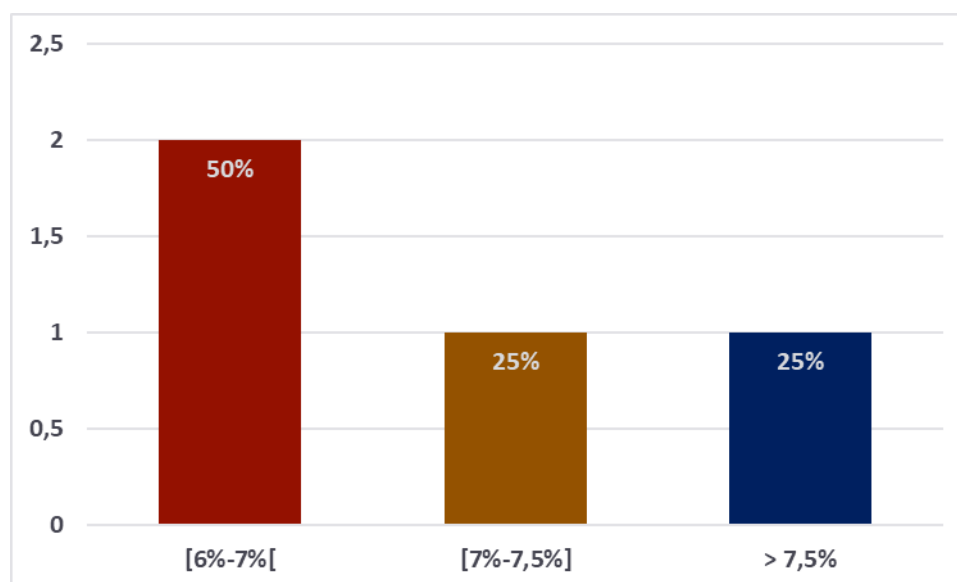


Figure 59 : Répartition des malades selon le taux de l'hémoglobine glyquée

4.6 Surveillance de l'indice de masse corporelle (IMC) :

Tous les patients de notre étude avaient un IMC normal [18,5–25], dont 50% sont proches à l'insuffisance pondérale.

5. Évolution :

5.1 Complications aigues :

1. Hypoglycémie :

La fréquence moyenne de survenue de l'hypoglycémie chez nos patients est de 2 fois par semaine avec des extrêmes allant d'une fois à 3 fois par semaine le plus souvent au cours de la journée dans 75%.

La première cause d'hypoglycémie chez nos diabétiques était l'insuffisance du repas dans 75% des cas, tandis que la 2^{ème} cause était une activité physique importante dans 25% des cas.

Tableau III : Répartition des patients en fonction de la fréquence, l`horaire, circonstances de survenue de l`hypoglycémie.

Fréquence de survenue de l`hypoglycémie	Effectif	Horaire	Circonstances de survenue	Pourcentage
2 fois/S	2	La journée	Repas insuffisant	50%
3 fois/S	1	La journée	Repas insuffisant	25%
1 fois/S	1	Le soir	Exercice physique	25%

2. Acidocétose :

Au cours de l`évolution de leur diabète, seulement 25% des patients ont été hospitalisés pour acidocétose, dont l`étiologie était un abus de sucre.

5.2 Suivi psychologique :

75% des patients de notre étude n`ont pas consulté un psychologue au moment du diagnostic, dont 25% ont présenté un déni de leur maladie avec refus d`adhésion au traitement.

Tandis que 25% seulement des patients ont consulté un psychologue pour un accompagnement psychologique.

IV. Les paramètres éligibles à l`inclusion des patients DT1 à la greffe des cellules souche mésenchymateuses :

1. Paramètres pré-thérapeutiques de base au démarrage pour l`éligibilité des patients de l`étude :

1.1 Paramètres anamnestiques et cliniques :

1. Indice de masse corporelle (IMC) et le tour de taille (TT) :

Tous les patients de notre étude avaient un IMC normal [18,5–25], dont 50% sont proche à l`insuffisance pondérale. Avec un poids moyen de 49.5 kg.

Le tour de taille moyen était de 149 cm avec des extrêmes allant de 139 à 159 cm.

2. Dose d`insuline :

La dose quotidienne moyenne d`insuline chez les patients de notre série était de : 0,37 UI/Kg/j pour l`insuline rapide avec des extrêmes allant de 0,16 à 0,81 UI/Kg/j, et de 0,3 UI/Kg/j pour l`insuline basale avec des extrêmes allant de 0,10 à 0,59 UI/Kg/j.

3. Holter glycémique ou glycémie capillaire (GC)/4H pendant les 3 jours qui précèdent la greffe :

La glycémie à jeun moyenne était de 1,58g/l avec des extrêmes allant de 1,01 à 2g/l.

La glycémie postprandiale moyenne était de 1,65g/l avec des extrêmes allant de 1,30 à 2,05g/l.

1.2 Paramètres para-cliniques :

a) Bilan biologique :

- NFS, bilan d`hémostase,
- Bilan infectieux (CRP, ECBU,Rx thorax),
- Bilan hépatique (ASAT,ALAT,GGT),
- Bilan rénal (urée, créatinine, microalbuminurie) , acide urique, ionogramme complet,
- Bilan lipidique complet (cholestérol total,LDL,HDL,triglycérides),
- Troponines ultrasensibles.

Tous les patients de notre étude avaient un bilan biologique complet normal sans anomalie notable, avec un bilan infectieux négatif.

- Bilan glycémique :

– **HBA1C pré-greffe** moyenne était de 8,57%, avec des extrêmes allant de 6,6% à 11,7%. Seulement 25% des patient avaient une HBA1C <7,5% , alors que 75% des patients avaient une HBA1C élevée.

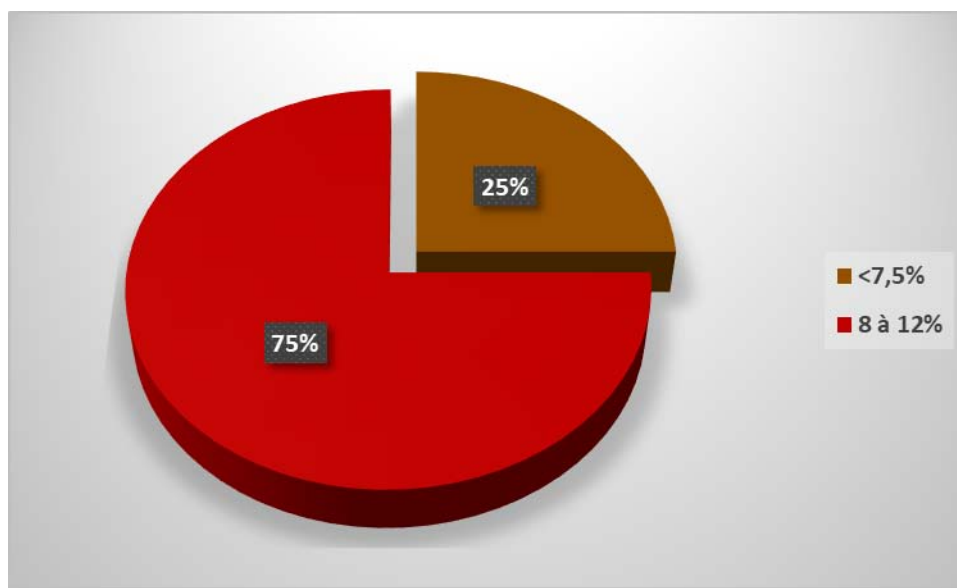


Figure 60 : Répartition des malades selon le taux de l'hémoglobine glyquée pré-greffe.

- **Peptide C de base** moyen était de 0,15 µg/l, avec des extrêmes allant de 0,03 à 0,34 µg/l. Tous les patients de notre série avaient un taux de peptide C de base inférieur à 0,8 µg/l.
- **Peptide C moyen après ingestion de 75 g de glucose**, était de 0,62 µg/l, avec des extrêmes allant de 0,13 à 1,84 µg/l. Dont seulement 25% des patients avaient un taux de peptide C normal > 0,8 µg/l.

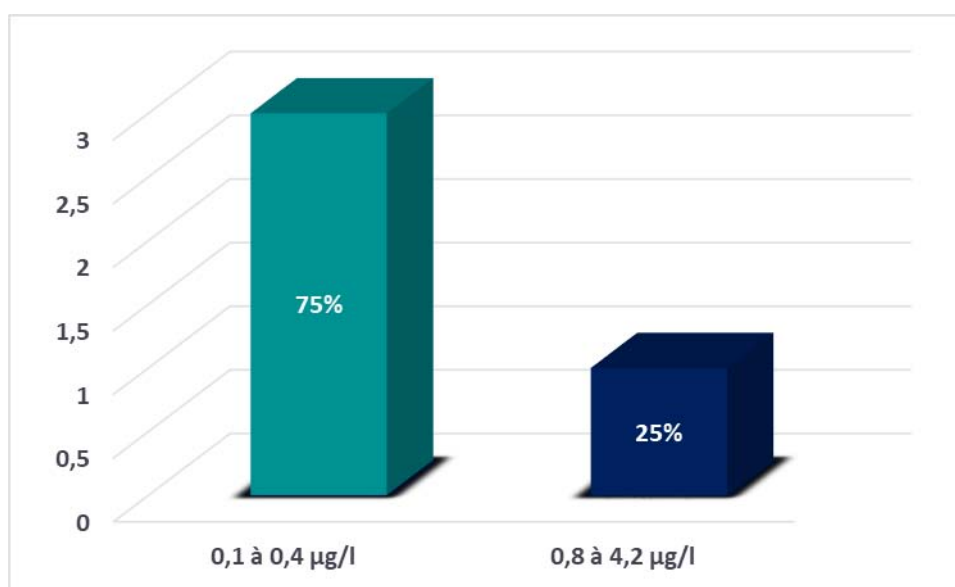


Figure 61 : Répartition des malades selon le taux de peptide C après ingestion de 75g de glucose.

- La BHCG était négative chez toutes les femmes de notre étude.

b) Profil immunologique:

Les AC anti GAD65 , AC anti-ilôts, AC anti-IA2, et AC anti-ZnT8 sont faites avant la greffe des cellules souches chez les patients de notre étude.

Tableau IV : Répartition des patients selon le profil immunologique pré-greffe.

Le profil immunologique	Ac anti-GAD65	Ac anti-ilôts	Ac anti-IA2	Ac anti-ZnT8
Cas 1	-	-	-	-
Cas 2	+	+	+	+
Cas 3	+	-	-	-
Cas 4	-	+	+	+

25% des patients de notre étude avaient tout le bilan immunologique négatif.

Tandis que 75% des patients avaient un bilan positif dont 25% avaient toute la batterie immunologique pré-greffe positive.

c) **Bilan sérologique:**

Tous les patients de notre étude avaient un bilan sérologique négatif (Hépatite B, Hépatite C, HIV, et Syphilis).

d) **Marqueurs tumoraux :**

Tous les patients de notre étude avaient des marqueurs tumoraux négatifs (AFP,Ca125, ACE, Ca15-3, Ca19-9).

2. Caracteristiques du prélèvement :

2.1 Nature du prélèvement :

Le prélèvement est effectué à partir du tissu adipeux chez 75% des patients en chirurgie plastique , et par ponction de la moelle osseuse chez 25% des patients en traumatologie.

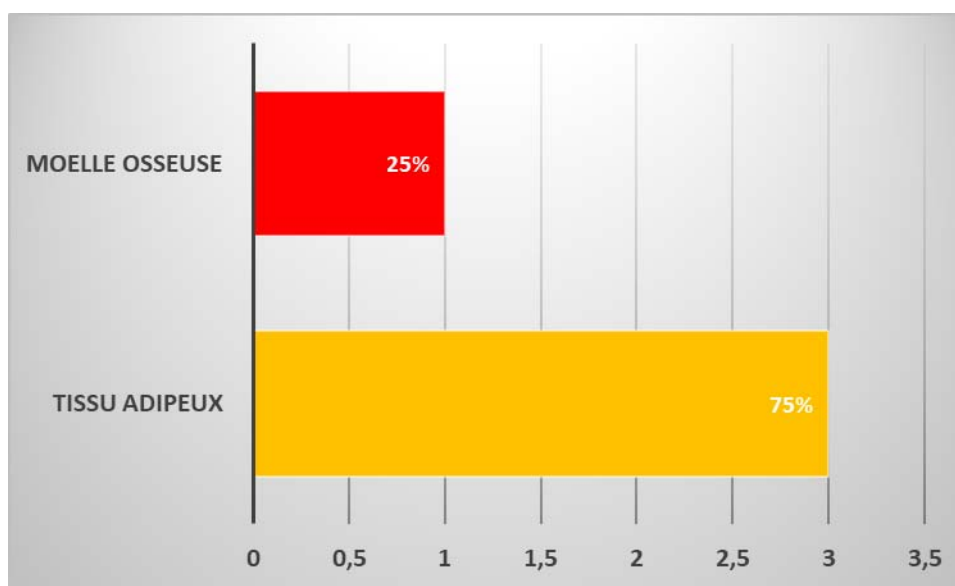


Figure 62 : Répartition des malades selon la nature du prélèvement.

2.2 Site du prélèvement :

Le prélèvement du tissu adipeux est effectué au niveau de :

- La face interne des deux genoux dans 25% des cas,
- La paroi abdominale sous ombilicale et la face interne des cuisses dans 50% des cas.

2.3 Volume du tissu adipeux prélevé :

Le volume du tissu adipeux prélevé chez nos patients, varie entre 40 et 60 ml, avec une moyenne de 51,5 ml. Tandis que 60 ml de graisse a été prélevé e seulement chez 25% des patients.

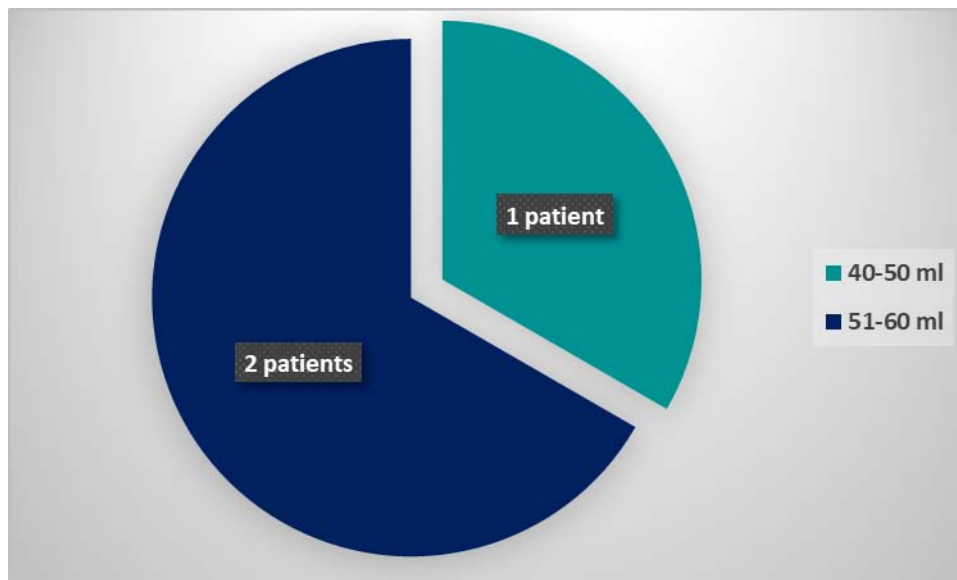


Figure 63 : Répartition des malades selon le volume du tissu adipeux prélevé.

3. Données de comptage des cellules souches mésenchymateuses selon les profils des patients :

3.1 Quantité des cellules souches mesurée par la cytométrie en flux :

Quantité de cellules souches à isoler > 2 million

Quantité de la solution du PRP avec des cellules souches à transfuser environ 15 cc.

Tableau V : Répartition des patients en fonction de la nature du prélèvement et quantité des cellules souches isolée.

Nature du prélèvement et quantité des cellules souches isolée	Cas 1	Cas 2	Cas 3	Cas 4
Tissu adipeux	5 million et 58 mil-les	> 2 million (non précis)	> 2 million (non précis)	-
Moelle osseuse	-	-	-	> 2 million (non précis)

V. Le déroulement de la greffe des cellules souches mésenchymateuse et le suivi post-greffe :

1. Transfusion de la solution des CSM :

1.1 Durée de la transfusion :

La durée moyenne de la transfusion de la solution des CSM diluée dans 100 cc du SSI était de 40 min.

1.2 Les incidents post-transfusion :

Dans notre série, aucun patient n'a présenté des incidents majeurs ou mineurs notamment pas de vomissements ni de réaction cutanée, en dehors des nausées légères, et des douleurs au moment de la transfusion du concentré des CSM présentés chez 25% des patients.

2. Paramètres de suivi post-greffe :

2.1 La surveillance glycémique :

a) Glycémie veineuse moyenne des 3 premiers jours :

Durant les trois premiers jours post-greffe des cellules souches, aucun patient de notre série n'a fait une hypoglycémie < 0.7 g/l ou une hyperglycémie > 2.5 g/l.

La glycémie moyenne des trois premiers jours était respectivement : 1.57g/l , 1.58g/l et 1.7g/l, avec des glycémies allant de 1.22g/l à 2.38g/l.

Tableau VI : Répartition des patients en fonction de la glycémie veineuse moyenne des trois premiers jours post-greffe.

Dose d`insuline	Les pa-tients	Premier jour	Deuxième jour	Troisième jour	La glycémie moyenne
B=20UI R=22UI	Cas 1	1.75 g/l	1.61 g/l	1.53 g/l	1.63g/l
B=4UI R=6UI	Cas 2	1.59 g/l	1.78 g/l	2.38 g/l	1.91g/l
B=10UI R=18UI	Cas 3	1.48 g/l	1.22 g/l	1.4 g/l	1.36g/l
B=22UI R=30UI	Cas 4	1.46 g/l	1.7 g/l	1.52 g/l	1.56g/l

b) Glycémie à jeun et GPP veineuse du 8ème jour à 1 mois (chaque semaine) :

Au premier mois de la greffe des cellules souches, 75% des patients de notre étude avaient des GÀJ et GPP dans l`objectif : À jeûn : 0.8-1.2g/l et post prandiale <1.4g/l.

Les hypoglycémies ont été noté chez 50% des patients avec adaptation de la dose d`insuline injectée.

Tableau VII : Répartition des patients en fonction de la GAJ et la GPP veineuse du premier mois post-greffe.

Dose d`insuline	La /GPP	GAJ	Première semaine	Deuxième semaine	Troisième semaine	Quatrième semaine	La glycémie moyenne
B=16UI	Cas	GAJ	1.67 g/l	1.5 g/l	1.73 g/l	1.2 g/l	1.52g/l
R=14UI	1	GPP	1.7 g/l	1.6 g/l	1.79 g/l	1.5g/l	1.64g/l
B=3UI	Cas	GAJ	1.01 g/l	0.9 g/l	1.27 g/l	1.4 g/l	1.14g/l
R=6UI	2	GPP	0.64 g/l	1,8 g/l	2.3 g/l	1.2 g/l	1.48g/l
B=10UI	Cas	GAJ	1.16 g/l	1.22 g/l	1.12 g/l	0.58g/l	1.11g/l
R=16UI	3	GPP	1.22 g/l	1.41 g/l	1.34 g/l	1.48 g/l	1.36g/l
B=20UI	Cas	GAJ	0.94 g/l	0.98 g/l	0.91 g/l	0.88 g/l	0.92g/l
R=30UI	4	GPP	1.3 g/l	1.23 g/l	1.25 g/l	1.19 g/l	1.24g/l

Durant le premier mois post-greffe des cellules souches, on note une nette diminution des glycémies moyennes (GM) des patients de notre étude, ainsi que la dose d`insuline injectée

Tableau VIII : Évolution de la glycémie moyenne et la dose d`insuline injectée (Basale et Rapide) des 3 premiers jours jusqu`au premier mois post greffe.

Les patients de l`étude	Suivi post-greffe	Trois premiers jours	Le premier mois
Cas 1	Glycémie moyenne	1.63g/l	1.55g/l
	Dose d`insuline	B=20 UI R=22 UI	B=16 UI R=14 UI
Cas 2	Glycémie moyenne	1.91g/l	1.31g/l
	Dose d`insuline	B=4 UI R=6 UI	B=3 UI R=6 UI
Cas 3	Glycémie moyenne	1.36g/l	1.23g/l
	Dose d`insuline	B=10 UI R=18 UI	B=10 UI R=16 UI
Cas 4	Glycémie moyenne	1.56g/l	1.08g/l
	Dose d`insuline	B=22 UI R=30 UI	B=20 UI R=30 UI

2.2 Suivi trimestriel :

Durant le suivi post-greffe de CSMs, les principaux paramètres à surveiller chez nos patients tous les trois mois sont : la GÀJ, la GPP, le taux d`HBA1C, le taux de peptide C, le poids, l`IMC, les besoins en insuline, et les complications aiguës.

Ces variables ci-dessus ont été comparées au bout d'un an à compter de la date du traitement . Certains patients n'ont pas envoyé de rapport d'investigation à intervalle de 3 mois pour diverses raisons telles que le manque de moyens financiers, et le manque de disponibilité dans leur zone de résidence locale.

- **Le poids :**

La prise de poids est un indicateur pronostique important dans le diabète de type 1. 50% des patients ont eu après un an du traitement une prise de poids moyenne de 4kg, avec des extrêmes allant de 1 à 7kg.

- **Les besoins moyens en insuline :**

Ils ont diminué chez la majorité des patients après an de la greffe des cellules souches mésenchymateuses. Pour l`insuline basale, les besoins ont diminués de 0.29 à 0.28 ui/kg/j, et pour l`insuline rapide les besoins ont diminués de 0.3 à 0.27 ui/kg/j.

Tableau IX : Évolution des besoins en insuline après la greffe des CSM.

Les patients	Les besoins en insuline	Basale (ui/kg/j)	Rapide (ui/kg/j)
Cas 1	Pré-greffe	0.34	0.2
	Post-greffe	0.27	0.36
Cas 2	Pré-greffe	0.21	0.27
	Post-greffe	0,1	0.05
Cas 3	Pré-greffe	0.18	0.14
	Post-greffe	0.16	0.29
Cas 4	Pré-greffe	0.44	0.57
	Post-greffe	0.6	0.4

- **Le taux d'HbA1c :**

L`HBA1C a baissé chez la totalité des patients, passant d`une HbA1c moyenne pré-greffe de 8.82 à 7.07% après traitement par CSM, cette diminution était beaucoup plus significative pour le quatrième patient, chez qui le taux d`HBA1C a diminué de 11,7% à 6,5% au bout de deux mois post-greffe.

- **Les GÀJ et GPP :**

Après un an de la thérapie par greffe de CSM, les GÀJ et les GPP ont régressés pour la totalité des patients de notre étude, passant d`une GÀJ moyenne pré-greffe de 1.35 à 1.18 g/l, et d`une GPP moyenne pré-greffe de 2.16 à 1.49 g/l.

- **Le peptide C :**

Le suivi du taux de peptide C au fil des mois post-greffe n`a pas été régulier par la majorité des patients.

Au bout de 2ème mois post-greffe, on a constaté une augmentation des niveaux de peptide C chez 50% des patients qui a doublé de valeur, passant de 0,16 à 0,29 µg/l chez le premier patient, et de 0,34 à 0,67 µg/l chez le troisième patient.

Tableau X : Le suivi trimestriel du premier cas.

Les paramètres de suivi	La durée de suivi		Avant la greffe	2 Mois	5 mois	8 mois	11 mois	12 mois
	Le jour de la greffe : 23/06/2021							
Paramètres anamnestiques et examen clinique	Complications aiguës	HypoG	2 fois/S	8 fois/S	5 fois/S	2 fois/S	Rarement	3 fois/S
		HyperG/cétose	0	0	0	0	0	0
	Dose d'insuline (UI)	Basale	20 UI	16 UI	18 UI	18 UI	18 UI	18 UI
		Rapide	12 UI	18 UI	18 UI	20 UI	22 UI	24 UI
	Poids (kg)	-	58 kg	60 kg	64 kg	65 kg	66 kg	65 kg
	IMC (kg/m ²)	-	23	23.8	25.7	25.8	26	25.8
	Les zones de lipodystrophie	-	Non	Non	Non	Non	Non	Non
Paramètre biologiques	GÀJ (g/l)	-	1.7g/l	1.2g/l	2.1g/l	1.22g/l	1.5g/l	1.8g/l
	GPP(g/l)	-	2g/l	1.7g/l	1.8g/l	2g	1.8g/l	1.7g/l
	HBA1C (%)	-	7.8%	7.2%	7.8%	8%	7.9%	7.1%
	Peptide C (µg/l)	-	0.16 µg/l	0.29 µg/l	0.07 µg/l	ND	ND	0.05 µg/l

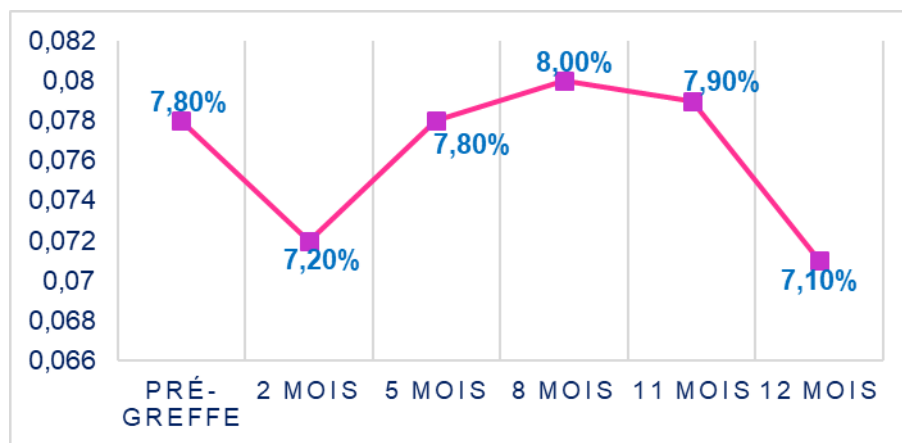


Figure 64 : Évolution des valeurs de HBA1C au fil des mois de suivi post-greffe chez le cas1.

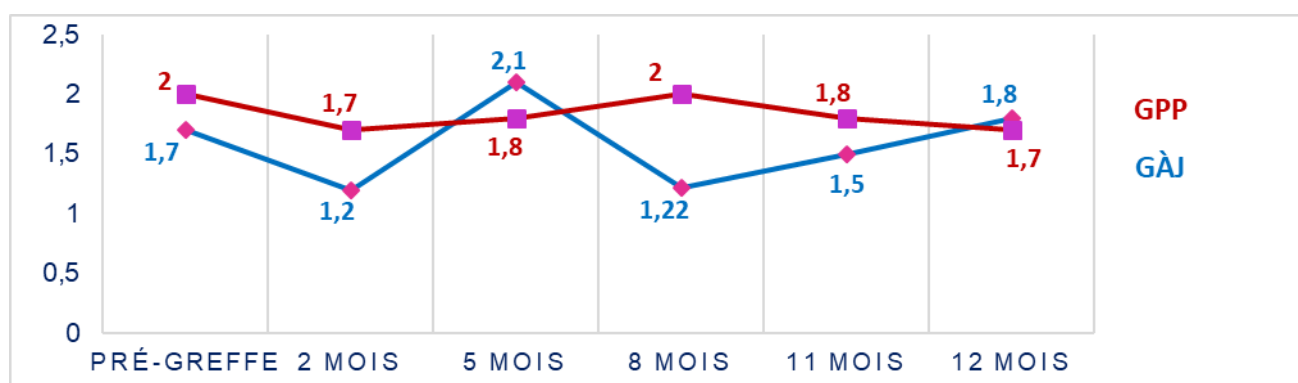


Figure 65 : Évolution des valeurs de la GÀJ et la GPP en g/l au fil des mois de suivi post-greffe chez le cas1.

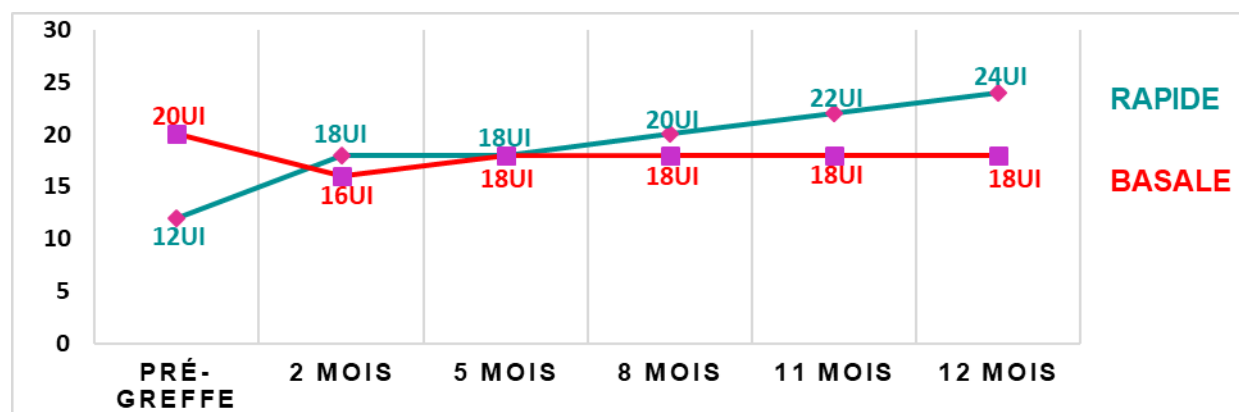


Figure 66 : Évolution de la dose d`insuline injectée (l`insuline basale et rapide) au fil des mois de suivi post-greffe chez le cas1.

Tableau XI : Le suivi trimestriel du deuxième cas.

Les paramètres de suivi	La durée de suivi		Avant la greffe	2 Mois	5 mois	8 mois	11 mois	12 mois
	Le jour de la greffe : 08/07/2021							
Paramètres anamnestiques et examen clinique	Complications aiguës	HypoG	3 fois/S	Fréquemment	5 fois/S	3 fois/S	3 fois/S	ND
		HyperG/ céto-se	2 fois/S	0	0	1 fois/S	1 fois/S	ND
	Dose d`insuline (UI)	Basale	8 UI	6 UI	4 UI	6 UI	4 UI	ND
		Rapide	10 UI	4 UI	2 UI	2 à 4 UI (à midi)	2 UI (à midi +/-)	ND
	Poids (kg)	-	37 kg	37 kg	37 kg	38 kg	38 kg	ND
	IMC (kg/m ²)	-	18.5	18.5	18.5	19.01	19.01	ND
	Les zones de lipodystrophie	-	Non	Non	Non	Oui (abdomen)	Oui (abdomen)	ND
Paramètre biologiques	GÀJ (g/l)	-	1.37g/l	0.86g/l	0.51g/l	0.9g/l	1.1g/l	ND
	GPP(g/l)	-	2.81g/l	1.43g/l	1.26g/l	1.5g/l	1.4g/l	ND
	HBA1C (%)	-	9.2%	8.2%	7.9%	8.5%	8.2%	ND
	Peptide C (µg/l)	-	0.06 µg/l	ND	<0.03µg/l	ND	ND	ND



Figure 67 : Évolution des valeurs de HbA1C au fil des mois de suivi post-greffe chez le cas2.

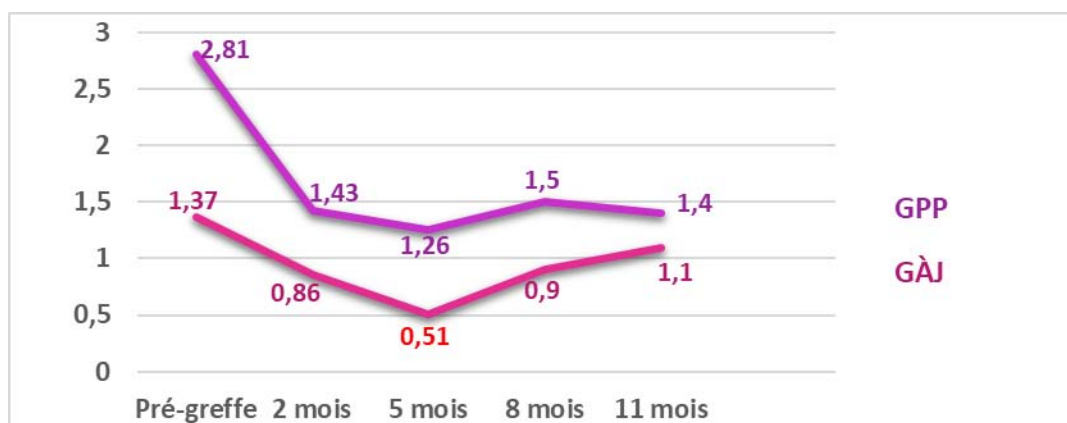


Figure 68 : Évolution des valeurs de la GÀJ et la GPP en g/l au fil des mois de suivi post-greffe chez le cas2.

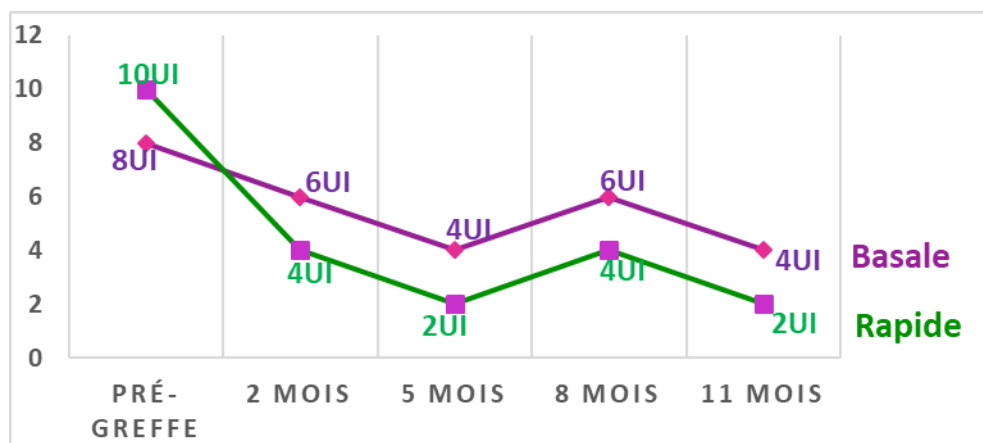


Figure 69 : Évolution de la dose d'insuline injectée (l'insuline basale et rapide) au fil des mois de suivi post-greffe chez le cas2.

Tableau XII : Le suivi trimestriel du troisième cas.

Les paramètres de suivi	La durée de suivi		Avant la greffe	2 Mois	5 mois
	Le jour de la greffe : 01/04/2022				
Paramètres anamnestiques et examen clinique	Complications aiguës	HypoG	0	3 fois/S	2 fois/S
		HyperG/ cétose	0	0	0
	Dose d`insuline (UI)	Basale	10 UI	4 UI	10 UI
		Rapide	8 UI	14 UI	18 UI
	Poids (kg)	-	54 kg	61 kg	62 kg
	IMC (kg/m2)	-	22	24,12	24,52
	Les zones de lipodystrophie	-	Non	Non	Non
Paramètre biologiques	GÅJ (g/l)	-	1.34g/l	1.29g/l	1.40g/l
	GPP(g/l)	-	1.80g/l	1.41g/l	2.12g/l
	HBA1C (%)	-	6.6%	6.5%	ND
	Peptide C (µg/l)	-	0.34 µg/l	0.67 µg/l	ND

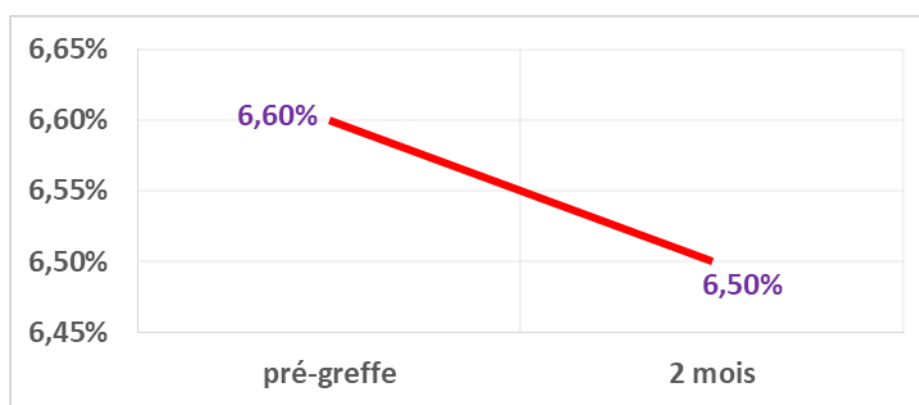


Figure 70 : Évolution des valeurs de HBA1C au fil des mois de suivi post-greffe chez le cas3.

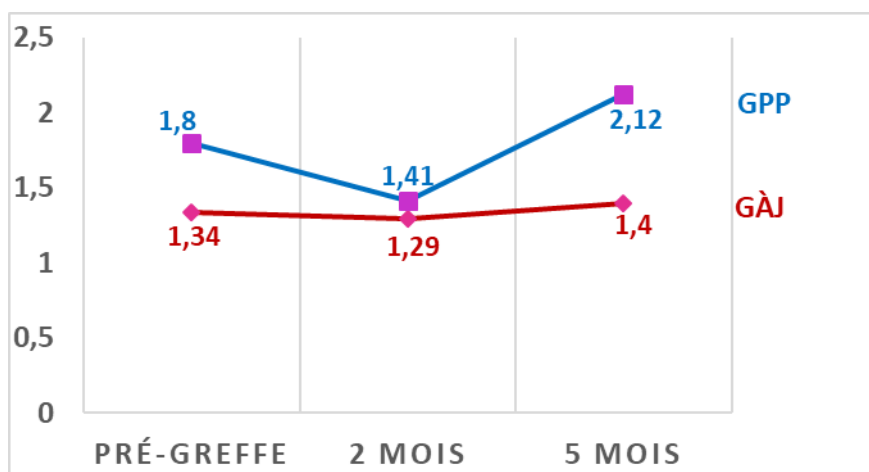


Figure 71 : Évolution des valeurs de la GÀJ et la GPP en g/l au fil des mois de suivi post-greffe chez le cas3.

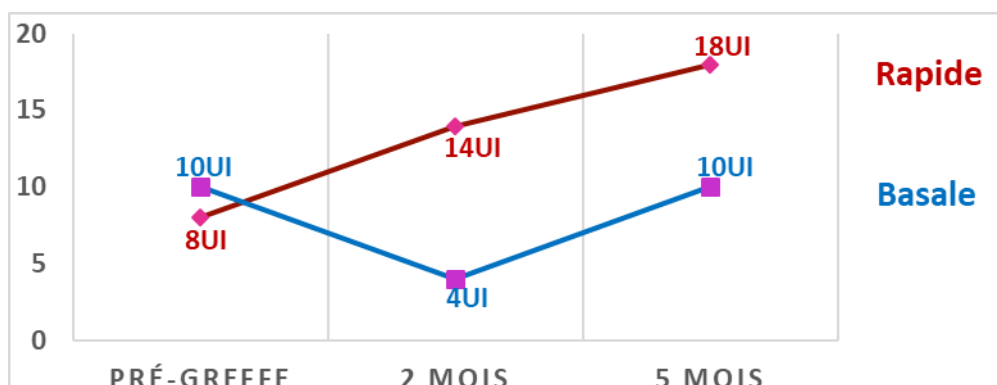


Figure 72 : Évolution de la dose d`insuline injectée (l`insuline basale et rapide) au fil des mois de suivi post-greffe chez le cas3.

Tableau XIII : Le suivi trimestriel du quatrième cas.

Les paramètres de suivi	La durée de suivi		Avant la greffe	2 Mois	5 mois
	Le jour de la greffe : 01/04/2022				
Paramètres anamnestiques et examen clinique	Complications aiguës	HypoG	Rarement	0	ND
		HyperG/ cétose	0	0	ND
	Dose d'insuline (UI)	Basale	22 UI	20 UI	ND
		Rapide	28 UI	30 UI	ND
	Poids (kg)	-	49 kg	50 kg	ND
	IMC (kg/m ²)	-	18,5	18,87	ND
	Les zones de lipodystrophie	-	Non	Non	ND
Paramètre biologiques	GAJ (g/l)	-	1.01g/l	0.73g/l	ND
	GPP(g/l)	-	2.06g/l	1.27g/l	ND
	HBA1C (%)	-	11.7%	6.5%	ND
	Peptide C (µg/l)	-	0.03 µg/l	ND	ND

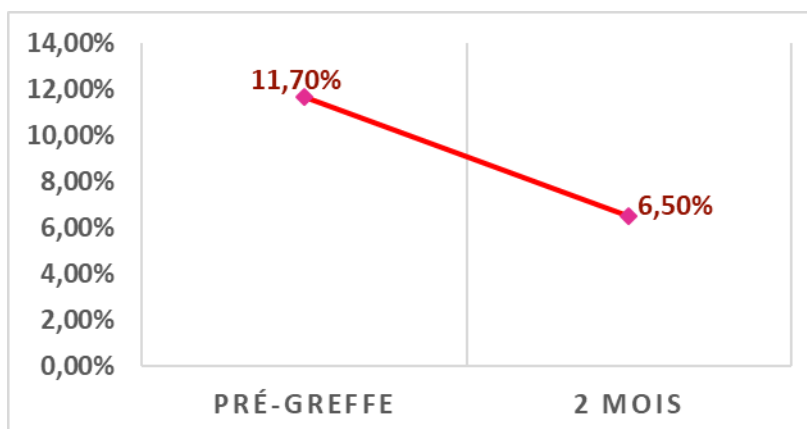


Figure 73 : Évolution des valeurs de HBA1C au fil des mois de suivi post-greffe chez le cas4.

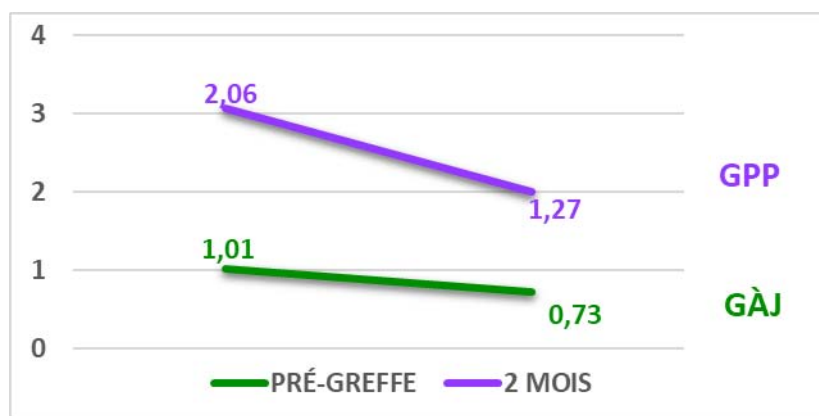


Figure 74 : Évolution des valeurs de la GÀJ et la GPP en g/l au fil des mois de suivi post-greffe chez le cas4.

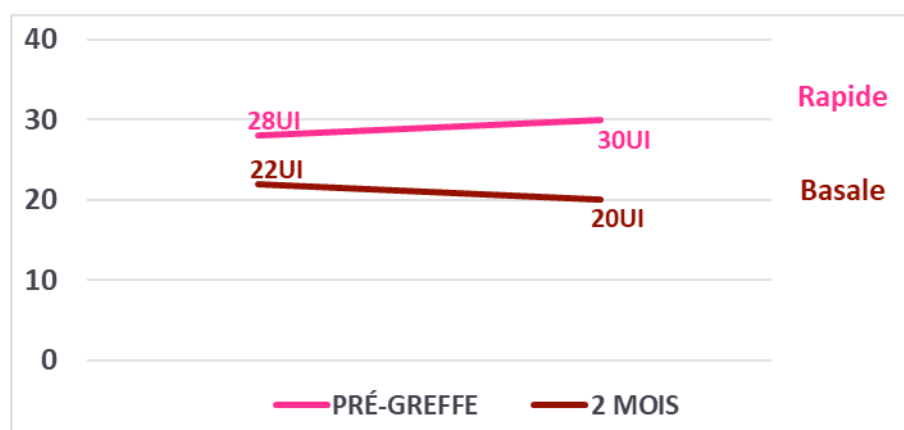


Figure 75 : Évolution de la dose d`insuline injectée (l`insuline basale et rapide) au fil des mois de suivi post-greffe chez le cas4.

DISCUSSION

I. Généralités :

1. Les cellules souches :

a) Définition :

Les cellules souches peuvent être considérées comme des unités d'organisation des systèmes biologiques qui sont responsables de la régénération et du développement des organes et des tissus.

Elles peuvent également être définies comme des cellules indifférenciées, dotées d'un potentiel d'auto-renouvellement et de différenciation.[52]

b) La différenciation cellulaire :

Le potentiel de différenciation varie selon le nombre de types cellulaires vers lequel les cellules peuvent se différencier [54][55], elles peuvent être classées en quatre catégories :

- **Les cellules souches totipotentes**: ont le plus fort pouvoir de différenciation, capables de donner lieu à n'importe quel type cellulaire et ainsi constituer tous les tissus et organes du corps pour finalement former un organisme entier. Ces cellules ne sont présentes qu'aux tous premiers stades de la vie embryonnaire, jusqu'à la formation de l'embryon à 8 cellules, l'exemple type est celui de l'œuf fécondé. En outre, les cellules totipotentes peuvent donner des cellules participant à la formation des annexes extra-embryonnaires, comme le placenta.[53]

- **Les cellules souches pluripotentes** : sont présentes 5 à 7 jours après la fécondation de l'œuf, au stade blastocyste et représentent la masse cellulaire interne du blastocyste. Elles peuvent donner toutes les cellules du corps[56] appartenant aux 3 feuillets embryologiques, sauf les annexes.

Ces cellules souches embryonnaires (CSE) intéressent les chercheurs, elles peuvent être mises en culture dans le cadre de recherches scientifiques contrôlées, mais leur utilisation est controversée sur le plan éthique. Dernièrement, des cellules somatiques différenciées ont été

reprogrammées pour acquérir ce caractère pluripotent tant convoité : les cellules souches pluripotentes induites (ou iPS)[57][58]. Ces travaux ont été reconnus internationalement et récompensés par l'attribution du prix Nobel de physiologie et médecine en 2012.

D'autres cellules auraient également ce caractère pluripotent : les cellules de carcinome embryonnaire, les cellules souches de l'épiblaste ou encore les cellules embryonnaires germinales[60].

- **Les cellules souches multipotentes** : peuvent donner lieu à un large éventail de types cellulaires appartenant à un seul feuillet embryologique . Elles remplacent les cellules malades ou âgées, fonctionnant ainsi pour reconstituer les cellules du corps tout au long de la vie d'un individu. Ces cellules apparaissent avec le fœtus et sont présentes chez l'adulte.[59]

Les cellules souches hématopoïétiques et les cellules souches mésenchymateuses (CSM) sont une bonne représentation de cette catégorie. Leur capacité de différenciation est moindre, étant déjà engagées dans un lignage spécifique (ectodermique, endodermique ou mésodermique). Contrairement aux cellules souches embryonnaires, ces cellules ne soulèvent pas de questions éthiques et font ainsi l'objet d'un nombre croissant d'études. Même si elles ne peuvent pas régénérer un organisme entier , leur potentiel est tout à fait incroyable et offre de belles perspectives thérapeutiques.[61]

- **Les cellules souches unipotentes** : situées dans les tissus adultes, ont le plus faible potentiel de différenciation. Une cellule unipotente aurait la capacité de donner un seul type cellulaire, quoique cela paraisse de moins en moins évident en raison des études qui se multiplient prouvant la multipotence chez de nombreux types de cellules.

Les cellules unipotentes proviennent de cellules multipotentes en train de se différencier dans un lignage spécifique pour donner des cellules progénitrices , comme les pré adipocytes. En outre, en dépit de leur potentiel de différenciation limitée, les cellules unipotentes ont elles

aussi la propriété importante d'auto -renouvellement et jouissent encore d'un vaste potentiel thérapeutique pour traiter les blessures et les maladies . La greffe de peau pour les grands brûlés est un exemple d'utilisation de ces cellules.[62]

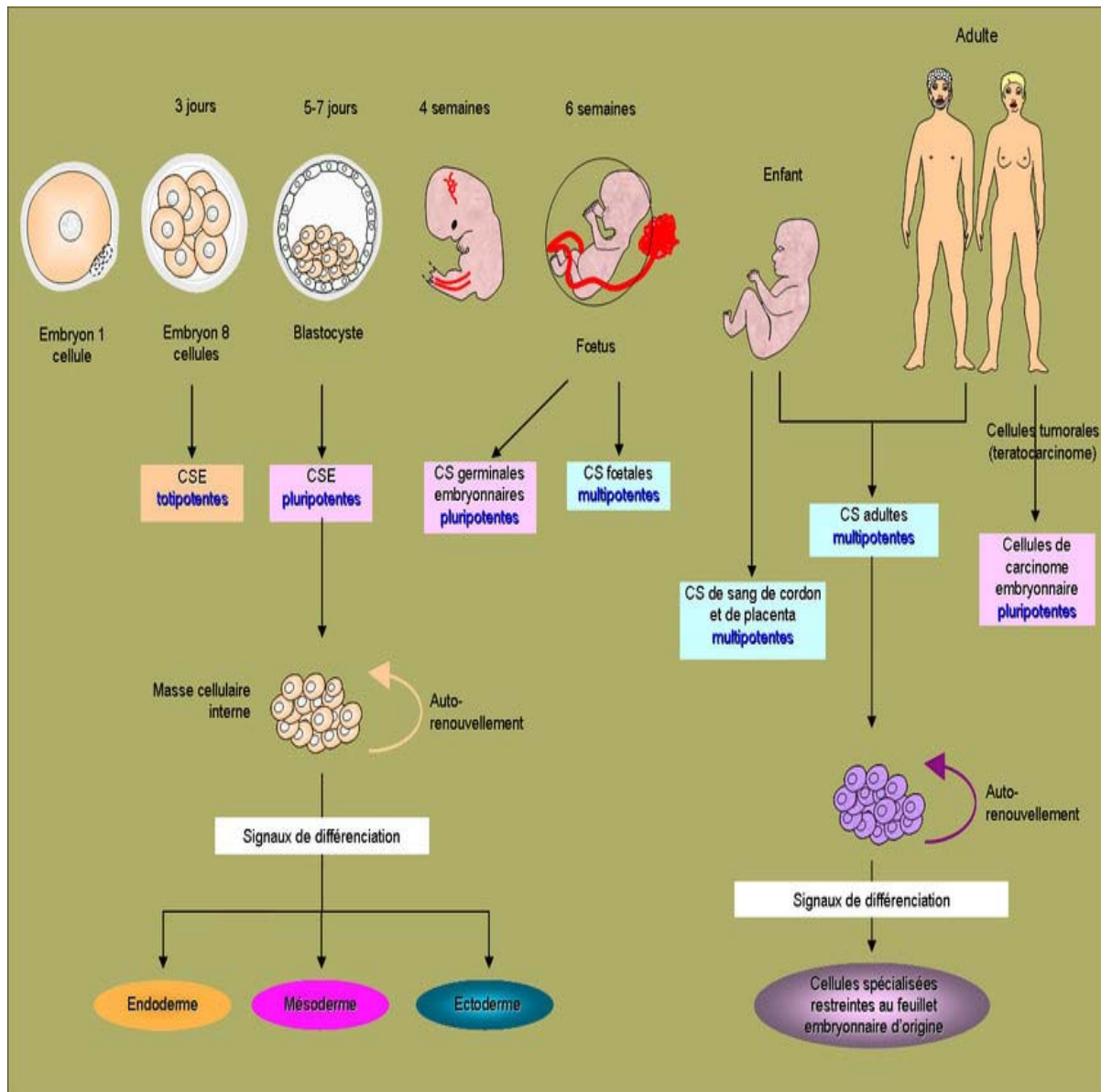


Figure 76 : Origines des cellules souches de la formation du zygote à l'adulte
CS : Cellule Souche ; CSE : Cellule Souche Embryonnaire.

2. Les cellules souches mésenchymateuses :

a) Définition :

En 2006, la Société internationale de thérapie cellulaire (ISCT) a publié sa position précisant les critères définissant la population des CSM, qui a été acceptée par la communauté scientifique mondiale. Ces lignes directrices recommandent l'utilisation du nom de cellules stromales mésenchymateuses multipotentes, cependant, le nom de cellules souches mésenchymateuses reste encore le plus utilisé.[61][63]

L'intérêt porté aux CSM s'est progressivement 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 moelle osseuse ont ensuite été identifiées dans un grand nombre de tissus de soutien adultes (tissu adipeux, reins, foie, poumons...) et fœtaux (cordon, placenta) [64][65][66].

Afin de 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 suffisamment proches sous une appellation unique [64]. Face à la très faible proportion de cellules capables d'auto-renouvellement à long terme, et l'absence de preuve de la capacité à régénérer un tissu fonctionnel in vivo au niveau clonal, la dénomination « cellules souches » a été abandonnée au profit de « cellules stromales mésenchymateuses » permettant de conserver l'acronyme CSM. Cette dénomination s'applique à toute population de cellules remplissant trois critères :

1. L'adhérence au plastique de culture (figure 77) ;
2. Un phénotype membranaire commun déterminé par cryométrie en flux (figure 78) :

3. La capacité à se différencier in vitro en ostéoblastes , chondrocytes et adipocytes (figure 79).

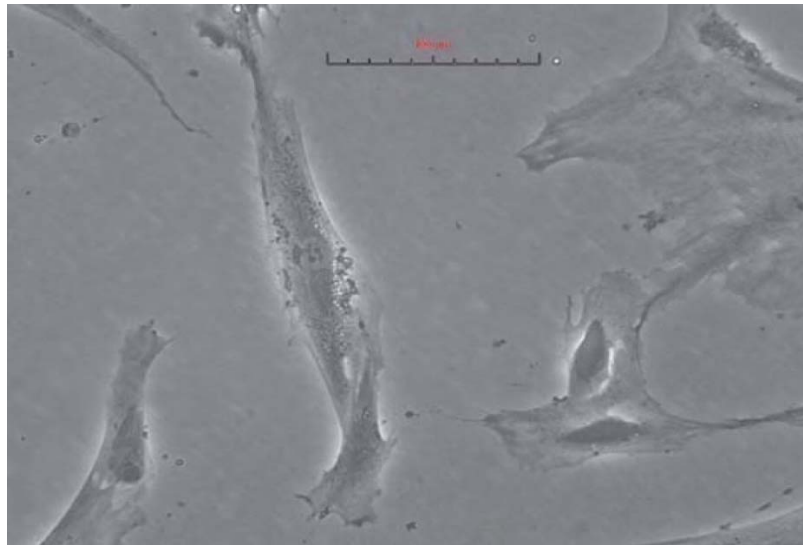


Figure 77 : CSM en culture observées en microscopie à cotraste de phase.

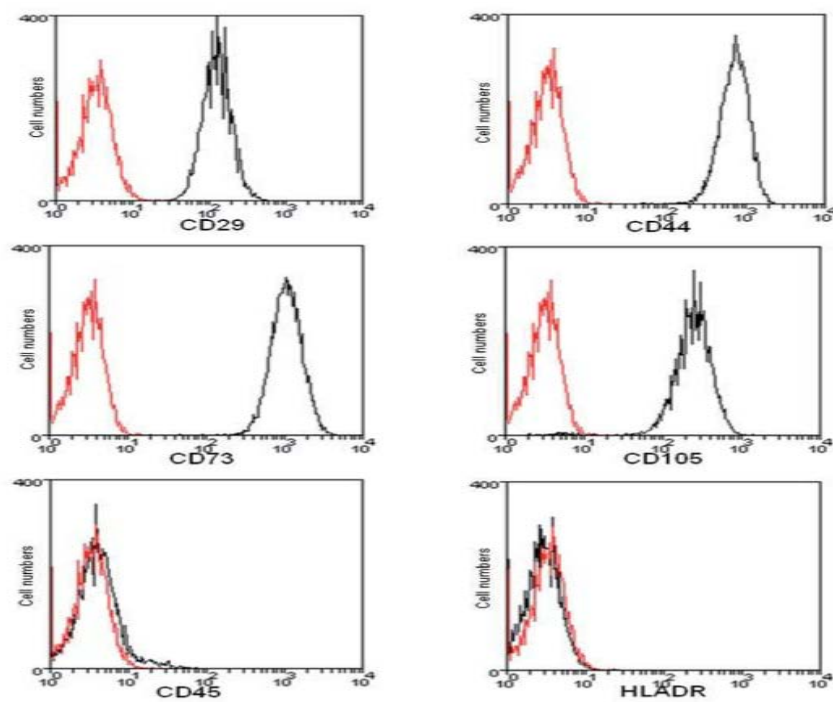


Figure 78 : Profil phénotypique des CSM en culture.

Le profil des cellules marquées est représenté en noir, celui des contrôles isotypiques en rouge. Les cellules sont homogènes, positives pour les antigènes membranaires CD29, CD44, CD73, CD90 et CD105, négatives pour CD45 (marqueur pan-leucocytaire) et pour le CMH de classe II.

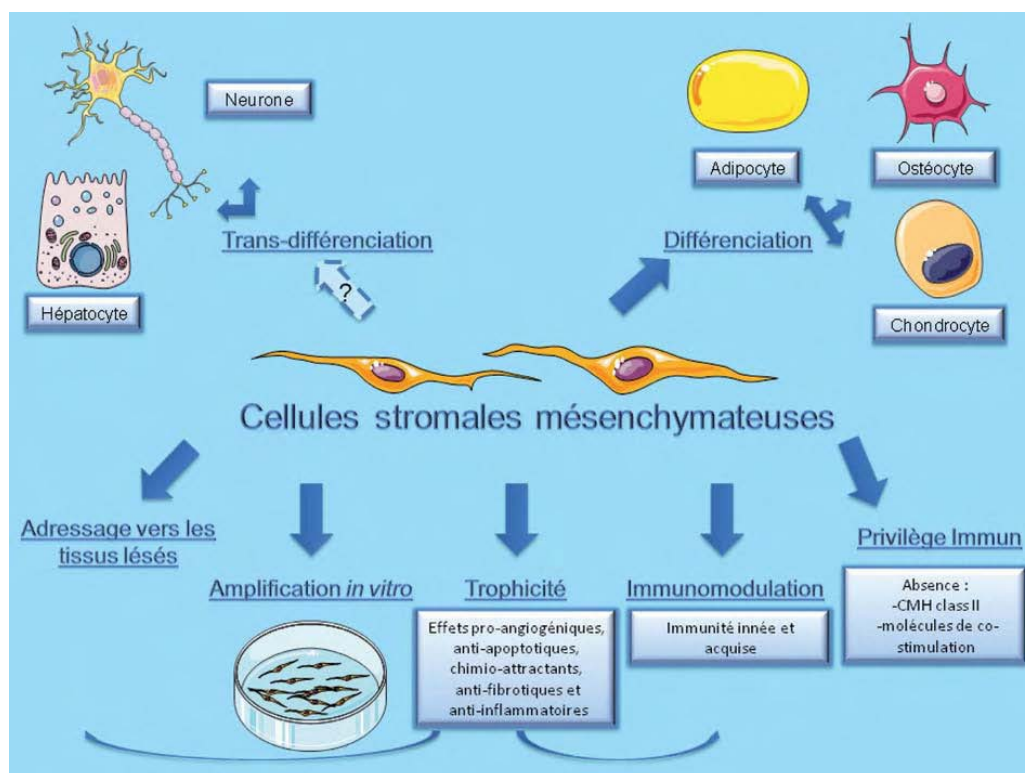


Figure 79 : Propriétés biologiques des CSM.

Les CSM sont capables de prolifération *in vivo* et de différenciation, bien que leur transdifférenciation soit débattue. Elles n'expriment pas ou peu le CMH de classe II, ni de molécules de co-stimulation (CD 40, CD 80 et CD86), empêchant partiellement leur destruction après greffe, et sont capables de moduler l'activation de cellules de l'immunité (lymphocytes T, B, NK, monocytes). Elles sont capables de homing vers un tissu lésé, et de faciliter la réparation en favorisant l'angiogenèse ou la modulation du fonctionnement des cellules survivantes ou l'attraction de progéniteurs.

Une majorité de cellules (> 95 %) positives pour CD73 (Ecto 5' nucléotidase), CD90 (Thy-1) et CD105 (Endogline), et au moins 98% des cellules négatives pour les marqueurs hématopoïétiques CD11b, CD14, CD19, CD34, CD45, CD79 α et CMH de classe II (même si la labilité de ce marqueur permet néanmoins d'utiliser des dénominations comme «CSM activées» lorsqu'il est retrouvé). [67][68]

b) Identification :

La condition pour l'identification des CSM est la croissance des cellules in vitro en tant que population adhérant au substrat, ainsi que dans le cas des cellules d'origine humaine, un phénotype caractérisé par la présence d'antigènes de surface et l'absence d'expression de certaines protéines ou des antigènes du complexe d'histocompatibilité de classe II. De plus, ces cellules doivent avoir la capacité de se différencier en ostéoblastes, adipocytes et chondroblastes. [60][65][69]

En 2013, l'ISCT a dénoté des marqueurs de surface supplémentaires CD 13, CD29 et CD44 comme étant exprimés de manière constitutive à plus de 80 % à la surface des cellules souches adipeuses, tandis que CD31, CD45 et CD235a sont les principaux marqueurs négatifs qui doivent être exprimés sur moins de 2 % des cellules.[70]

• **L'adhérence au plastic :**

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

L'expression des antigènes spécifique à la surface cellulaire : Celle-ci permet une identification rapide d'une population cellulaire . L'ISCT propose la présence et l'absence de certains antigènes de surface spécifiques aux CSM notamment des marqueurs hématopoïétiques. (Voir Tableau 14)

Tableau XIV : Tableau des antigènes présents et absents des CSMAs.

Antigènes présents	Antigènes absents
CD73	CD45
CD90	CD34
CD 105	CD14
	CD11b
	CD79a
	CD19

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

• **Le potentiel de différenciation cellulaire multipotente :**

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

c) Propriétés :

Les CSM possèdent plusieurs propriétés d'intérêt potentiel en pratique clinique, parmi celles-ci, la différenciation a été la première à susciter l'intérêt des cliniciens.

i. Différenciation :

L'une des capacités des CSM faisant l'objet des études les plus intensives, est leur potentiel de différenciation et notamment leur capacité à engendrer des types cellulaires de l'appareil squelettique [71][72].

Loin d'être des pages blanches sur lesquelles viendrait s'inscrire l'intégration de signaux de différenciation, les CSM semblent pré-programmées pour certaines voies de différenciation, celles qui sont d'ailleurs le plus facilement obtenues *in vitro*. Les transcrits spécifiques aux lignées ostéoblastiques, chondrocytaires et adipocytaires sont ainsi pré-exprimés en même temps au sein de CSM en phase de prolifération [9].

L'induction et le choix d'une voie de différenciation reposent sur des combinaisons de facteurs physiques statiques comme le contact intercellulaire ou l'élasticité de la matrice extracellulaire, mais également dynamiques comme l'existence de forces de compression, cisaillement ou même de champs électriques [62][73]. Bien que ces paramètres commencent à être pris en compte, notamment pour créer des matrices extracellulaires orientant les cellules implantées vers la voie de différenciation choisie, les protocoles de différenciation *in vitro* reposent principalement sur l'ajout de facteurs de croissance inducteurs.

La différenciation *in vitro* vers ces trois lignées est obtenue aisément en 2 à 3 semaines en modulant la densité cellulaire et les concentrations en facteurs de croissance de la famille TGF- β /BMP, en hormones comme l'insuline ou encore en antioxydants comme l'acide ascorbique.

La réalité d'une différenciation stable, complète et fonctionnelle à long terme reste toutefois sujette à caution, a fortiori *in vivo*. De Bari et al. montrent d'ailleurs que l'implantation à des souris Nude de cellules présentant *in vitro* un phénotype chondrocytaire aboutit à la perte de ce phénotype [72]. Les CSM *in vitro* acquièrent relativement facilement un phénotype musculaire lisse, et certains auteurs rapportent la possible acquisition de marqueurs phénotypiques de la lignée endodermique (hépatocytes) et ectodermiques (astrocytes, neurones), au prix de protocoles complexes d'induction [74]. Là aussi, la fonctionnalité du

phénotype acquis reste à prouver. Pour Phinney, l'un des premiers auteurs ayant suspecté leur différenciation ectodermique après injection dans un système nerveux central de souris, les marqueurs protéiques ainsi que la possibilité d'une dépolarisation membranaire ne permettent pas de conclure sur leur réelle différenciation évidente en neurones ou en astrocytes [75].

En conclusion, si la multipotentialité des CSM est couramment admise, il reste difficile d'affirmer que les CSM peuvent se transdifférencier, c'est-à-dire engendrer des types cellulaires n'appartenant pas au mésoderme.

ii. Communications intercellulaires : trophicité et immunomodulation :

Bien que la multi voire pluripotence des CSM reste un sujet débattu, cette capacité a toutefois été partiellement éclipsée aux yeux des cliniciens par la redécouverte de leur capacité à communiquer avec leur environnement. En effet, alors que leur rôle trophique dans le maintien de la niche hématopoïétique est connu depuis plus d'une décennie [75], la possibilité de mimer leur action clinique par leurs produits de sécrétions [76] a néanmoins révolutionné leurs possibles modes d'administration.

Les résultats précliniques précédemment mis sur le compte d'une différenciation ont été revisités à la lumière de ce phénomène poussant à étudier les modalités et les types cellulaires communiquant avec les CSM. Ces mécanismes ne sont encore que partiellement connus mais comprennent des contacts membranaires, la fusion intercellulaire [77], le transfert de mitochondries [78], la libération de microvésicules contenant entre autres des miRNA, la sécrétion de médiateurs solubles protéiques ou gazeux [79], ainsi que la participation à la synthèse de matrice extracellulaire. L'importance relative de ces moyens de communication est difficile à préciser, mais la facilité d'analyse des molécules de membrane et des protéines sécrétées a par exemple permis de mettre en évidence la présence de nombreux facteurs de croissance (VEGF, IGF-1, bFGF...), de facteurs anti-apoptotiques (HGF), immunomodulateurs (TGF β -1, IL-6, PGE2) ou encore de chimiokines (SDF-1) parmi les protéines sécrétées par les CSM.

Du point de vue de la réparation tissulaire, par exemple myocardique, les étapes physiopathologiques influencées par la présence de CSM semblent couvrir la totalité de l'évolution d'une lésion. Parmi ces phénomènes successifs, les CSM sont capables de moduler la survie de cellules pré-apoptotiques, de diminuer l'extension secondaire de la lésion liée à l'hyper-activation de cellules de l'immunité innée comme les neutrophiles ou les macrophages. Dans les jours qui suivent la lésion, elles semblent également capable de moduler le métabolisme des cellules survivantes, la migration et la différenciation de progéniteurs vasculaires et à plus long terme la fibrose du tissu cicatriciel [80].

La capacité des CSM à moduler tant l'intensité que l'orientation d'une réaction immunitaire fait également l'objet de nombreuses études. Qu'elles agissent directement, par l'inhibition de la maturation des cellules dendritiques, par l'orientation phénotypique des macrophages ou en favorisant l'émergence de lymphocytes régulateurs, les CSM inhibent la prolifération et l'activité des effecteurs lymphocytaires [81]. C'est sur cette immunosuppression constatée in vitro que reposent des essais visant principalement à diminuer l'intensité d'une réaction immunitaire dysfonctionnelle (maladies auto-immunes) ou non souhaitée (maladie du greffon contre l'hôte (GvH)).

Les CSM intègrent toutefois de nombreux paramètres de leur environnement, expliquant que cette capacité d'immunosuppression puisse céder le pas à une immuno-stimulation en présence de molécules signant la présence réelle d'un pathogène [82].

Cette immunosuppression active, associée à une absence d'expression membranaire de molécules de co-stimulation des lymphocytes (comme CD 80 ou CD 86) sont à la base du privilège immunitaire dont jouissent des CSM allo voire xénogénique, leur assurant une durée de vie après transplantation supérieure à celle de cellules plus différenciées, sans toutefois permettre leur survie à long terme [83].

iii. Adressage des CSM vers les tissus lésés :

L'intégration de signaux de souffrance tissulaire, ou de paramètres physiques susceptibles d'en engendrer, comme l'hypoxie, semblent être des moteurs induisant la sortie

des CSM de leur(s) niche(s) et leur migration le long d'un gradient de chimiokines dont CXCL-12 (SDF-1) [84].

Cette capacité d'adressage vers un tissu lésé existant physiologiquement est mise à profit en thérapeutique pour des lésions tissulaires diffuses ou difficiles d'accès. Dès lors, on peut se demander si l'efficacité de CSM autologues amplifiées in vitro résulte du contournement d'une défaillance de l'étape initiale de sortie de la niche ou d'une insuffisance quantitative des CSM au sein de l'organisme ? Si le modèle hiérarchique de différenciation arborescente a pu être proposé pour les CSM, ce modèle n'est peut-être pas le plus adapté [85]. En effet, il semble, qu'in vitro au moins, les différentes voies de différenciation « mésodermique » soient réversibles, et surtout que les capacités de différenciation ne soient pas forcément corrélées à une capacité trophique . L'équipe de Morad et al . a ainsi montré l'absence de lien entre le potentiel de différenciation d'une culture de CSM et sa capacité à supporter l'hématopoïèse in vitro. De plus , si la capacité à supporter l'hématopoïèse de certaines lignées de CSM reste stable au cours du temps, cette capacité fluctue pour d'autres lignées, augmentant parfois au fil des passages . Enfin, les résultats de cette équipe soulignent la perte modérée de cette capacité de support hématopoïétique après différenciation ostéoblastique, et l'effondrement de cette capacité après différenciation adipocytaire [86].

d) Sites donneurs de cellules souches mésenchymateuses :

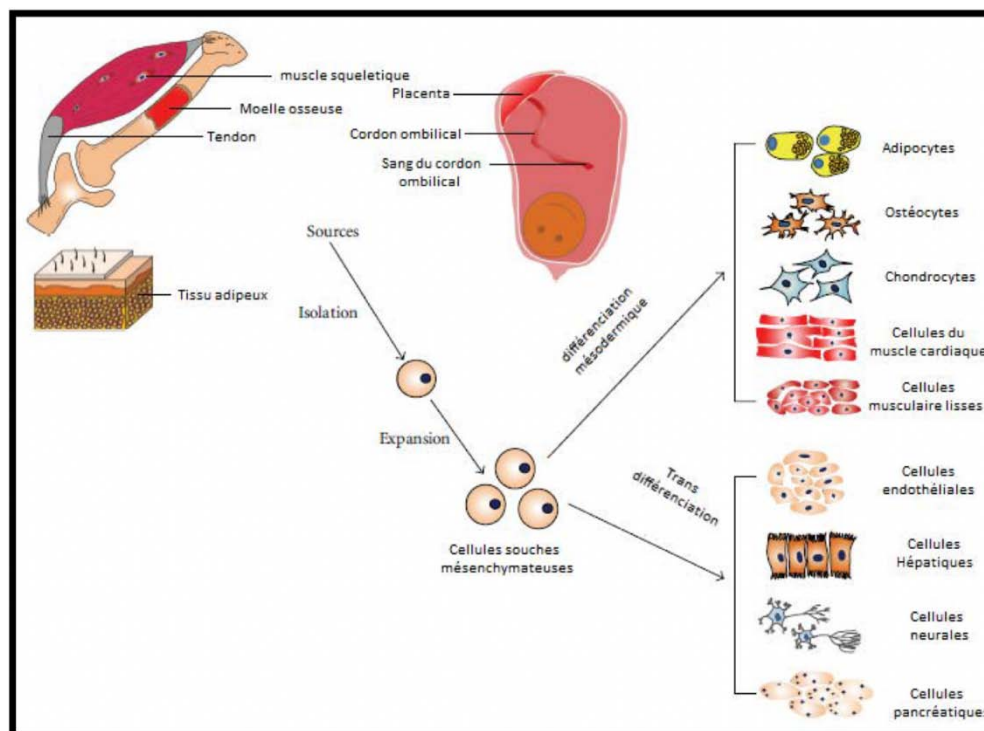


Figure 80 : Différenciation multipotente des cellules souches mésenchymateuses provenant de différentes sources [16].

Les CSM peuvent être obtenues à partir de muscle squelettique, la moelle osseuse, les tendons, les tissus adipeux, le placenta, le cordon ombilical et le sang du cordon ombilical[62].Elles ont le potentiel pour générer des lignées mésodermiques comme les adipocytes, les ostéocytes et les chondrocytes, et peuvent aussi transdifférencier en cellules de certaines couches de lignées germinales comme les cellules du muscle cardiaque, des cellules musculaires lisses, les cellules hépatiques, les cellules neurales, les cellules endothéliales et les cellules pancréatiques.

i. La moelle osseuse :

Le concept actuellement populaire de cellules souches mésenchymateuses (CSM, un terme inventé par Caplan en 1991 [87]) remonte à des expériences classiques démontrant que la transplantation de moelle osseuse (MO) sur des sites anatomiques hétérotopiques entraîne la génération de novo d'os et de moelle ectopiques. Alors que des exemples de telles études

remontent au 19e siècle, les travaux de Tavassoli et Crosby ont clairement établi la preuve d'un potentiel ostéogénique associé à la MO [88]. Comme ces expériences ont été menées avec des fragments entiers de MO sans os, l'identité précise de toute cellule fonctionnant comme progénitrice de cellules osseuses différenciées (et donc de cellules mésenchymateuses non hématopoïétiques) ne pouvait pas être délimitée. C'est Friedenstein et ses collègues qui, dans une série d'études fondamentales menées dans les années 1960 et 1970, [89] qui ont démontré que le potentiel ostéogénique, tel que révélé par la transplantation hétérotopique (sous la capsule rénale de souris) de cellules de la MO, était associé à une sous-population mineure de cellules de la MO. Ces cellules se distinguaient de la majorité des cellules hématopoïétiques par leur adhésion rapide aux flasques de culture tissulaire et par l'aspect fibroblastique de leur progéniture en culture, ce qui indique qu'elles proviennent du compartiment stromal de la MO. [90]

Parallèlement, Friedenstein et ses collègues ont fourni une deuxième percée majeure en démontrant que l'ensemencement in vitro à faible densité de cellules de la moelle permet la formation de colonies adhérentes au plastique ayant une morphologie fibroblastique qu'ils ont dénommés CFU-F (colony forming units fibroblast).

Ces cellules dérivées de colonies CFU-F ont été caractérisées par la capacité de différencier in vitro non seulement en ostéocytes, mais aussi en chondrocytes et en adipocytes.

Après la transplantation de colonies de CFU-F dans le receveur, elles étaient capables de co-formation du micro-environnement de la moelle osseuse [91][88].

Les cellules souches hématopoïétiques ont été les cellules les plus étudiées et les mieux identifiées. Par suite, 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 des cellules souches mésenchymateuses et une matrice extracellulaire, support de l'hématopoïèse [92]. Comme les cellules souches mésenchymateuses ne représentent que 0,001 à 0,01 % de la population totale des cellules nucléées de la MO, il est nécessaire de les purifier avant leur utilisation. Ces CSM

peuvent se multiplier in vitro en adhérant fortement au support plastique de la culture, et possèdent une durée de vie assez limitée in vitro [93]. Ces CSM sont physiologiquement des cellules quiescentes avec un faible taux de renouvellement in vivo [94] et sont présentes en très faible nombre dans la moelle, soit 10 fois moins que les CSH [85].

ii. Le sang placentaire :

En 1974, S. Knudtzon[86] a montré la présence de cellules progé nitrices hématopoïétiques dans le sang du cordon ombilical humain . Dix ans plus tard , M.Ogawa et collègues[56] rapportèrent la présence de cellules progé nitrices hématopoïétiques primitives dans ce même sang de cordon. Depuis, le sang de cordon ombilical a été reconnu comme une riche source de cellules hématopoïétiques primitives , souches et progé nitrices. Sachant que le sang de cordon ombilical contenait des cellules capables de reproduire l'hématopoïèse in vitro et que ces cellules pouvaient être cryoconservées [66][68][69] [70] , cela a ouvert la voie à leur utilisation clinique . Cette richesse du sang de cordon en cellules souches hématopoïétiques permet l'utilisation de ces cellules pour le traitement des maladies hématologiques . En dehors des applications dans le domaine des maladies hématologiques , l'efficacité thérapeutique des cellules souches du sang de cordon n'a pas été démontrée jusqu'à présent par des essais cliniques. La difficulté vient de ce que les autres cellules non hématopoïétiques du sang du cordon sont rares et leur présence n'est pas détectée dans tous les sangs de cordon. Ainsi, plusieurs études la difficulté d'obtenir des CSM d'un sang de cordon[61][62]. Biebek et al., ont montré que dans les conditions optimales le taux de succès maximal d'isolement des CSM de sang du cordon ne dépassait pas les 69% [63]. La matrice extracellulaire du cordon appelée gelée de Wharton a attiré l'attention des chercheurs vu sa richesse en CS potentiellement utiles [64].

iii. Le cordon ombilical et la gelée de Wharton :

Le cordon ombilical contient essentiellement des cellules souches tissulaires appelées cellules souches mésenchymateuses. On les trouve essentiellement dans ce que l'on appelle la

gelée de Wharton, une source riche en cellules souches. Ce cordon, est considéré juridiquement avec le placenta comme un déchet opératoire.

La gelée de Wharton tient son nom de son découvreur, Thomas Wharton. C'est un tissu conjonctif dérivant du mésoblaste extra -embryonnaire, élastique, avasculaire, fortement hydraté.

iv. Le tissu adipeux :

3. Généralités sur le tissu adipeux :

3.1 Description générale :

On distingue deux types de tissu adipeux : le tissu adipeux brun et le tissu adipeux blanc.

Le tissu adipeux brun, source de chaleur, est abondant chez les mammifères hibernants. Il est également présent chez l'homme, essentiellement chez le nouveau-né et en moindre quantité chez l'adulte. Il est constitué d'adipocytes bruns contenant un noyau central et un cytoplasme avec de nombreuses vacuoles lipidiques et mitochondries qui participent au catabolisme oxydatif des acides gras pour produire de la chaleur.[41][43]

Tandis que le tissu adipeux blanc, constitue la principale réserve énergétique de l'organisme. Il représente 10 à 20 % du poids d'un adulte normal , voir 15 à 30 % chez la femme. Sa cellule caractéristique est l'adipocyte blanc, contenant une unique vacuole lipidique.

3.2 Le tissu adipeux blanc :

3.2-1 Localisation dans l'organisme :

Les adipocytes blancs sont principalement regroupés pour former le tissu adipeux blanc, mais on les retrouve également de façon isolée dans la moelle osseuse et dans les tissus conjonctifs lâches.[42]

Le tissu adipeux blanc est localisé principalement dans :

- ✓ L'hypoderme, couche profonde de la peau, constituant ainsi le tissu adipeux sous-cutané (Figure 81a) ;

- ✓ Les régions profondes, au niveau du mésentère, de l'épiploon, des régions rétro-péritonéales, constituant ainsi le tissu adipeux viscéral (Figure 81b) ;

Le tissu adipeux sous-cutané parcourt évidemment tout le corps, mais des dépôts de graisse sont distribués préférentiellement dans certaines régions, notamment au niveau abdominal, glutéal et fémoral (Figure 81b).

Ces dépôts de graisse sous-cutanée sont plus ou moins importants suivant le genre : une femme aura tendance à accumuler du tissu adipeux au niveau des hanches , des cuisses et des fesses tandis qu'un homme prendra essentiellement au niveau de l'abdomen . On distingue d'ailleurs une obésité gynoïde et une obésité androïde selon la localisation de la graisse en excès, chez les deux sexes.

L'âge, l'environnement et l'alimentation sont également des facteurs influençant la répartition du tissu adipeux .

C'est le tissu adipeux blanc sous-cutané qui intéresse la chirurgie esthétique et réparatrice ainsi que la médecine régénérative . C'est en effet ce tissu qui est prélevé dans les opérations de remodelage de la silhouette par lipoaspiration et pour le transfert de graisse, et c'est également ce tissu qui est utilisé en **thérapie cellulaire** en raison de sa facilité d'obtention.[44]

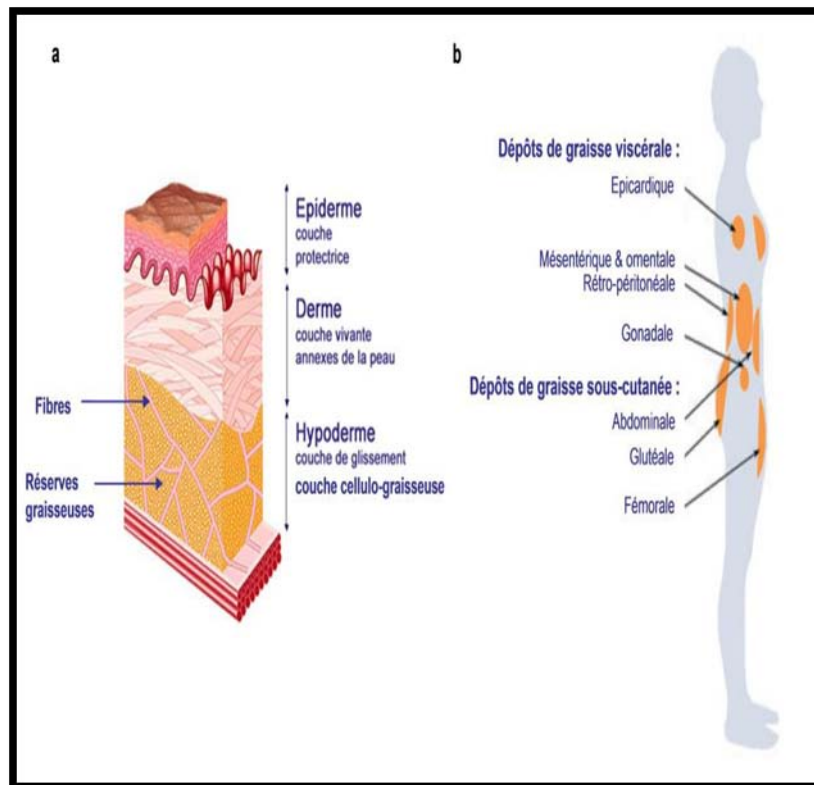


Figure 81 : Distribution du tissu adipeux blanc dans le corps.

(a) Schéma représentatif des trois couches constituant la peau. Le tissu adipeux sous-cutané, riche en réserves de graisse, constitue l'hypoderme.

(b) Principaux dépôts de graisse dans le corps humain

3.2-2 Les constituants du tissu adipeux :

Le tissu adipeux blanc est composé de différents types de cellules :

- les adipocytes matures,
- les cellules de la fraction stromale vasculaire (« Stromal vascular fraction », SVF), comprenant des précurseurs adipocytaires, des cellules souches mésenchymateuses (« Adipose-derived Stem Cells, ADSC), des cellules endothéliales, des leucocytes (lymphocytes, granulocytes et éventuellement des macrophages) (figure 82).

Dans le tissu adipeux blanc, l'adipocyte mature est une cellule très particulière : plus ou moins sphérique, d'une centaine de microns de diamètre , avec un cytoplasme original

constitué dans sa majeure partie par une inclusion lipidique ou gouttelette lipidique . Cette gouttelette lipidique renferme des triglycérides et est entourée par une mince couronne cytoplasmique qui contient les constituants normaux d'une cellule, c'est-à-dire noyau, appareil de Golgi, réticulum endoplasmique et mitochondries. La membrane cytoplasmique repose sur une fine membrane basale (réticuline) (Figure 82a).

Les adipocytes se tassent les uns aux autres pour former des lobules séparés par des cloisons conjonctives. Mais les adipocytes ne sont pas les seuls constituants cellulaires du tissu adipeux. Ces cloisons conjonctives, constituées en partie de fibres de collagène, contiennent en effet des fibroblastes et d'éventuels macrophages (Figure 82c). Cette trame conjonctive s'étend jusqu'au derme et au fascia.[45]

Comme tout tissu , le tissu adipeux est également vascularisé et innervé : il est traversé par des capillaires sanguins et des fibres nerveuses amyéliniques (fibres sympathiques noradrénergiques) qui passent entre les adipocytes.

De plus, des découvertes récentes ont montré l'existence de cellules souches mésenchymateuses au sein du tissu adipeux. Ces cellules sont multipotentes, étant capables de se différencier en adipocytes, mais étant également capables d'engendrer d'autres types cellulaires (cellules de muscles, de tendon, d'os, cellules **bêta des îlots langerhans** ..). Du fait de leur fort potentiel de différenciation , ces cellules font l'objet d'une attention particulière et commencent à être exploitées en CMR (Centre de Médecine Ré générative).

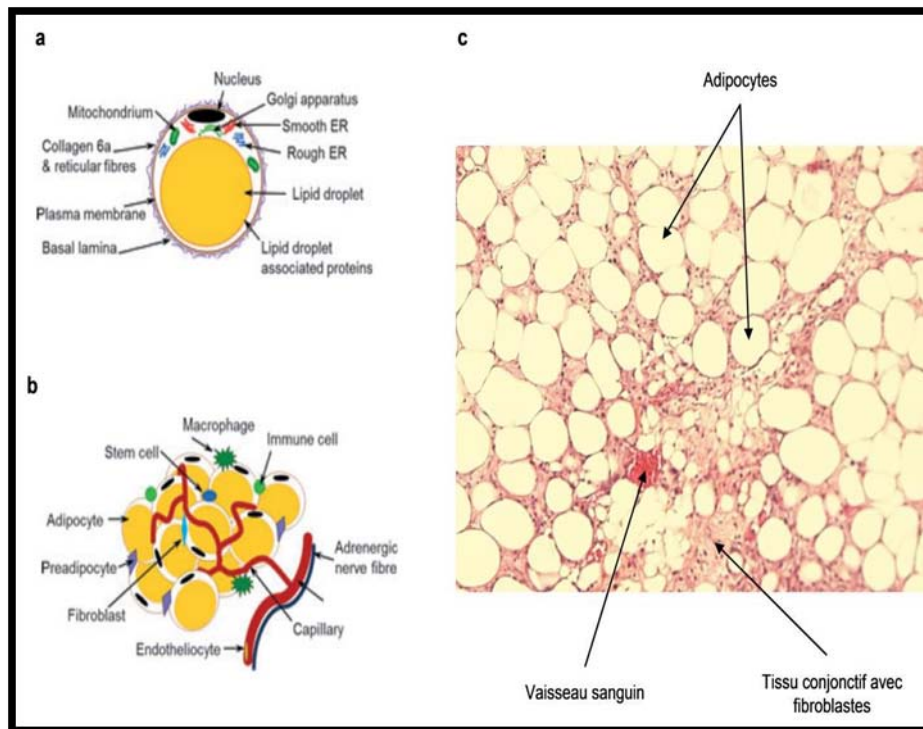


Figure 82 : Composition du tissu adipeux blanc.

(a) Adipocyte mature.

(b) Constituants cellulaires du tissu adipeux.

(c) Coupe histologique de tissu adipeux blanc humain. Les adipocytes matures sont entourées de tissu conjonctif composé de cellules fibroblastiques mononuclées

3.2-3 La différenciation en adipocytes matures :

Les adipocytes étant un haut lieu de réserves énergétiques, le tissu adipeux est doté d'une particularité extraordinaire : celle de pouvoir produire de nouveaux adipocytes matures lorsque le corps en a besoin , et ce , à l'infini. Cette hyperplasie est bien sûr l'un des phénomènes en cause dans le développement de l'obésité.[46][47]

Les adipocytes sont issus des cellules souches mésenchymateuses contenues dans le tissu adipeux.

D'un point de vue morphologique , l'adipogénèse se est en premier lieu caractérisée par le changement de forme des cellules souches. De type fibroblastique, elles s'arrondissent jusqu'à atteindre la morphologie adipocytaire caractéristique du tissu adipeux blanc (Figure 83). Ceci

est accompagné par un remodelage de la matrice extracellulaire ainsi que par des changements dans la cellule, notamment au niveau du cytosquelette.

La différenciation adipocytaire s'effectue en deux étapes :

- **La première étape** : consiste à engager les cellules dans le lignage adipocytaire . Cette phase dite de détermination conduit à la formation d'adipoblastes . Ces cellules perdraient alors leur caractère multipotent et seraient alors vouées à devenir des adipocytes.

Ces étapes sont entrecoupées par des étapes de multiplication cellulaire (expansion clonale), afin de favoriser un pool suffisant de pré adipocytes , et par des arrêts de prolifération (arrêt du cycle cellulaire en phase G₁) nécessaires à la différenciation des cellules. Les pré adipocytes deviennent alors des adipocytes immatures , accumulant des triglycérides.

- **La deuxième étape** : la phase terminale de différenciation donne lieu à des adipocytes matures contenant une unique vacuole lipidique.

Dès l'initiation de l'adipogenèse, les cellules accumulent de petites gouttelettes lipidiques dans la région périnucléaire et font l'objet de modifications au niveau de la morphologie cellulaire et de l'activité transcriptionnelle.

En fin de compte, ces petites gouttelettes lipidiques se gorgent de lipides, s'élargissent et finissent par fusionner pour former une unique vacuole lipidique. Le cytoplasme et le noyau de ces cellules arrondies sont pressés par l'énorme gouttelette lipidique dans une zone étroite juste en dessous de la membrane plasmique.

L'adipogenèse est finement régulée par le contrôle de facteurs pro- et anti-adipogéniques. Le principal effecteur intracellulaire de la différenciation adipocytaire est le récepteur nucléaire PPAR γ « peroxisome proliferation-activated receptor γ ». Lorsque ce récepteur est activé , suite à la fixation d'un ligand au niveau des cellules fibroblastiques , le programme complet de différenciation décrit ci-dessus est stimulé . Ceci entraîne alors les

changements morphologiques de la cellule, l'accumulation de lipides et l'expression des gènes caractéristiques des adipocytes.[44][48]

Les facteurs de transcription de la famille C/EBP (« CCAAT/ enhancer-binding proteins ») jouent également un rôle critique dans cette différenciation, stimulant l'expression de nombreux gènes adipocytaires.

Plus récemment, d'autres facteurs impliqués dans ce processus de différenciation ont été identifiés, comme les facteurs de la famille KLF « Krü ppe l -like factors » ou le facteur de transcription KROX20.

Tout ceci s'effectue en aval d'une cascade de signalisation complexe ayant pour origine des facteurs extracellulaires pro-adipogéniques parmi lesquels, certains membres de la famille des BMP « bone morphogenetic protein ». A l'opposé, des facteurs anti-adipogéniques, tels certains membres de la famille Wnt, sont capables d'inhiber cette cascade de signalisation.

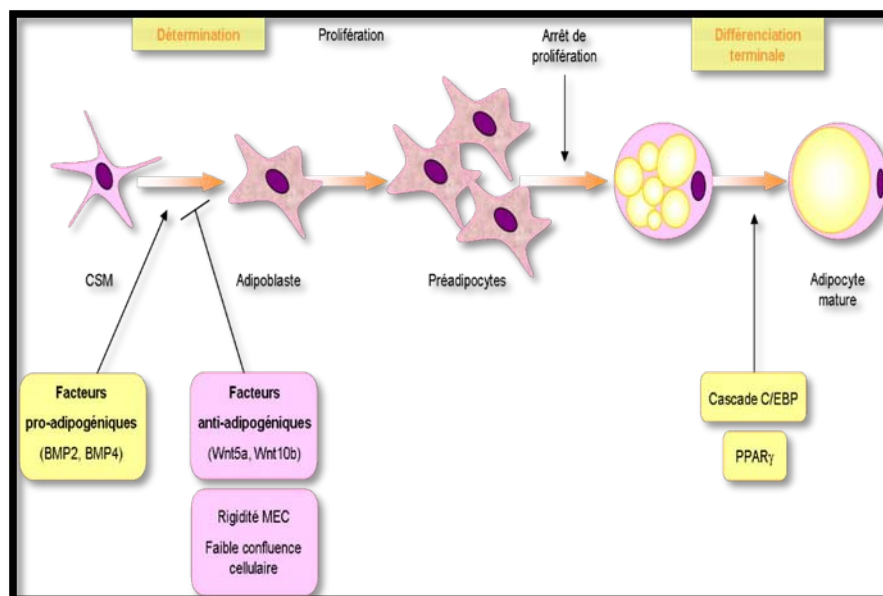


Figure 83 : Différenciation adipocytaire.

La différenciation des adipocytes blancs dépend de facteurs pro et anti-adipogéniques : Elle débute par une étape de détermination au cours de laquelle la cellule est engagée dans le lignage adipocytaire . Certaines BMPs (BMP2 et BMP4) ont été identifiées comme des

facteurs pro – adipogéniques. A l'inverse , des facteurs anti –adipogéniques vont inhiber la différenciation, parmi lesquels des membres de la famille Wnt . Les pré –adipocytes vont accumuler des triglycérides sous forme de petites gouttelettes lipidiques qui vont grossir puis fusionner pour former une unique vacuole lipidique. La cellule s'arrondit alors pour former un adipocyte mature.

3.3 Rôle, fonction :

Le tissu adipeux est d'abord connu pour :

- Sa fonction de réserve énergétique,
- Son rôle de soutien et de protection mécanique « coussinets palmaires et plantaires »,
- Son rôle d'isolant permettant de diminuer la déperdition thermique , le tissu adipeux sous-cutané participant à la protection contre le froid

3.3-1 Fonctions métaboliques et stockage :

Le tissu adipeux est en premier lieu un organe de stockage des lipides. Il constitue la principale réserve d'énergie du corps,

Les acides gras étant le principal combustible d'un homme adulte, ils sont stockés dans le tissu adipeux puis libérés dans la circulation sanguine lorsque les autres cellules du corps en ont besoin.[42]

D'un point de vue plus métabolique, l'adipocyte est capable de capter le glucose et les acides gras circulant dans les lipoprotéines plasmatiques pour synthétiser des triglycérides qu'il stocke dans sa gouttelette lipidique. Puis lorsque l'organisme a besoin d'énergie, l'adipocyte procède à la lipolyse, c'est-à-dire à l'hydrolyse des triglycérides, libérant ainsi des acides gras et du glycérol, alors disponibles pour les tissus et organes périphériques.

Mais le tissu adipeux a des fonctions plus variées...

3.3-2 Tissu adipeux : organe sécrétoire et endocrine :

Outre les fonctions métaboliques , d'autres fonctions insoupçonnées ont été mises en évidence depuis une vingtaine d'années. En effet, le tissu adipeux est maintenant considéré

comme un véritable organe endocrine où l'adipocyte est au cœur de ce système , participant à la régulation de l'homéostasie énergétique de l'organisme.

Ce nouveau paradigme est né avec la découverte de la leptine , produit du gène obese (ob). Cette hormone à activité pléiotropique est sécrétée par les adipocytes matures et joue un rôle endocrine crucial sur l'hypothalamus, permettant de réguler la prise alimentaire en contrôlant la sensation de satiété, et permettant de réguler la balance énergétique. Le tissu adipeux est donc en relation étroite avec le système nerveux central.

Les adipocytes sont également étroitement liés les uns aux autres, produisant des facteurs paracrines et autocrines agissant cette fois sur la prolifération des précurseurs adipocytaires et leur différenciation en adipocytes matures, ainsi que sur la vascularisation locale du tissu.[46][47]

L'adipocyte est ainsi capable de sécréter un large éventail de molécules de nature protéique ou lipidique, qui agissent de façon endocrine, paracrine ou autocrine.

Un certain nombre de cytokines ou adipokines sécrétées interviennent dans l'inflammation et la réponse inflammatoire. C'est le cas par exemple de l'adiponectine, du $TNF\alpha$ « Tumor Necrosis Factor-alpha », des interleukines IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-10, de MCP-1 « Monocyte Chemoattractant Protein-1 », du VEGF « Vascular Endothelial Growth Factor », de PAI-1 « Plasminogen Activator Inhibitor-1 ».

3.4 Les cellules souches mésenchymateuses du tissu adipeux :

Le tissu adipeux, et en particulier le tissu adipeux sous-cutané, est probablement la source la plus abondante et la plus facilement accessible de cellules souches adultes , et est donc une source très prometteuse pour une utilisation dans la réparation et la régénération tissulaire.

La découverte de cellules souches mésenchymateuses au sein du tissu adipeux est récente . Même si des cellules du stroma vasculaire et des précurseurs adipocytaires ont été isolés bien avant.

Les chercheurs isolèrent les cellules souches à partir de tissu adipeux humain obtenu par lipoaspiration et plus exactement , à partir d'une fraction spécifique appelée fraction stromale vasculaire SVF, « stroma vascular fraction ». Ils démontrèrent que ces cellules pouvaient se différencier et donner de multiples lignées, capables de donner différents types de tissus (os, cartilage, muscle...).[49]

3.4-1 Méthodes d'obtention :

Pour une approche thérapeutique , l'idéal est d'isoler les cellules avec un minimum de préjudice pour le patient , et de façon à obtenir un grand nombre de cellules , capables de proliférer et de se différencier dans une large gamme de lignées cellulaires.

Le tissu adipeux peut être obtenu par lipoaspiration ou dermolipéctomie (exérèse chirurgicale).[42]

La lipoaspiration est une procédure peu invasive, bien tolérée et sûre, qui permet d'obtenir de grandes quantités de tissu, et pouvant se pratiquer sous anesthésie locale.

Des tests sur le mode de prélèvement ont montré que l'exérèse et la lipoaspiration tumescence donnent de bons rendements cellulaires, mais la lipoaspiration assistée au laser semble néanmoins à éviter.

Ce type de lipoaspiration consiste à introduire sous la peau une fibre souple émettrice de deux faisceaux lasers qui vont provoquer la lipolyse (destruction des cellules graisseuses) et une contraction tissulaire (resserrement progressif de la peau), les cellules obtenues par lipoaspiration ont été caractérisées et cette méthode de prélèvement a été validée.

Les sites de prélèvement peuvent être multiples, comme pour le transfert de graisse autologue. L'abdomen semble préférable pour obtenir un meilleur rendement , mais peu de différence a pu être notée sur la qualité des cellules selon le site de prélèvement.

Une fois le tissu adipeux prélevé, la purification des cellules nécessite de passer par une étape de digestion enzymatique du tissu afin de libérer les cellules de la riche matrice fibreuse du tissu adipeux.

Cette digestion se fait grâce à un cocktail de protéases contenant au moins une collagénase qui va permettre de digérer les fibres de collagènes sur lesquelles les cellules sont accrochées pour finalement mettre les cellules en suspension.

Puis une étape de centrifugation permet de séparer les cellules souches mésenchymateuses (CSM) des adipocytes matures. Le culot cellulaire obtenu après centrifugation comprend la CSM.

Mais comme pour le transfert de graisse autologue en chirurgie esthétique, les méthodes d'obtention des cellules souches adipeuses (ASCs, « Adipose Stem Cells ») divergent d'un auteur à l'autre. Il n'y a pas vraiment de protocole standard. Certains vont par exemple laver le tissu une ou plusieurs fois, avant et/ou après la digestion, et il existe différents protocoles de centrifugation, plus ou moins forte.

Une étape de filtration peut également être ajoutée pour éliminer les fibres. De plus, les globules rouges pouvant perturber les expériences et analyses ultérieures, il est possible de les éliminer en utilisant une solution hypotonique de lyse (qui va les faire éclater) ou en séparant les cellules par centrifugation sur un gradient de Ficoll® (gradient de densité).

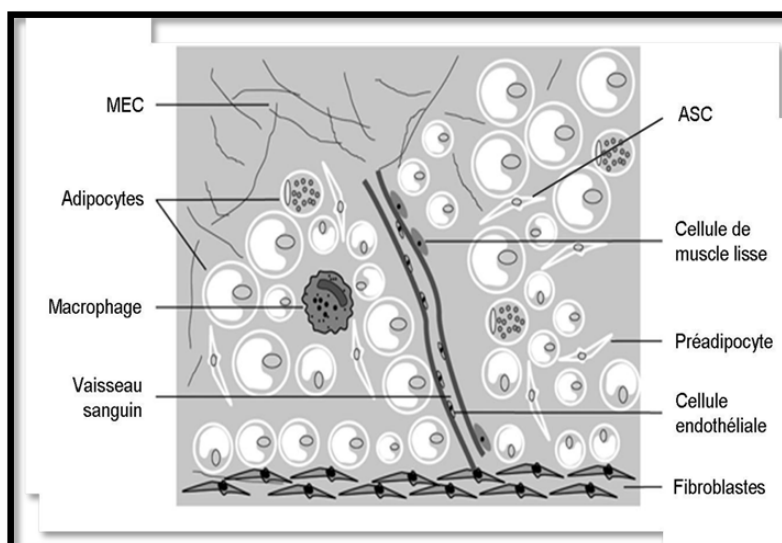


Figure 84 : Composants cellulaires du tissu adipeux La fraction stromale vasculaire ou SVF, comprend toutes les cellules du tissu adipeux sauf les adipocytes Schéma modifié à partir de (Schaffler, Scholmerich et al. 2005).

Ainsi, selon la stratégie adoptée, la CSM peut être mise en culture afin de sélectionner la population de cellules adhérentes, les cellules ainsi dérivées du tissu adipeux sont appelées ADSCs « adipose-derived stem cells ».

Un autre moyen de sélectionner les cellules consiste à les marquer au moyen d'anticorps ciblés contre les marqueurs de surface cellulaire souhaités et de les trier ainsi en cryométrie de flux ou à l'aide de billes magnétiques sur lesquelles les anticorps sont fixés.

Cependant, le choix de la procédure d'isolement des ASCs dépend du type de cellule différenciée que l'on souhaite finalement obtenir.

Les cellules sélectionnées en culture après prolifération n'auront pas forcément le même phénotype qu'à l'origine, selon la durée de culture, le nombre de passages, et ne pourront peut-être pas se différencier dans tous les types cellulaires souhaités.

Une grande quantité de cellules obtenues juste après digestion et centrifugation du tissu adipeux (on peut facilement obtenir plusieurs millions de cellules selon la quantité de tissu à partir de 25 ml seulement de tissu adipeux).

3.4-2 Caractéristiques et propriétés :

Les cellules souches du tissu adipeux sont devenues très populaires, de plus en plus utilisées en recherche et en clinique (avec de plus en plus d'essais cliniques). Avec leur potentiel de différenciation dans le lignage mésodermique ainsi que leur potentiel possible dans les lignages ectodermique et endodermique.[44]

Les ASCs pourraient éventuellement représenter une alternative aux cellules souches embryonnaires pluripotentes, à la fois pour la recherche au laboratoire et pour l'utilisation en clinique. De nouvelles applications passionnantes sont sur le point d'émerger.

Les ASCs possèdent en effet des capacités de différenciation multiples, pouvant donner des adipocytes, des ostéoblastes, des chondrocytes, des myocytes. Mais plus surprenant encore, ces cellules d'origine mésodermique seraient capables d'engendrer des cellules nerveuses, qui viennent pourtant d'une autre origine embryonnaire (feuillet ectodermique).

Les ASCs participent également à l'angiogenèse, permettant le soutien ou la réparation vasculaire dans les membres ischémiques et pourraient aussi donner des cardiomyocytes.

Ces cellules peuvent servir à d'autres titres, tels que dans le soutien de l'hématopoïèse et dans le transfert de gènes (cellules utilisées comme véhicules).

Le potentiel des ASCs à se différencier dans des lignées de cellules non mésodermiques est d'autant plus intéressant. Le potentiel de différenciation en cellules ecto- ou endodermiques font des ASCs des cellules presque pluripotentes.

Les ASCs ont ainsi un fort potentiel pour la réparation et la régénération des tissus endommagés, notamment se différencier en cellules bêta de langerhans et réparer par conséquent la fonction endocrine du pancréas.

Cependant, les études de ce type peuvent soulever certaines critiques car même si les ASCs peuvent exprimer certains marqueurs phénotypiques de cellules neurales par exemple, recréer in vitro un neurone fonctionnel est une autre paire de manche. Les bénéfices observés lors de réinjections in vivo sont certainement dus à l'apport de facteurs de croissance et la différenciation des ASCs en cellules gliales (type astrocytes), assurant le maintien de l'homéostasie et jouant un rôle de soutien et de protection au système nerveux.[49]

Les ASCs présentent finalement des propriétés assez similaires aux cellules souches mésenchymateuses de la moelle osseuse (BMSCs, « bone marrow mesenchymal stem cells »), mais présentent tout de même des caractéristiques qui leur sont propres.

Tableau I – Caractéristiques des essais cliniques utilisant des CSM.	
	Nombre d'essais cliniques
Sources des cellules	
Autologue	54
Allogénique	53
Types de CSM utilisées	
À partir de la moelle osseuse	96
À partir de tissu adipeux	6
À partir de tissu placentaire	5
Applications cliniques	
Réparation cartilage et os	21
Hématologie	-
Amélioration de la prise de greffe	4
Maladie du greffon contre l'hôte	15
Maladies auto-immunes	18
Maladies cardio-vasculaires	18
Neurologie	10
Néphrologie	4
Cancérologie	4
Maladies métaboliques	4
Pneumologie	2
Hépatologie	2
Autres	5
Total	107
Clinicaltrials, consultation au 29/07/2010.	

4. La différence entre les CSMs de la moelle osseuse et ASC du tissu adipeux :

Des cellules similaires aux CSMs de la moelle osseuse ont été décrites dans la majorité des tissus et particulièrement dans les tissus adipeux, elles sont alors appelées ASC (pour « adipose derived stroma/stem cells »).

Étant donné leur multipotence ainsi que leur activité paracrine, les différents types de CSM ont été testés dans un très grand nombre de modèles murins de dégénération tissulaire. Cependant, comme la fréquence de ces cellules dans les tissus adipeux est très élevée et ce tissu facile à prélever, de plus en plus d'études utilisent cette source tissulaire.

En fait, bien que très similaires, les CSM de la moelle osseuse et les ASC présentent des différences d'efficacité en fonction des domaines. Ainsi si les CSM de moelle se différencient mieux en ostéoblastes et chondrocytes pour un protocole donné, les ASC présentent des activités adipogéniques, angiogéniques et immunomodulatrices plus efficaces.

In vivo, deux problèmes importants restent à résoudre pour expliquer leur fonctionnement et efficacité après leur transplantation. Premièrement, il apparaît de plus en plus que les effets thérapeutiques sont faiblement corrélés au nombre de cellules différenciées issues des CSM transplantées. Deuxièmement, il est extrêmement difficile de démontrer à long terme la présence des CSM transplantées alors que les effets persistent.[50][51]

Au niveau clinique, les CSMs furent utilisées pour la première fois pour traiter avec succès une pathologie de l'os : l'ostéogenèse imparfaite. Une recherche bibliographique montre clairement que le nombre d'essais cliniques ne cesse depuis d'augmenter. Bien que pour certaines applications, ces essais soient en phase 4, l'efficacité avérée chez l'homme est le plus souvent en cours d'évaluation. Leurs résultats dans les années à venir décideront de

l'importance et de l'étendue que l'on pourra donner à ce nouveau champ thérapeutique .

Quoiqu'il en soit, il apparait d'ores et déjà :

- 1) que ces cellules jouent un rôle fondamental dans l'homéostasie tissulaire qui reste à mieux comprendre pour bien le maîtriser,
- 2) qu'il existe déjà des applications où leur usage apporte un véritable bénéfice thérapeutique.

5. Les applications thérapeutiques des cellules souches mésenchymateuses :

Les applications cliniques potentielles des CSM sont nombreuses . Nous avons choisi d'aborder un nombre limité de sujets d'application , en nous référant à celles faisant l'objet d'essais cliniques.

Les cadres physiopathologiques des pathologies ou lésions faisant l'objet d'un essai sont variés, comprenant les séquelles d'ischémie , la prévention ou le traitement de pathologies dysimmunitaires, dont le support de greffes de cellules hématopoïétiques ou de tissus solides , des pathologies dégénératives et dysfonctions d'organes aiguës ou chroniques, ainsi que quelques maladies monogéniques. La grande majorité des essais repose sur l'injection de CSM amplifiées, et un seul repose sur la modification de leur phénotype sécrétoire avant injection.

a) Os et cartilage :

L'os est un organe dynamique en perpétuel remodelage mais aux capacités de régénération limitées justifiant le recours à la chirurgie en cas de perte de substance , de malformations ou de pseudarthrose. La réparation reste cependant dictée par les ostéoprogéniteurs au site de la lésion, et à la merci des pathologies compromettant ce capital comme les traumatismes sévères, le diabète, l'ostéoporose ou les irradiations. Dans le cadre de la reconstruction de larges segments osseux, le traitement de choix est l'autogreffe osseuse mais souvent le matériel est insuffisant et peu vascularisé ; dans le cadre de l'allogreffe le

problème principal demeure la disponibilité des greffons , la compatibilité et le risque infectieux, expliquant l'intérêt que représentent des biomatériaux ensemencés par des CSM amplifiées in vitro.

Chez des malades ayant bénéficié d'ostéotomie tibiale pour maladie de Blount , les CSM ont ainsi eu un effet bénéfique majeur [75], et elles sont actuellement en cours d'essai , éventuellement associées à une matrice de type osseux dans le cadre de fractures à risque de non consolidation , de pseudarthroses avérées , d'ostéonécroses aseptiques ou encore pour recréer de l'os mandibulaire après périodontite chronique.

En plus de ces utilisations visant à pallier le déficit quantitativement en ostéoprogéniteurs locaux, les CSM allogéniques peuvent également être utilisées pour pallier des défauts d'ossification liés à des anomalies génétiques , constituant d'ailleurs l'un des premiers succès retentissants des CSM en clinique, bien qu'elles n'aient pas permis de normaliser les paramètres mesurés au long cours . Les CSM ont été testées avec un succès partiel dans la maladie des os de verre, ou ostéogenèse imparfaite, causée par un déficit en collagène de type I. Chez trois enfants traités avec des CSM allogéniques , une augmentation de la masse osseuse totale minéralisée a été notée et pour deux malades un retour à la normale de ce paramètre a pu être observé sur la durée du suivi [80]. Dans une autre étude portant sur six malades des résultats aussi encourageants ont été rapportés , avec à chaque fois une diminution du nombre de fractures.

Pour les cartilages, en raison de leur absence de vascularisation , de la faible densité en cellules et de l'activité métabolique réduite des chondrocytes matures, leur lésions sont souvent irréversibles [71]. Dans l'hypothèse d'un déficit simple de migration des CSM vers la lésion, leur injection in situ après différenciation a été testée , conduisant à la perte de fonctionnalité de ces chondrocytes [72].

Cliniquement, les études reposant sur l'insertion intra-auriculaire de chondrocytes, ou de CSM amplifiées sur des gels de collagène dans des genoux de malades arthrosiques , n'ont pas montré de bénéfice statistiquement significatif. Devant l'amélioration des connaissances sur les

processus de différenciation et du rôle des molécules de matrices, la réparation cartilagineuse fait néanmoins l'objet de plusieurs essais reposant sur des CSM amplifiées, injectées directement, cultivées en suspension afin d'induire un début de différenciation chondrocytaire ou encore en association avec des molécules de matrice comme l'acide hyaluronique.

b) Hémopathies :

i. Amélioration de la prise de greffe hématopoïétique :

Le rôle physiologique des CSM au sein de la niche hématopoïétique ainsi que leur capacité à moduler le fonctionnement des cellules immunitaires sont à la base de différents essais en hématologie, que ce soit afin de favoriser la prise de greffe hématopoïétique ou de limiter les conflits immunitaires suivant une allogreffe.

Le rejet aigu de greffe est une complication dévastatrice de l'allogreffe de CSH. Son incidence dépend de l'intensité du conditionnement. Elle est $< 5 \%$ dans le cas de myéloablation complète mais bien plus importante avec les mini conditionnements de plus en plus fréquents actuellement.

Des modèles précliniques ont permis de mettre en évidence l'intérêt de la co-injection de CSM au moment de la greffe pour favoriser sa prise [1]. Lazarus et al. [2] ont été les premiers à réaliser un essai de faisabilité puis un essai de phase I/II dans lesquels ils réalisaient une injection de CSM autologue en plus de la greffe de CSH qui a permis de montrer l'innocuité de la technique [3]. Ces résultats les ont amenés naturellement à réaliser un essai multicentrique dans lequel les CSM issues de donneurs HLA compatibles étaient injectées 4 h après le greffon de CSH, cet essai n'a mis en évidence aucune amélioration de la prise de greffe avec un nombre de GVH identique dans les deux groupes [4]. Des résultats plus encourageants avaient été retrouvés par Kim et al. avec la co-transplantation de CSM et de CSH issues de sang de cordon dans le domaine pédiatrique.

Dernièrement, Gonzalo-Daganzo et al. ont réalisé une étude pilote de co-transplantation d'unité de sang de cordon et de CSM de donneurs sains (n = 9) et n'ont observé ni effet indésirable, ni amélioration de la prise de greffe mais moins de GvH [73].

ii. Maladie du greffon contre l'hôte (GvH) :

La maladie du greffon contre l'hôte (GVHD) est un processus médié par les lymphocytes T, apparaissant dans les 100 jours suivant la greffe. Lorsque cet état est réfractaire aux stéroïdes, le pronostic est extrêmement sombre.

Le Blanc et al. ont été les premiers à rapporter l'intérêt de l'utilisation des CSM dans la GVHD chez un enfant de 9 ans transplanté avec un donneur non apparenté pour une leucémie réfractaire aux traitements [73]. Les CSM de la mère ont été transfusées à l'enfant et la première injection a permis la guérison. Une deuxième injection issue du même prélèvement a permis le même résultat au moment d'une rechute. Cette observation initiale a été suivie par le traitement par la même équipe de 8 patients avec une GVHD de grade III/IV résistante au traitement ; les CSM étaient alors issues soit de donneurs haplo-identiques soit de donneurs non apparentés (n = 4), 6 ont survécus avec un recul de 2 mois à 3 ans.

Encore plus récemment, le même groupe a réalisé une étude multicentrique de phase II pour la prise en charge des GVHD incluant 55 patients dont 30 remissions complètes. D'autres équipes ont participé à la valorisation de l'utilisation des CSM dans cette indication. Von Bonin et al. avec 13 patients atteints de GVHD cortico-résistante avec un taux de rémission moindre à 8 mois (31 %) qui pourrait être due aux conditions d'expansion des CSM (lysate plaquettaire, nombre de cellules, intervalle avant traitement).

c) Maladies auto-immunes :

La place des CSM dans la prise en charge thérapeutique des maladies auto-immunes repose sur leur rôle dans la régulation de l'autorenouveau et de la différenciation de la descendance des cellules souches hématopoïétiques.

L'éventail des cellules immunitaires avec lesquelles les CSM communiquent permet d'envisager leur utilisation dans le cadre de maladies auto-immunes générales ou localisées et dont le mécanisme de base peut être aussi bien humoral que cellulaire. Leur utilisation peut aussi être envisagée dans la prise en charge des séquelles de maladies auto-immunes, comme traitement adjuvant favorisant la prise de greffe d'îlots par exemple. Les données actuelles expérimentales sur leur utilisation préclinique restent peu nombreuses et non consensuelles, ce qui contraste avec les utilisations déjà annoncées en essais cliniques.

Ainsi, dans l'arthrite expérimentale, le modèle animal de **polyarthrite rhumatoïde**, l'injection de CSM issues de lignée (culture longue permettant à une partie des cellules de s'immortaliser, au prix d'un changement de phénotype) aggrave la pathologie pour Djouad et al. [74]. Alors que l'injection de CSM allogéniques en culture primaire prévient la survenue des lésions osseuses et cartilagineuses [75].

Dans le modèle murin du **lupus**, les animaux traités par greffe de cellules souches hématopoïétiques (CSH) et de CSM concomitamment ont une survie à long terme améliorée [79], avec une inhibition des cellules T et B auto-réactives dont on sait l'importance dans la pathologie. Cependant si les CSM peuvent améliorer l'histologie rénale, elles semblent incapable de prévenir l'apparition d'auto-anticorps ni de modifier la protéinurie. Les CSM sont néanmoins à la base d'un essai clinique visant à atténuer la gravité de lupus généralisés, et un autre visant spécifiquement les glomérulonéphrites lupiques.

Dans la prise en charge du **diabète** de la souris NOD ou du modèle induit par la streptozocine, l'injection de CSM augmente le nombre d'îlots pancréatiques et de cellules productrices d'insuline, et le transfert de CSM de souris non diabétiques à des souris pré-diabétiques ralentit l'apparition du diabète [77].

Les CSM portent également de nombreux espoirs en ce qui concerne **la sclérose en plaque (SEP)**. Cette maladie multifactorielle implique une part d'auto-immunité, dont

l'orientation Th1/Th17 et l'activation de cellules présentatrices d'antigènes semblent des bases physiopathologiques établies. Dans le modèle animal, l'encéphalomyélite auto-immune, les études ont mis en évidence une amélioration significative clinique et histologique de la maladie après injection de CSM [77] ainsi que l'importance de la mise en place précoce de ce traitement comme facteur déterminant de son efficacité. De petites séries d'une dizaine de patients ont permis de montrer la faisabilité de l'injection intrathécale de CSM autologues sans plus de conclusions sur leur efficacité. Des essais cliniques se basant sur ces résultats précliniques encourageants sont actuellement en cours.

La maladie de Crohn fait également partie des cibles visées par des essais cliniques, s'intéressant à la prise en charge de la maladie générale par injection systémique de CSM, ou au traitement des fistules digestives par application locale, souvent au sein d'une matrice de fibrine [79].

d) Maladies cardio-vasculaires :

Les maladies cardio-vasculaires sont une cause importante de mortalité dans les pays industrialisés. La maladie coronarienne est la première cause d'insuffisance cardiaque aiguë et malgré les avancées thérapeutiques, 40% des patients souffrant d'accident coronarien aigu décèdent dans la première année [165].

Le recours à la thérapie cellulaire a été principalement étudié dans différentes pathologies : les syndromes coronariens, l'insuffisance cardiaque et l'ischémie des membres.

Les études précliniques ont mis en évidence un bénéfice à l'utilisation de CSM après ischémie myocardique. Toutefois, contrairement au rationnel initial, leur action semble reposer presque uniquement sur leurs fonctions trophiques, modulant l'apoptose des myocytes, la vascularisation, orientant leur métabolisme vers un retour à l'oxydation d'acides gras, améliorant la contractilité et la qualité du remodelage à long terme [63].

Pour mettre à profit les capacités des CSM, plusieurs approches ont été envisagées : augmenter le recrutement des CSM autologues vers le myocarde infarcté ou injecter des CSM plus ou moins différenciées in situ ou par voie générale. Le premier mode d'administration a été la voie intra-myocardique au décours de la chirurgie by-pass [41]. Depuis, plusieurs voies d'abord ont été testées : intra-cardiaque, intra-coronarienne, trans-endocardique ou intra-veineuse.

Dans une méta-analyse sur CSM et phase précoce de l'infarctus, Martin-Rendon et al. évaluent l'augmentation de la fraction éjection ventriculaire gauche entre 2,8 et 4,1 % avec un effet dose croissant des CSM [42]. L'augmentation pharmacologique du recrutement des CSM au cours de cette phase aiguë est également prometteuse mais dans cette stratégie aussi les résultats sur la fraction d'éjection sont limités [43].

L'ensemble de ces études a permis de démontrer la faisabilité technique ainsi que la bonne tolérance des protocoles contrastant malheureusement avec une efficacité modeste. La pérennité des effets est également source de questionnement puisque dans l'étude de Wollert et al. l'amélioration de la FEVG à 6 mois avait disparu à 18 mois.

Malgré ces premiers résultats décevants, plusieurs essais sont en cours, et font de la phase tardive de l'infarctus et de l'insuffisance cardiaque les seuls domaines cliniques où des essais comparatifs s'intéressent à la question de la dose de CSM, de l'origine allogénique ou autologue ou encore à la différence d'efficacité entre moelle osseuse non purifiée et CSM amplifiées en culture.

e) **Système nerveux central**

Le rationnel des approches de thérapie cellulaire à base de CSM dans les maladies neuro-dégénératives repose : (1) sur le remplacement des cellules déficientes, (2) l'implantation des CSM dans le microenvironnement pathologique à visée neuroprotectrice soit par production spontanée soit par modification génétique des CSM, ou (3) pour améliorer ou induire la différenciation neurologique et imiter le processus physiologique de régénération en améliorant la niche neurologique [75].

Dans la **maladie de Parkinson**, le remplacement des neurones dopaminergiques est possible avec des cellules issues du mé sencephale ventral de fœtus humains mais pose de nombreux problèmes (éthiques, logistiques, religieux). Un essai a été récemment publié , utilisant des CSM implantées par neurochirurgie chez 7 patients avec un effet positif sur leur qualité de vie [77].

Dans la **choré e de Huntington**, maladie neuro-dé générative autosomale dominante, si la transplantation de progé niteurs neuraux d'origine fœtale a montré un intérêt clinique , l'utilisation chez le rat de CSM ne semble pas très prometteuse [78] et aucun essai clinique n'est en cours.

Dans la **sclérose latérale amyotrophique** caractérisée par la perte des motoneurones, le but des thérapies cellulaires est de ralentir la progression rapide de la maladie en remplaçant les neurones défailants. Les essais précliniques chez la souris sont encourageants, améliorant notamment la survie [89] et amenant plusieurs essais cliniques. Ces premiers essais, totalisant une soixantaine de patients, n'ont mis en évidence ni amélioration clinique ni augmentation de la survie [90].

Dans la **maladie d'Alzheimer**, caractérisée par une dé génération et une perte des neurones et des synapses , des CSM ont été injectées chez le rat avec une amélioration des fonctions cognitives [91].

Dans les **ischémies cérébrales**, cause majeure de mortalité , les modèles animaux sont très encourageants [92]. Des essais avec des CSM autologues ont été conduits , l'un d'entre eux, randomisé en double aveugle, a pu mettre en évidence un bénéfice en terme de mortalité et une amélioration modeste de la récupération fonctionnelle avec un suivi sur 5 ans [93].

Enfin dans la prise en charge des **traumatismes médullaires**, les CSM humaines ont montré une capacité à améliorer le d evenir clinique et fonctionnel dans un modèle de compression médullaire murin , possiblement par l'intrication d'une neuroprotection , de l'induction de né o-vascularisation et de sprouting axonal et par le remplacement des cellules endommagées [94]. Un essai a été réalisé chez des malades atteints de contusions médullaires

plus ou moins anciennes (n = 12) mais le type de l'étude ne permet de conclure qu'à la faisabilité de la technique, avec des résultats encourageants [95].

f) Maladies rénales :

Les traitements actuels des maladies rénales chroniques et du rejet chronique de greffe ont pour objectif de ralentir une évolution inéluctable.

Il existe au niveau rénal des CSM dans des niches pé rivasculaires [135], de plus de nombreuses études rapportent que les lésions rénales y promeuvent le recrutement de CSM ce qui conforte l'idée que, physiologiquement, les CSM participent au processus de régénération de l'organe.

Récemment il est devenu clair que non seulement une diminution de la fibrose rénale mais aussi une restauration du tissu rénal était possible. Des réparations capillaires impliquant des CSM ont été décrites dans des modèles d'insuffisance rénale aiguë et de glomérulopathie mais aussi de maladies rénales chroniques et ont confirmé la capacité des CSM injectées à se localiser dans le rein [92].

Contrairement à l'insuffisance rénale chronique, la défaillance aiguë est particulièrement bien documentée. Des études menées chez la souris ont montré qu'après induction d'une néphropathie ischémique ou toxique, par le cisplatine, l'injection de CSM pouvait accélérer la récupération de la fonction rénale [135].

Le premier essai de phase I est en cours de recrutement évaluant les CSM dans l'insuffisance rénale aiguë. Elles auraient la capacité de s'incorporer dans l'épithélium rénal en réparation mais ce ne serait pas le mécanisme principal, puisque c'est par leur action paracrine et endocrine que leur effet serait médié [94].

Dans le domaine de la transplantation rénale, le potentiel immunomodulateur des CSM pourrait être mis à profit pour protéger le greffon du rejet. Ainsi, chez le rat, la co-

transplantation rein-CSM augmente la survie de l'animal sans toutefois atteindre le niveau de protection de la cyclosporine, et sans synergie évidente avec celle-ci [56]. Les essais en cours portent sur la prévention et le traitement de rejets aigus et chroniques.

g) Système digestif :

En dehors de l'atteinte digestive de la maladie de Crohn, le potentiel des CSM est également en cours d'évaluation en thérapeutique hépatique.

Si leur possible capacité de différenciation en hépatocytes participe à leur effet, il semble que dans ce modèle également le rôle trophique des CSM sur les progéniteurs hépatocytaires, ainsi que l'immunomodulation dans un modèle de **cirrhose biliaire primitive** soient les modes d'actions fondamentaux des CSM [97]. En hépatogastro-entérologie les essais cliniques en cours visent principalement le traitement de la cirrhose hépatique, et l'un d'entre eux vise à l'utilisation de CSM allogéniques prédifférenciées en hépatocytes pour des patients atteints d'hypercholestérolémie familiale.

h) Réparation cutanée :

Les CSM ont prouvé leur potentiel à favoriser la vitesse de fermeture ainsi que la qualité de la cicatrice dans différents modèles murins de lésions aiguës et chroniques [62].

Les mécanismes impliqués ne sont pas entièrement élucidés mais comprennent la différenciation, le contrôle du métabolisme des acteurs de la réparation (phagocytes, cellules endothéliales, kératinocytes, fibroblastes) par le biais de facteurs paracrines ainsi que la participation au renouvellement de la matrice extracellulaire. Si les données permettant de comprendre l'influence du tissu d'origine des CSM, leur dose et mode d'administration manquent encore, leur utilisation dans la prise en charge des plaies chroniques est particulièrement prometteuse.

Une étude clinique récente a montré la guérison de 18 malades sur les vingt traités par CSM incluses dans un derme artificiel pour des lésions cutanées non évolutives [70]. Dans le cadre de la prise en charge difficile des ulcères diabétiques , le dépôt d'une matrice de type dermique en association à des CSM injectées a permis d'améliorer la vascularisation dermique et la cicatrisation [71].

En résumé, depuis les premiers essais chez un nombre très limité de patients , tous les travaux réalisés sur les modèles animaux ou au cours d'essais cliniques chez les malades montrent la faisabilité de l'utilisation des CSM et confirment leur immense potentiel.

II. Apport des cellules souches mésenchymateuses chez le diabétique de type 1 :

1. Différenciation des cellules souches pluripotentes en cellules pancréatiques :

Les cellules souches pluripotentes sont actuellement représentées par deux grands groupes : les cellules souches embryonnaires (ESC, embryonic stem cells) et les cellules pluripotentes induites (iPSC, induced pluripotent stem cells). Elles sont essentiellement caractérisées par leur prolifération illimitée en tant que cellules souches d'une part , et leur capacité à générer les dérivés des trois couches germinales (endoderme, ectoderme, mésoderme) d'autre part [1][2]. Ces deux propriétés sont à la base de l'intérêt accordé de nos jours à la différenciation guidée de cellules souches en cellules différenciées fonctionnelles capables de remplacer les cellules défaillantes dans diverses maladies humaines, y compris le diabète de type 1 au cours duquel les cellules β sécrétrices d'insuline sont détruites dans le pancréas.

L'utilisation de cellules β pancréatiques dérivées de cellules souches pluripotentes humaines constitue donc une vraie approche émergente pour le traitement du diabète , à condition que la première phase, qui consiste en la différenciation in vitro, s'opère de manière efficace [3].

Plusieurs études visant à identifier les cellules souches α /progénitrices résidant dans le pancréas, ou à induire la régénération de cellules β in situ demeurent non concluantes et parfois même contradictoires [4][6].

En revanche, les cellules souches pluripotentes ont permis une avancée considérable au cours des dix dernières années, ce qui nous rapproche de manière significative d'une application clinique [3][7]. Ce succès est en grande partie attribué à l'accumulation d'informations de base concernant le développement embryonnaire du pancréas [8][9] et à leur implémentation (bien que partielle) dans la différenciation cellulaire in vitro, avec comme résultat la production de progéniteurs pancréatiques. Cependant, malgré ces véritables avancées, il n'est toujours pas possible d'induire la différenciation de cellules β fonctionnelles in vitro, bien que celles-ci ont été obtenues in vivo après transplantation de progéniteurs chez la souris.

Tableau XV : Facteurs de croissance impliqués dans le développement du pancréas.

Stades	Facteurs	Sources	Fonctions
Spécification (E8,5-9,5)	Wnt	Mésoderme	Inhibe intestin antérieur, pancréas, foie
	Shh, Ihh, Dhh	Endoderme	Antipancréatique
	Activine B, FGF2	Notochorde	Réprime Hedgehog, propancréatique
	Noggin	Dmes	Réprime BMP (Dend), propancréatique
	FGF – BMP	Cmes, LPM	Prohépatique/antipancréatique (Vend)
	RA	LPM, Dmes	Modèle intestin, induit Pdx1 et bourgeon pancréas
Expansion (E9,5-12,5)	VEGF-A	Aorte dorsale	Induction Pdx1, Insuline, Ptf1a
	FGF1-7-10	Pmes	Prolifération épithélium, branchage
	GCG	Cellules α	Induction cellule β de la transition primaire
	EGF, bêta-celluline	Pepi	Prolifération épithélium, proendocrinien ?
Différenciation (E12,5-E15,5)	Delta, Jagged	Pnep	Anti-endocrinien, prolifération progéniteurs
	Activine A, B	Endocrine	Antiexocrine, proendocrinien (via Ngn3)
	BMP4-5-7	–	Différenciation cellule β ?
	TGF β 1-2-3	Pepi, acini	Proendocrinien, architecture îlots
	RA	Pmes	Proendocrinien (induction Ngn3)
	HGF	Pmes, Pepi	Différenciation cellule β
	GDF11 (BMP11)	Pepi	Proendocrinien (régulation Ngn3)
	Follistatine	Pmes	Proexocrine, anti-endocrinien
	Wnt (7 membres)	Pmes	Contrôle prolifération ?
Maintenance et fonction (> E15,5)	VEGF-A	Îlots	Vaisseaux dans îlots, fenestration endothélium
	GDF11 (BMP11)	Acini	Proendocrinien ?
	HB-EGF	Canaux, îlots	Architecture îlots ?
	EGF, bêta-celluline	–	Prolifération cellule β ?
	GCG, Glp1	Cellules α	Procellule β , synthèse insuline
	IHH	Îlots	Expression Pdx1 et insuline
	Wnt	–	Croissance pancréas postnatal

Le développement du pancréas est un processus très complexe et séquentiel, avec l'intervention de nombreux facteurs de croissance issus des structures avoisinantes ou du pancréas lui-même. Il serait utopique de penser à une intégration complète de toutes ces informations dans la différenciation des ESC/iPSC en cellules pancréatiques, mais ses grandes lignes permettent actuellement de générer des progéniteurs pancréatiques de manière assez efficace.

a) **Induction de l'endoderme définitif et des progéniteurs pancréatiques :**

Les toutes premières études visant à produire des cellules pancréatiques à partir des ESC se sont heurtées à un très faible taux de réussite, en partie lié à la nature des modèles utilisés (corps embryoides ou EB, embryoid bodies), lesquels autorisent une différenciation stochastique et non synchronisée [6] [7]. En se fondant sur les connaissances du développement embryonnaire du pancréas, des efforts ont été mis en œuvre pour initialement produire la couche germinale dont il est le dérivé, l'endoderme définitif (DE, definitive endoderm). A la suite des travaux réalisés un an auparavant avec les ESC de souris, D'Amour et al. [14] ont démontré en 2005 que les ESC humaines stimulées en culture monocouche avec de l'activine A (ActA), une molécule de la famille des TGF β (transforming growth factor β), se différencient préférentiellement en endoderme définitif [8]. Ces résultats confirmaient le rôle précédemment assigné à ces molécules dans le développement de l'endoderme définitif chez les petits vertébrés, comme le poisson zèbre et la grenouille [2] [3]. La voie de signalisation induite par l'ActA s'est révélée incontournable dans la dérivation de l'endoderme définitif à partir de différentes lignées ESC et iPSC. Sa combinaison avec le Wnt3a (wingless-type MMTV integration site family, member 3A), BMP4 (bone morphogenetic protein 4), FGF2 (fibroblast growth factor 2), VEGF (vascular endothelial growth factor) ou d'autres molécules de synthèse augmente considérablement son efficacité.

Il a été démontré qu'au cours de l'induction de l'endoderme définitif, l'utilisation du sérum animal peut être abandonnée et remplacée par une stimulation temporelle de la voie MAPK (mitogen-activated protein kinase) par du FGF2. Cette approche permet d'envisager des modèles de différenciation qui sont cliniquement applicables et sans risque de transmission de zoonoses aux patients [91].

L'équipe du Dr Baetge fut pionnière dans la détermination des combinaisons de facteurs de croissance et de molécules de synthèse permettant d'obtenir in vitro les différentes phases de développement pancréatique à partir de l'endoderme définitif dérivé des ESC [2]. Cette technique a été progressivement raffinée par plusieurs autres investigateurs. Il apparaît

actuellement que l'inhibition de la voie Hedgehog et de la voie TGF β /BMP, ainsi que l'activation de la voie rétinoïde et de la voie FGF, sont fondamentales pour l'induction du lignage pancréatique à partir de l'endoderme définitif [1]. Il a été à ce titre démontré que l'endoderme définitif dérivé de plusieurs lignées ESC est au minimum bipotent, avec la capacité de produire des cellules hépatiques ou des cellules pancréatiques en fonction du niveau d'activation de la voie BMP [4]. C'est dire que les pré requis élémentaires pour une différenciation des cellules du lignage pancréatique sont actuellement connus et implémentés in vitro pour efficacement produire des progéniteurs pancréatiques [3][7]. Néanmoins, des différences persistent dans la capacité de lignées distinctes d'ESC ou d'iPSC à engendrer un type cellulaire particulier avec un modèle de différenciation donné [5][8], et la différenciation de cellules β fonctionnelles n'est actuellement toujours pas démontrée in vitro.

b) Identité des progéniteurs pancréatiques induits in vitro et différenciation in vivo :

Au cours du développement embryonnaire murin et humain, le facteur de transcription Pdx1 (pancreatic and duodenal homeobox 1) marque le domaine de l'endoderme destiné à devenir pancréatique, et l'absence de son gène entraîne une agénésie du pancréas [9]. L'expression de Pdx1 est tant plus étendue que le domaine pancréatique, c'est uniquement sa combinaison avec d'autres facteurs (Nkx6.1, Ptf1a [pancreas transcription factor 1a], Sox9 [(sex determining region y)-box 9], Hnf6 [hepatocyte nuclear factor 6] et Foxa2 [forkhead box A2]) qui définit le progéniteur pancréatique de manière indéniable.

Les travaux récents cherchent à démontrer la nature pancréatique des cellules PDX1-positives dérivées des ESC /iPSC en les marquant en plus avec un anticorps dirigé contre l'un des autres facteurs. Cependant, les limites actuelles des techniques d'immunofluorescence ne permettent pas une démonstration absolue de cette nature pancréatique in vitro, laquelle est seulement supposée sur la base de différentes analyses combinées [3][92].

Néanmoins, ces techniques montrent que les modèles actuels de différenciation produisent des populations cellulaires fortement hétérogènes [123], ce qui expliquerait la

difficulté à générer in vitro de véritables cellules β disposant d'un système fonctionnel de sécrétion d'insuline induite par le glucose. Il est nécessaire que les cellules β générées in vitro disposent de ce système qui seul est en mesure de contrôler la glycémie de manière physiologique. Il est donc vraisemblable que les cellules productrices d'insuline détectées in vitro jusqu'alors, qui restent insensibles ou très peu sensibles à la stimulation par le glucose [125][127], sont semblables à celles décrites au cours de la première transition du développement pancréatique dans l'embryon.

La difficulté à obtenir in vitro des cellules β fonctionnelles, à l'instar de celles qui existent dans le pancréas humain, traduit le manque de connaissances exactes sur les dernières phases du développement des cellules endocrines du pancréas. Cette situation pourrait engendrer un doute quant à la nature pancréatique des progéniteurs PDX1-positifs obtenus in vitro par différenciation à partir des ESC/iPSC.

Pour contourner cette difficulté, plusieurs investigateurs ont implanté les cellules PDX1-positives chez la souris et ont ainsi démontré que les dernières phases de la différenciation endocrine se poursuivent normalement après la transplantation, et nécessitent en général pas moins de douze semaines [88], ce qui va de pair avec la cinétique du développement embryonnaire humain. Dans ces études, une augmentation des taux d'insuline ou de peptide C humain a été détectée dans la circulation en réponse à une injection de glucose, et les souris ainsi traitées ont pu résister à l'effet diabétogène de la streptozotocine, une substance chimique toxique pour les cellules β des petits rongeurs [166].

Cette expérience dans ce domaine montre que le site de transplantation peut avoir une influence considérable sur le devenir des cellules implantées, et que l'espace sous-cutané offre des avantages bénéfiques pour une application clinique [36]. Toutes ces données permettent d'envisager la production de masse et la transplantation clinique de progéniteurs pancréatiques encapsulés qui pourront ainsi poursuivre leur différenciation en cellules β chez le patient diabétique tout en restant à l'abri des réactions immunitaires [167]. Également une

autre piste de recherche est également suivie, qui vise à identifier les conditions requises pour amplifier les progéniteurs pancréatiques in vitro avant leur transplantation [168].

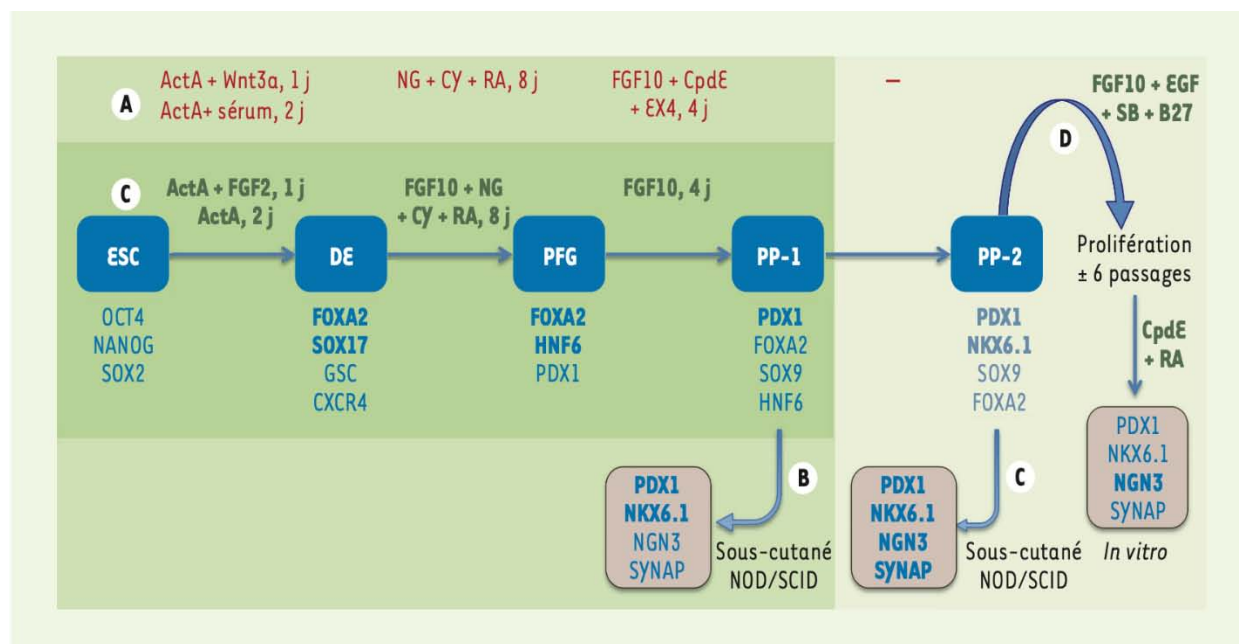


Figure 85 : Modèles de différenciation des progéniteurs pancréatiques

L'activation de la voie TGF β est requise pour induire l'endoderme définitif, en combinaison avec l'activation de la voie Wnt ou FGF. Dans le deuxième cas, le sérum animal peut être éliminé de la procédure. L'inhibition des voies Hedgehog et BMP couplée à l'activation des voies rétinolide et FGF permettent d'induire les progéniteurs pancréatiques (PDX1 + NKX6.1+). L'implantation des progéniteurs pancréatiques en sous-cutané chez la souris donne lieu à une différenciation progressive vers le lignage endocrinien (NGN3+). Les progéniteurs pancréatiques peuvent également être amplifiés in vitro avant leur différenciation en cellules pro-endocriniennes par inhibition de la voie Notch et activation de la voie rétinolide (RA).

A. Modèle initial permettant de réduire considérablement la différenciation vers le lignage hépatique [174].

B. Différenciation suivant le modèle A et mise en évidence de la progression des progéniteurs pancréatiques type 1 (PP-1) vers le type 2 (PP-2) après transplantation chez la souris immunodéficiente NOD/SCID [36].

C. Modèle révisé avec élimination du sérum pendant l'induction de l'endoderme définitif et mise en évidence de la différenciation endocrinienne in vivo [175].

D. Facteurs régulant la prolifération in vitro des PP-2 et leur différenciation en cellules pro-endocriniennes. Les facteurs de transcription permettant de marquer les différents lignages cellulaires sont : ActA : activine A ; B27 : supplément B27 ; CpdE : inhibiteur de la voie Notch ; CY : cyclopamine ; DE : endoderme définitif ; ESC : cellules souches embryonnaires ; EX4 : exendine-4 ; NG : noggin ; PFG : portion caudale de l'intestin antérieur ; PP-1 et PP-2 : progéniteurs pancréatiques de type 1 (exprimant essentiellement PDX1) et de type 2 (exprimant PDX1 et NKX6.1) ; RA : acide rétinoïque ; SB : SB431542.

Tableau XVI : Influence du site de transplantation sur le devenir des progéniteurs pancréatiques à moyen et à long terme

Composition	Site	Moyen terme 2 semaines		Long terme > 6 semaines	
Formation cartilagineuse	Épididyme	0/3*	0 %	5/9	56 %
	Sous-cutané	0/5	0 %	0/10	0 %
Cellules PDX1 ⁺	Épididyme	2/3	67 %	0/9	0 %
	Sous-cutané	5/5	100 %	10/10	100 %
Cellules PDX1 ⁺ NKX6.1 ⁺	Épididyme	0/3	0 %	0/9	0 %
	Sous-cutané	0/5	0 %	5/10	50 %

Les greffons préparés à partir de cellules PDX1⁺ dérivées de ESC humaines étaient transplantés dans le tissu adipeux épидidymaire ou dans l'espace sous-cutané. Le nombre et le pourcentage de greffons avec une composition donnée étaient évalués deux semaines et plus de six semaines après la transplantation.

*Nombre de greffons positifs pour la composition indiquée/nombre total d'animaux greffés.

c) **Marqueurs de surface pour la sélection des progéniteurs pancréatiques :**

Les modèles de différenciation actuels ne permettent pas la production de cultures homogènes de progéniteurs pancréatiques. Des cellules non ou peu différenciées persistent et sont parfois initiatrices de tératomes après leur transplantation in vivo [100][101]. La sélection de progéniteurs pancréatiques ou de cellules β devra donc représenter un axe majeur de recherche pour les prochaines années, et le succès dans ce domaine dépendra de l'existence de véritables marqueurs de surface spécifiques à ces cellules. Selon les travaux récents, les marqueurs CD24 (ou HSA, heat stable antigen), CD142 (ou facteur tissulaire), FZD3 (frizzled family receptor 3), GPCR50 (G protein-coupled receptor 50) et MMP16 (matrix metalloproteinase 16) sont exprimés par les cellules PDX1-positives, alors que CD200 (OX2) et CD318 (CUB domain-containing protein 1) le sont par les cellules endocrines [102][103][104]. Même si les premiers travaux ont démontré l'absence de tératome après transplantation de cellules CD 142+ [30], la spécificité de certains de ces marqueurs n'a pas été confirmée par d'autres chercheurs [105][106].

d) **La place des molécules de synthèse dans la génération de progéniteurs pancréatiques :**

La différenciation des ESC /iPSC en cellules pancréatiques se base sur le modèle de développement embryonnaire et utilise principalement des protéines recombinantes pour activer ou bloquer les récepteurs exprimés par les cellules en culture. Il se trouve que certaines de ces protéines ont un coût très onéreux ou présentent une faible stabilité dans le milieu de culture, ce qui préfigure de très gros efforts financiers pour la production de masse de progéniteurs pancréatiques et de cellules β en vue d'une application clinique.

Au cours des dernières années, quelques plateformes de criblage de molécules de synthèse ont été mises sur pied, et les efforts consentis ont permis l'identification des composés qui activent ou inhibent les mêmes voies de signalisation que certaines protéines recombinantes. Tel est le cas de l'IDE1 et de l'IDE2 (inducer of definitive endoderm-1 et -2) qui permettent de dériver l'endoderme définitif à partir des ESC /iPSC en stimulant les effecteurs SMAD2/3 de la voie TGF β [18]. La protéine recombinante Wnt 3a a également été remplacée

avec succès par les inhibiteurs de la GSK β (glycogen synthase kinase β) [107][108][109]. D'autres molécules comme la wortmanine et le butyrate de sodium ont été utilisées en complément de l'activine-A pour induire l'endoderme définitif in vitro. [110][111].

Pour induire la différenciation des ESC /iPSC en progéniteurs pancréatiques et endocriniens, usage est fait de plusieurs molécules de synthèse dont la cyclopamine (inhibiteur de la voie Hedgehog), la dorsomorphine (inhibiteur de BMP), le SB431542 (inhibiteur de la voie TGF β), l'inhibiteur de la FAK (focal adhesion kinase) et l'indolactam V [3].

Même si les données de la littérature montrent que les cellules pancréatiques n'ont pas encore été dérivées dans une « soupe chimique » au sens propre, les efforts actuels devraient porter sur des systèmes utilisant le plus de molécules de synthèse et le moins de protéines recombinantes possible pour induire la différenciation de ces précurseurs pancréatiques.

III. Discussion des résultats :

Cette étude prospective réalisée au sein du service d'Endocrinologie et de Diabétologie du Centre hospitalier universitaire (CHU) Mohammed VI de Marrakech, a permis de regrouper 4 dossiers des patients diabétiques type 1 qui ont été hospitalisés pour un projet pilote de greffe de cellules souches mésenchymateuses.

Notre étude rassemble des patients diagnostiqués diabétiques de type 1, sans autres maladies auto-immunes associées, récemment découverts acceptant la greffe des cellules souches mésenchymateuses, avec un indice de masse corporelle normal (IMC), et des marqueurs tumoraux négatifs (AFP, Ca125, ACE, Ca15-3, Ca19-9).

Notre étude nous a permis de rapporter l'expérience du service d'Endocrinologie et de Diabétologie dans la prise en charge et le suivi des patients ayant bénéficié de la greffe des cellules souches mésenchymateuses.

À travers ce chapitre, nous allons analyser les résultats de notre série à la lumière des données de la littérature internationale, tout en les comparant à ceux des autres séries, afin de mettre le point sur l'apport des cellules souches mésenchymateuses provenant du tissu adipeux ou de la

moelle osseuse dans la régénération des cellules β pancréatiques, et la modulation de la réponse auto-immune. Et par conséquent diminuer les besoins en insuline et améliorer la qualité de la prise en charge des diabétiques de type 1 de découverte récente.

1. Données épidémiologiques/histoire de la maladie :

1.1. L'âge:

Dans notre série la moyenne d'âge est de 20.5 ans, dont le moins âgé a 11 ans et le plus âgé a 34 ans.

Ces résultats sont relativement proches de celles rapportées dans les séries d'études de S.D.Dave et Umang G.Thakkar, où l'âge moyen était respectivement 21.1 ans et 20.2 ans.[106][98]

Contrairement à l'âge moyen rapporté dans les études de Debora B. Araujo [121], Per-Ola Carlsson [123], et Sagar Jawale [171], où la moyenne d'âge était respectivement de 26.7, 29.5, et 30.5 ans.

Tableau XVII : Les résultats de différentes séries concernant l'âge des patients.

Série	Pays/Ville	Âge moyen
Umang G.Thakkar	Surate-Inde	20.2 ans
S.D.Dave	Inde	21.1 ans
Debora B.Araujo	Rio de Janeiro-Brésil	26.7 ans
Per-Ola Carlsson	Uppsala-Suède	29.5 ans
Sagar Jawale	Jalgaon-Inde	30.5 ans
Notre série	Maroc	20.5 ans

1.2. Le sexe :

Dans la littérature (Tableau 18), plusieurs études ont rapporté une nette prédominance masculine avec un sexe ratio (H/F) proche de 10 : entre 9 et 9,5 hommes sont inclus dans l'étude pour une femme.[171][119][166][150]

Notre étude a montré un sexe ratio homme/femme de 1, contrairement aux autres études, notamment celle de A.V. Vanikar [85] faite en Inde, et celle de Lubna Rifai [120] faite au Moyen-Orient (Liban), qui ont montré un sexe ratio de 1.5 et 1.75 respectivement.

Tableau XVIII : La distribution selon le sexe dans différentes séries.

Série	Pays/Ville	Sexe ratio (H/F)
Sagar Jawale	Inde	9.5
Hargovind L.Trivedi	Inde	9
A.V.Vanikar	Inde	1.5
Lubna Rifai	Moyen-Orient (Liban)	1.75
Notre série	Maroc (Marrakech)	1

1.3. Durée d'évolution du diabète :

La durée moyenne d'évolution du diabète est un facteur important dans notre étude, vu qu'on a inclus que des patients diabétique type1 récemment découverts, avec une durée moyenne d'évolution de 2.45 ans.

Ce résultat concorde avec les données rapportées dans les études de Joana R.Dantas, H.L.Trivedi, et Fatima A.Saleh, chez qui la durée moyenne d'évolution de la maladie était respectivement de 2.6 ,2.9 ,et 3 ans.[123][96][120]

En outre, d'autres études ont inclus des patients avec une durée d'évolution qui ne dépasse pas 6 semaines , c'est le cas deux études , une menée à Hôpital Universitaire d'Uppsala, et l'autre à l'unité de transplantation de moelle osseuse de l'école de médecine de Ribeirão Preto, Brésil, chez qui la durée moyenne d'évolution était respectivement de 3 et 6 semaines.[123][96]

Contrairement aux résultats rapportés par les études de S.D.Dave et Umang G.Thakkar , chez qui la durée moyenne d'évolution de la maladie dépasse 8 ans.[98][106]

Tableau XIX : Les résultats de différentes séries concernant la durée d'évolution du DT1.

Série	Pays/Ville	Durée d'évolution du diabète
Joana R.Dantas	Rio de Janeiro-Brésil	2.6 ans
Hargovind L.Trivedi	Inde	2.9 ans
Fatima A.Saleh	Moyen-Orient (Liban)	3 ans
Erik Schwarcz	Uppsala-Suède	3 semaines
Júlio C Voltareli	Ribeirão Preto-Brésil	6 semaines
S.D.Dave	France	8.2 ans
Umang G.Thakkar	Surate-Inde	8.1 ans
Notre série	Maroc (Marrakech)	2.45 ans

2. Données cliniques pré et post-greffe :

2.1 Poids :

Le poids est un des paramètres principaux à surveiller chez les patients, avant la greffe et au fil des mois de suivi post greffe des cellules souches mésenchymateuses.

La prise de poids est un indicateur pronostique important dans le diabète de type 1.

Dans notre série, tous les patients avaient une prise de poids après la thérapie par les cellules souches mésenchymateuses, allant d'un poids moyen de 49.5 kg avant la greffe à un poids moyen de 53,7 kg après la greffe.

50% des patients de notre série avaient une prise de poids moyenne d'environ 4kg après un an du traitement.

Ces résultats sont relativement proche de celles rapportées dans les séries d'études de A.V.Vanikar, Sagar Jawale, Olle Korsgren, et Cristina Aguayo-Mazzucato, qui ont démontrée aussi une prise du poids chez les patients, après un an de traitement par les cellules souches mésenchymateuses.[85][171][123][167]

Tableau XX : Les résultats de différentes séries concernant le poids pré et post-greffe des patients.

Série	Poids moyen pré-greffe	Poids moyen post-greffe
A.V.Vanikar	54.6 kg	55.2 kg
Sagar Jawale	40.21 kg	46.6 kg
Olle Korsgren	68.2 kg	70.2 kg
Cristina Aguayo-Mazzucato	52.3 kg	56.4 kg
Notre série	49.5 kg	53,7 kg

2.2 **IMC :**

Un indice de masse corporelle normal [18.5–25] est un critère important dans notre étude pour inclure les candidats de greffe des cellules souche mésenchymateuses.

Dans notre série, tous les patients avaient un IMC pré-greffe normal, dont la moyenne est de 20.5 kg/m². ce qui concorde avec les résultats des séries de Erik Schwarcz, Maria C.Oliveira , et Karina R.Sliva, qui ont exigé également un IMC normal comme critère d`inclusion des patients.[122][115][128]

Parallèlement au poids, on a noté également une augmentation de l`IMC post-greffe aussi bien dans notre série, que dans les autres séries des auteurs mentionnés ci-dessus.

Tableau XXI : Les résultats de différentes séries concernant l`IMC pré et post-greffe des patients.

Série	IMC moyen pré-greffe (kg/m ²)	IMC moyen post-greffe (kg/m ²)
Erik Schwarcz	22.5	23.3
Maria C.Oliveira	23.1	24.3
Karina R.Sliva	21.8	22.4
Notre série	20.5	23.3

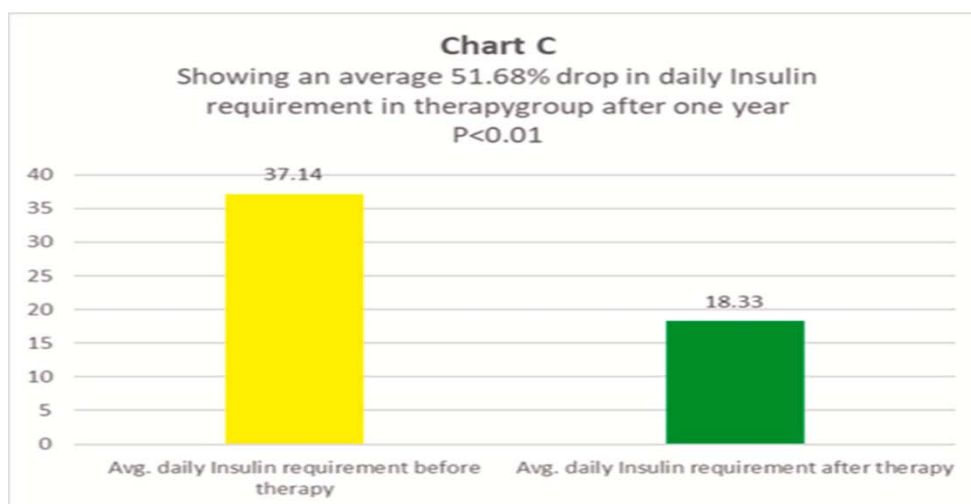
2.3 **Besoins en insuline :**

L`objectif principal de notre étude est de mettre le point sur l`apport des cellules souches mésenchymateuses dans l`amélioration de la prise en charge du diabète type 1, en diminuant les besoins quotidiens des patients en insuline afin d`avoir un équilibre glycémique optimal.

Dans notre série, les besoins moyens en insuline ont diminués chez la majorité des patients. Ils ont passé de 0.29 à 0.27 ui/kg/j après la thérapie par les cellules souches mésenchymateuses.

Ce résultat concorde avec les données rapportées dans les études de S.D.Dave, Umang G.Thakkar, Olle Korsgren, et A.Firoze, qui ont démontré l'apport des cellules souches mésenchymateuses dans la réduction des besoins des patients en insuline.[106][98][123][119]

Selon la série de Sagar Jawale, au bout d'un an, 3 patients (14,28 %) ont cessé de prendre de l'insuline et n'en ont plus besoin jusqu'à trois ans après le traitement. Les besoins moyens en insuline des 19 autres patients (85,72 %) ont diminué de 51,68 % après un an de traitement et la différence est statistiquement très significative avec $P < 0,01$ (graphique C).[171]



Debora B.Araujo a démontré aussi par son étude, l'intérêt de la thérapie par CSM dans la diminution des besoins en insuline, qui ont passé de 0.61 à 0.22 ui/kg/j après un an du traitement, avec deux patients qui ont cessé d'injecter l'insuline pendant 4 à 8 semaines.[121]

En outre, selon l'étude de Júlio C Voltareli, au cours d'un suivi de 7 à 36 mois (moyenne de 18,8), 14 patients n'ont plus utilisé d'insuline (1 pendant 35 mois, 4 pendant au moins 21 mois, 7 pendant au moins 6 mois, et 2 avec une réponse tardive n'ont plus utilisé d'insuline pendant 1 et 5 mois, respectivement). Parmi ceux-ci, un patient a repris l'insuline 1 an après la greffe.[89]

Tableau XXII : Les résultats de différentes séries concernant les besoins en insuline pré et post-greffe des patients.

Série	Besoin moyen en insuline pré-greffe	Besoin moyen en insuline post-greffe
S.D.Dave	1.14 ui/kg/j	0.63 ui/kg/j
Umang G.Thakkar	57.55 ui/j	54.6 ui/j
Olle Korsgren	0.43 ui/kg/j	0.37 ui/kg/j
A.Firoze	42 ui/j	28 ui/j
Sagar Jawale	37.14 ui/j	18.33 ui/j (arrêt de l`insuline pour 3 patients)
Debora B.Araujo	0.61 ui/kg/j	0.22 ui/kg/j (arrêt de l`insuline pour 2 patients pendant 4 à 8 semaines)
Notre série	0.29 ui/kg/j	0.27 ui/kg/j

3. Données paracliniques pré et post-greffe :

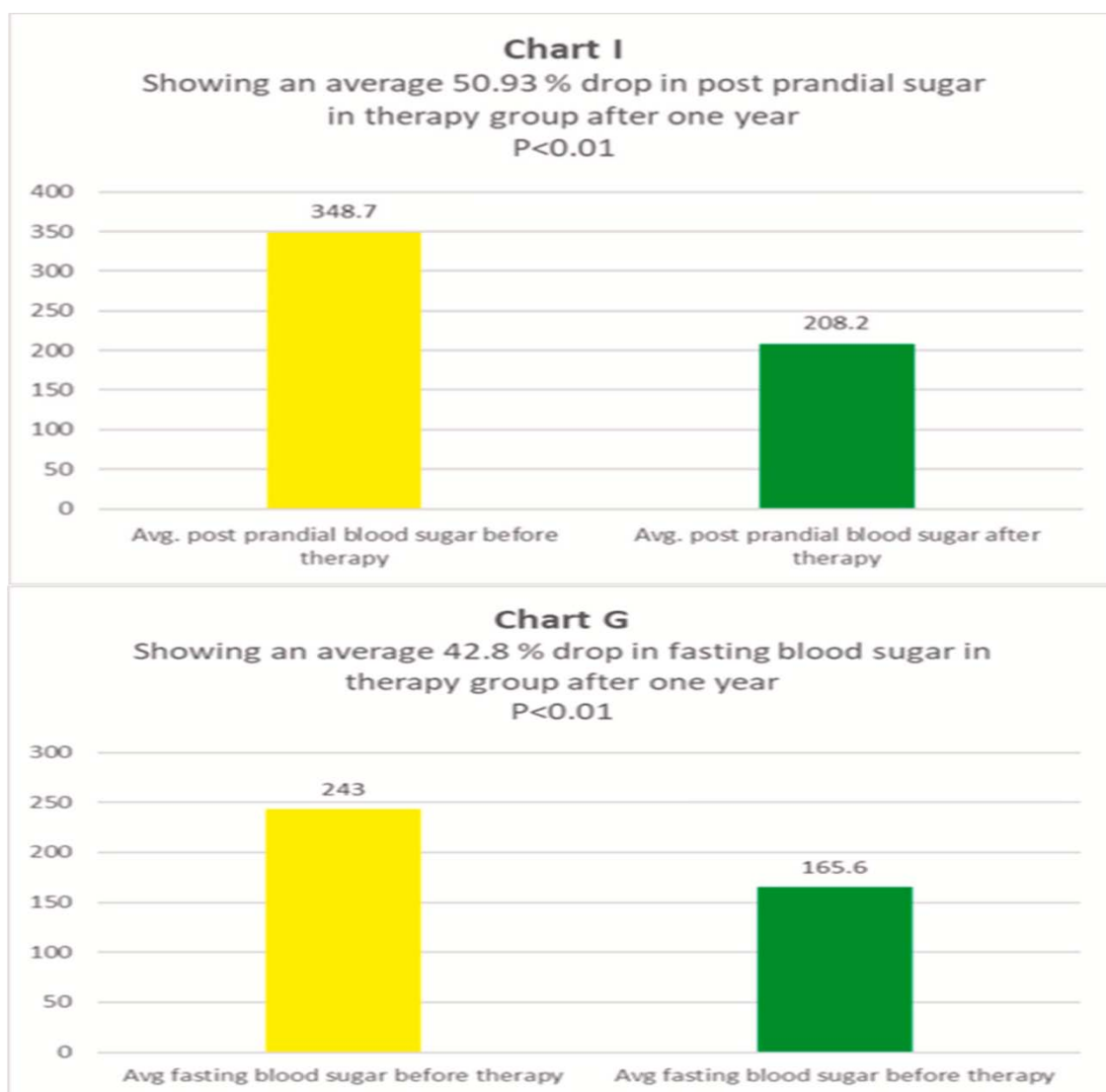
3.1 Surveillance glycémique :

Les glycémies à jeun et les glycémies post-prandiales veineuses, constituent les paramètres principaux à surveiller tout le long de l`étude.

Dans notre série, on a exigé une surveillance glycémique dès les premiers jours post-greffe, puis chaque semaine du premier mois, et puis un suivi trimestriel. Dont l`objectif est d`ajuster le traitement des patients en insulinothérapie en fonction de leur cycle glycémique, et de dépister tout type de complication aigue : hypoglycémie ou éventuellement une hyperglycémie avec cétose diabétique.

Après un an de la thérapie par greffe de CSM, les GÀJ et les GPP ont régressés pour la totalité des patients de notre étude, passant d`une GÀJ moyenne pré-greffe de 1.35 à 1.18 g/l, et d`une GPP moyenne pré-greffe de 2.16 à 1.49 g/l.

Ce résultat concorde avec les données rapportées dans l`étude de Sagar Jawale, qui a constaté chez les patients de son étude une baisse moyenne de 42,8 % de la glycémie à jeun et la différence était statistiquement très significative avec $P < 0,01$ (graphique G), ainsi qu`une baisse moyenne de 50,93 % de la glycémie postprandiale et la différence était statistiquement très significative avec $P < 0,01$ (graphique I).[171]



En outre, d'autres études ont démontrés aussi la régression des chiffres glycémiques, après la thérapie par CSM, notamment les séries de A.B. Bhargava, Daniela A Moraes, et Umang G. Thakkar.[119][89][98]

Tableau XXIII : Les résultats de différentes séries concernant les glycémies moyennes (GÀ) et GPP) pré et post-greffe des patients.

Série	Glycémies moyenne pré-greffe (g/l)	Glycémies moyenne post-greffe (g/l)
Sagar Jawale	GÀ) : 2.43	1.65
	GPP) : 3.48	2.08
A.B.Bhargava	GÀ) : 2.10	1.41
	GPP) : 2.75	1.82
Daniela A Moraes	GÀ) : 2.40	1.63
	GPP) : 3.12	2.11
Umang G.Thakkar	GÀ) : 2.22	1.52
	GPP) : 2.91	1.81
Notre série	GÀ) : 1.35	1.18
	GPP) : 2.16	1.49

3.2 HBA1C :

L'hémoglobine glyquée (fraction HbA1c) est la forme glyquée de la molécule d'hémoglobine. Sa valeur biologique permet de déterminer la concentration de glucose dans le sang, la glycémie, sur trois mois. Elle est particulièrement utile et constitue le paramètre de référence dans la surveillance de l'équilibre glycémique des patients diabétiques.[20]

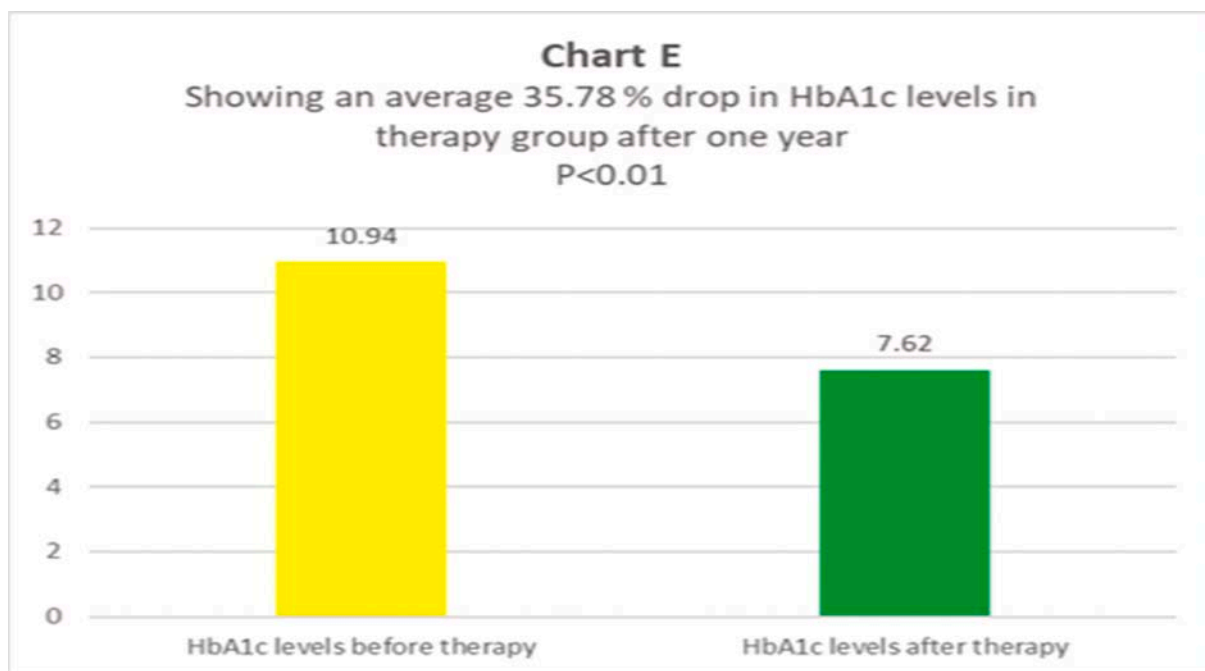
Son dosage régulier, par un prélèvement sanguin veineux, permet de surveiller l'équilibre glycémique des patients diabétiques et, ainsi d'évaluer et d'adapter leurs traitements anti-diabétiques. Sa valeur augmente lorsque les périodes d'hyperglycémie ont été fréquentes dans les 120 jours précédant le dosage et diminue lorsque la glycémie a été correctement équilibrée.

Ainsi meilleur est le contrôle glycémique, plus basse est l'HbA1c et moindre est le risque de développer une des complications du diabète (microangiopathie, macroangiopathie...). L'équilibre chronique d'un diabète sucré se juge sur l'HbA1c et pas sur la glycémie, sauf au moment de l'adaptation du traitement ou lors de situations aiguës.

La Haute autorité de santé a émis des recommandations sur les objectifs cibles d'HbA1c selon le profil du patient : **diabète de type 1 : entre 7% et 7,5%.**

Dans notre série, le taux d'HbA1c a baissé chez la totalité des patients, passant d'une HbA1c moyenne pré-greffe de 8.82 à 7.07% après traitement par CSM.

Selon l'étude indienne de Sagar Jawale, Le taux d'HbA1c des patients a baissé en moyenne de 35,78 % dans le groupe de traitement et la différence est statistiquement très significative avec $P < 0,01$ (graphique E).[171]



Ces résultats concordent avec les données rapportées dans les études de H.L. Trivedi, Aruna V. Vanikar, Debora B. Araujo, V. Shankar, et Fabiano Pieroni. Qui ont démontré l'intérêt de la thérapie par CSM dans l'amélioration du taux de l'HbA1c des patients, et par conséquent la prévention des complications dégénératives à long terme.[119][85][121][98][89]

Tableau XXIV : Les résultats de différentes séries concernant le taux moyen d'HbA1c pré et post-greffe des patients.

Série	le taux moyen d'HbA1c pré-greffe	le taux moyen d'HbA1c post-greffe
Sagar Jawale	10.94%	7.62%
H.L.Trivedi	8.47%	7.39%
Aruna V.Vanikar	10.99%	7.80%
Debora B.Araujo	7.48%	6.47%
V.Shankar	9.91%	6.82%
Fabiano Pieroni	8.73%	6.93%
Notre série	8.82%	7.07%

3.3 Le peptide C :

Le peptide C est un polypeptide de connexion (C) constitué d'une chaîne unique de 31 acides aminés (positions 33-63). Sa masse moléculaire est d'environ 3021 Da. Elle est dérivée du clivage enzymatique de la pro-insuline dans l'appareil de Golgi des cellules bêta des îlots de Langerhans du pancréas. Ce clivage produit en même temps de l'insuline en quantité équimoléculaire.[17]

Le peptide C, contrairement à l'insuline, n'est pas métabolisé dans le foie, et est éliminé surtout par voie rénale. Une fraction d'environ 6% du peptide C est retrouvée intacte dans les urines.[19]

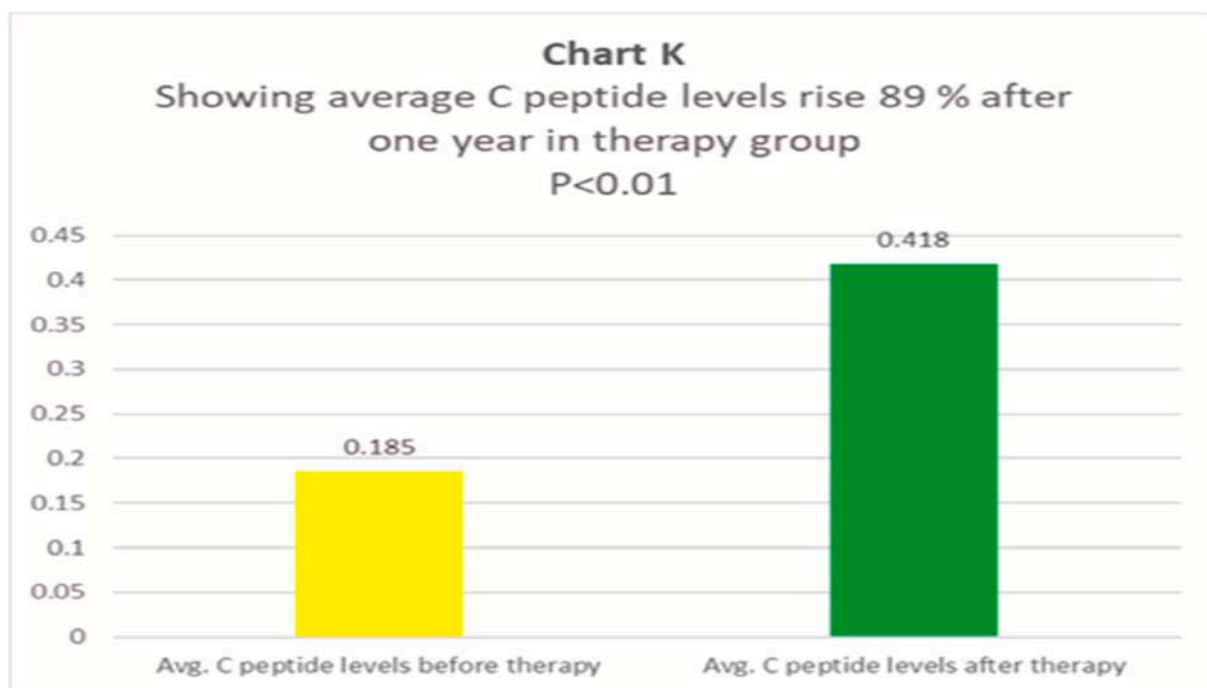
Le dosage du peptide C reflète le potentiel du pancréas à sécréter l'insuline. Il permet d'avoir une estimation du taux d'insuline endogène (c'est-à-dire produite par l'organisme), même lors de l'administration d'insuline exogène (injections d'insuline) ou en cas de présence d'anticorps anti-insuline qui gênent le dosage de celle-ci. Son dosage permet également le diagnostic et la surveillance des insulinomes.[20]

Les valeurs normales du peptide C dans le sang á jeun : 0.3 à 1,5 nmol/L (0.7 à 1.9ng/ml), et après 45 min de la stimulation glucosée (HPO), le taux se multiplie par 4 par rapport au taux basal. Les taux sont interprétés en fonction de la glycémie.[21]

Dans notre série, Le suivi du taux de peptide C au fil des mois post-greffe n`a pas été régulier par la majorité des patients. pour diverses raisons telles que le manque de moyens financiers, et le manque de disponibilité dans leur zone de résidence locale, etc.

Au bout de 2ème mois post-greffe, on a constaté une augmentation des niveaux de peptide C chez 50% des patient qui a doublé de valeur en passant de 0,16 à 0,29 ng/ml chez le premier cas, et de 0,34 à 0,67 ng/ml chez le troisième cas, avec une moyenne de 0.14 ng/ml en pré-greffe, passant à 0.33 ng/ml en post-greffe.

Dans la série de Sagar Jawale, On a constaté une augmentation moyenne de 89 % des niveaux de peptide C chez les patients, et la différence était statistiquement très significative avec $P < 0,01$ (graphique K).[171]



D'autres études ont démontré aussi l'élévation du taux de peptide C chez les patients après thérapie par CSM, notamment l'étude de S.D.Dave [106], Umang G.Thakkar [98], Erik Schwarcz [123], C.N.Patel [119], et Carlos.E.B.Couri [89]. Ce qui concorde avec les résultats de notre étude, et nous permet d'avoir une meilleure exploration de la capacité insulino-sécrétoire du pancréas après la greffe.

Tableau XXV : Les résultats de différentes séries concernant le taux moyen de peptide C pré et post-greffe des patients.

Série	Le taux moyen de peptide C pré-greffe (ng/ml)	Le taux moyen de peptide C post-greffe (ng/ml)
Sagar Jawale	0.18	0.41
S.D.Dave	0.11	0.37
Umang G.Thakkar	0.22	0.41
Erik Schwarcz	0.28	0.42
C.N.Patel	0.02	0.21
Carlos.E.B.Couri	0.14	0.38
Notre série	0.14	0.33

3.4 Capacité immuno-modulatrice des CSM :

Les CSM peuvent protéger les cellules β , augmenter la sécrétion d'insuline et réduire la glycémie chez les patients atteints de DT1 en régulant le système immunitaire.

Dans la littérature, l'application des CSM dans l'élimination des maladies auto-immunes a été pleinement prouvée dans un modèle animal, et les CSM ont un large éventail d'effets régulateurs sur les cellules immunitaires.

Domouky et al. ont montré que les CSM pouvaient réduire l'hyperglycémie chez les rats diabétiques au 15ème jour [51]. L'inhibition de la prolifération des cellules T dans les îlots de Langerhans et la présence d'un nombre accru de Treg dans le DT1 sont des caractéristiques des propriétés auto-immunes des CSM.[52]

Shigemoto-Kuroda et al. ont développé des modèles de souris T1DM pour les maladies auto-immunes et ont découvert que les CSM pouvaient supprimer le développement des

cellules T auxiliaires de type 1 (Th1) et retarder l'apparition du T1DM chez les souris. Des cellules CD4⁺ ont été trouvées en nombre significatif dans les îlots de souris traitées avec du PBS, alors que moins de cellules CD4⁺ ont été trouvées dans les îlots de souris traitées avec des CSM. Le niveau d'insuline dans le plasma a été augmenté par le traitement par MSC, et il y a eu une réduction significative de la production d'IL-12, IFN- γ , p70, et du facteur de nécrose tumorale (TNF).[53]

Bassi et al. ont isolé des CSM à partir du tissu adipeux épидидymaire de souris Balb/c mâles âgées de 8 semaines et ont caractérisé par immunophénotypage leur capacité à empêcher la prolifération des cellules T CD4⁺ [53], [54]. Le traitement de souris NOD avec des CSM a atténué l'hyperglycémie du diabète auto-immun à début précoce et a augmenté les niveaux d'amyline, reflétant l'amélioration du diabète auto-immun ; a réduit la quantité d'infiltration de cellules inflammatoires, maintenant l'expression d'insuline dans les îlots pancréatiques en supprimant la réponse immunitaire Th1 dans le pancréas ; et a favorisé l'expression élevée de TGF- β 1 actif [54]. Parallèlement, les CSM dysgéniques ont été détectées pendant une période significativement plus longue, bien qu'avec une persistance diminuée dans le modèle de souris immunodéficientes.[55]

Dans une autre étude, van Megen et al. ont constaté que l'activation des CSM peut absorber et traiter l'antigène et augmenter l'expression de HLA-DR et des marqueurs d'inhibition immunitaire, tandis que leur profil métabolique était maintenu sans augmenter la prolifération des cellules T. Les CSM peuvent également renforcer la capacité immunosuppressive sans stimuler les cellules T alloréactives [52].

Dans une étude in-vitro, Montanucci et al. ont fourni des preuves préliminaires que la microcapsule immunoisolante-hHUCMS (CpS-hUCMS) peut représenter un système artificiel biohybride fonctionnel, où les produits moléculaires peuvent induire des effets immunomodulateurs efficaces in vitro et chez les patients atteints de DT1, ce qui permet de clarifier davantage leur potentiel thérapeutique chez l'homme.[56]

Montanucci et al. ont isolé et micro-encapsulé des cellules souches mésenchymateuses dérivées de la gelée de Wharton du cordon ombilical humain (hUCMS) pour une xéno greffe (TX) dans un modèle de souris DT1 spontané (souris NOD). À 10 jours de TX, les cellules Treg n'ont pas augmenté, tandis qu'à 216 jours de TX, les cellules CD4+ CD25 élevées ont augmenté en termes de pourcentage et de nombre.

D'autres recherches ont révélé qu'à 216 jours de TX, seules les souris NOD atteintes de DT1 léger présentaient une atténuation soutenue et complète de l'hyperglycémie, tandis qu'aucune atténuation de l'hyperglycémie n'a été observée chez les souris NOD atteintes de DT1 sévère.

Ces résultats suggèrent que la réussite de l'approche thérapeutique par hUCMS pour le traitement du DT1 chez les souris NOD dépend du stade du processus pathologique du DT1, les NODs atteints de DT1 sévère présentant une diminution continue de la masse des cellules β résiduelles.[56]

Tous ces résultats constituent des premiers pas encourageants dans la traduction clinique de l'utilisation des CSM préactivées comme thérapie d'intervention immunitaire cellulaire, qui permet de traiter les troubles inflammatoires et auto-immuns, dont le DT1.

4. Caractéristiques du prélèvement :

Lors de la phase du prélèvement, plusieurs techniques peuvent être utilisées. Il y a un débat perpétuel dans la littérature concernant la méthode idéale qui permettrait de produire le plus grand nombre de cellules souches mésenchymateuses viables et fonctionnelles.

4.1 Nature du prélèvement :

Des études récentes ont rapporté que le tissu adipeux possède le plus haut pourcentage de cellules souches adultes de tous les tissus de l'organisme, avec jusqu'à 5 000 cellules souches dérivées de l'adipocyte par gramme de graisse, contre 100-1000 cellules souches par millilitre de moelle osseuse [45][152].

Les CSMAAs sont semblables aux cellules souches dérivées de la moelle osseuse en ce sens qu'elles sont capables de se différencier en de multiples types de tissus mésodermiques et présentent une expression similaire des marqueurs protéiques de surface [75].

De nombreuses études ont démontré une différenciation multilinéaire, non seulement en graisse mais aussi en os, cartilage, muscle squelettique, muscle cardiaque, vaisseaux sanguins, nerfs et peau [154][155].

Les CSMAAs diffèrent des cellules souches mésenchymateuses dérivées de la moelle osseuse, par leurs facilité d'obtention par liposuction humide standard, sous anesthésie locale, et leurs rendements importants [90][156].

Dans notre étude, Le prélèvement est effectué à partir du tissu adipeux chez 75% des patients en chirurgie plastique , tandis que seulement 25% des patient ont bénéficié d`une ponction de la moelle osseuse en traumatologie devant un IMC légèrement faible.

Parallèlement à notre étude, plusieurs autres études ont adopté le principe de la co-transplantation de cellules souches mésenchymateuses dérivées du tissu adipeux et de cellules souches hématopoïétiques comme nouvelle thérapie pour le diabète type 1, notamment l`étude de A.V.Vanikar [85], Umang G.Thakkar [98], Veronika S.Urban [167], et H.L.Trivedi.[92]

Par ailleurs, Lisha Li a démontré à travers son étude [126] que les cellules souches dérivées de la moelle osseuse seulement, peuvent régénérer le tissu pancréatique dans un modèle de diabète sucré de type 1.

4.2 Site du prélèvement :

La recherche du site donneur idéal pour la récolte de graisse se poursuit.

En 2017, Varghese et al.[63] Ont comparé dix études in vitro utilisant des CSMAAs humaines qui examinaient le site du donneur en tant qu'influence potentielle sur le comportement des CSMAAs. Sur les dix études portant sur des CSMAAs humaines, seules trois ont trouvé une différence entre les différents sites.

Padoin et al. [64] ont montré que la graisse de la partie inférieure de l'abdomen et de la partie médiane des cuisses a un rendement plus élevé en CSMA par rapport à la partie supérieure de l'abdomen, la région trochantérienne, les genoux et les flancs.

Jurgens et al.[45] ont également rapporté un rendement significativement plus élevé en CSMA à partir d'un lipoaspirat abdominal, sans différence significative dans la capacité de différenciation.

Certaines données suggèrent que le rendement des CSMA est plus élevé dans le tissu abdominal que dans le dos et le genou chez les hommes [65]. Cependant, cette différence n'a pas été observée chez les femmes.[64][66]

Dans l'abdomen, la graisse superficielle de la couche de Scarpas présente des caractéristiques de multipotence et du caractère souche plus élevées que celles d'un dépôt abdominal profond [67][68]

Dans notre étude, le choix du site donneur a été effectué en se basant sur les résultats des recherches précédentes, qui concluaient que la paroi abdominale était le site fournissant le meilleur rendement en CSMA. Et par conséquent le site du prélèvement principal était l'abdomen chez 75% des patients.

Les disparités entre les sites donneurs du tissu adipeux chez nos patients (la face interne des deux genoux, l'abdomen et la face interne des cuisses), est dû à la différence de la répartition du tissu adipeux, de la vascularisation et de la sensibilité aux facteurs neuroendocriniens qui régulent le processus de lipolyse.

Tableau XXVI : Les résultats de différentes séries concernant le site du prélèvement du tissu adipeux.

Série	Le site du prélèvement du tissu adipeux
Padoin et al [64]	la partie inférieure de l'abdomen et la partie médiane des cuisses
Jurgens et al [45]	Le lipoaspirat abdominal
Aruna V.Vanikar [85]	La paroi abdominale antérieure
Notre série	L`abdomen et la face interne des deux genoux et des cuisses

Tableau XXVII : Évaluation de l'association entre le site de récolte et les CSMAs humaines et la fonctionnalité des adipocytes classes par taille d`échantillon.

Référence	Site d`récolte	Résultats : cliniques	Résultats: rendement des CSMAs	Résultats: potentiel de différenciation
Smalletal.2014[69]	Deux sites donneurs : l'abdomen et les cuisses.	Pas de différence statistiquement significative entre les sites donneurs		
Padoin et al.2008[64]	Six sites donneurs : abdomen supérieur, abdomen inférieur, genou, intérieur de la cuisse, flanc et région trochantérienne.		La concentration de cellules dans le bas- ventre et l'intérieur de la cuisse était statistiquement plus élevée que dans les autres zones.	
Jurgensetal.2 008[45]	Deux sites donneurs : l'abdomen et la hanche/cuisse.		Le rendement des CSMAs est significativement plus élevé à partir de l'aspiration abdominale.	Aucune différence statistique dans le nombre absolu de cellules nucléées et la capacité de différenciation.
Rohrich et al.2004[70]	Trois sites donneurs : genou, flanc et abdomen.		Aucune différence statistique dans la viabilité.	
Di Taranto etal.2015[68]	Graisse abdominale superficielle ou profonde			La graisse superficielle augmente la capacité de différenciation

4.3 Volume du tissu adipeux prélevé et nombre des CSM injectées :

Dans notre série, le volume du tissu adipeux prélevé chez nos patients varie entre 40 et 60 ml, avec une moyenne de 51,5 ml, dont la quantité de cellules souches à isoler > 2 million.

Dans l'étude S.D. Dave, 2g du tissu adipeux a été réséqué de la paroi abdominale antérieure des donneurs, et envoyé au laboratoire afin d'extirper des cellules souches avec des numérations de $1.2 \times 10^3/\mu\text{l}$ (fourchette : 0,5 à $2,1 \times 10^3/\mu\text{l}$).[106]

L'étude de Umang G. Thakkar a rapporté que les patients ont reçu une moyenne de 103,14 ml de CS avec $2,65 \pm 0,8 \times 10^4$ cellules /kg de poids corporel.[98]

Karina R. Sliva, a piloté une étude prospective, dans laquelle des patients atteints d'un DT1 d'apparition récente ont reçu des ASC (1×10^6 cellules/kg) et du cholécalférol 2000 UI/jour pendant 3 mois, à partir d'une quantité moyenne de 100 ml de tissu adipeux.[121]

En dernier lieu, les patients de l'étude de H.L. Trivedi, ont reçu une injection intra portale de MSC libre xénogénique (dose moyenne = 1,5 ml), dont le nombre de CSM était de $2,1 \times 10^3/\mu\text{l}$. [119]

Tableau XXVIII : Les résultats de différentes séries concernant le volume moyen du tissu adipeux prélevé et le nombre des CSM injectées.

Série	Le volume moyen du tissu adipeux prélevé	Le nombre des CSM injectées
S.D.Dave	2 g	$1.2 \times 10^3/\mu\text{l}$
Umang G.Thakkar	-	$2,65 \pm 0,8 \times 10^4$ cellules /kg
Karina R.Sliva	100 ml	1×10^6 cellules/kg
H.L.Trivedi	-	$2,1 \times 10^3/\mu\text{l}$
Notre série	51,5 ml	> 2 millions

4.4 Le protocole d'isolement des cellules souches mésenchymateuses d'origine adipeuse :

Le protocole rapporté par Zuk et al . est celui le plus largement utilisé pour l'isolement des CSMA. Plusieurs procédures expérimentales modifiées ont été proposées [90][91].

Cependant, il y a eu peu d'études comparant l'efficacité des différentes méthodes, mais aucune méthode standardisée n'a été définie [93]

Selon cette méthode, [94] Les CSMA sont isolées du tissu adipeux blanc. Le tissu adipeux est lavé plusieurs fois avec des volumes égaux de solution saline tamponnée au phosphate, puis haché en petits morceaux avant de subir une digestion enzymatique à 37 °C pendant 30 minutes avec de la collagénase de type II à 0,075 %.

Après digestion, le culot résultant donne une population hétérogène de plusieurs types de cellules, qui constitue la fraction vasculaire stromale (SVF). Environ 2 à 6 millions de cellules dans le SVF peuvent être obtenues dans 1 ml de lipoaspirat. Un milieu de Eagle's modifié de Dulbecco (DMEM) contenant 10% de sérum bovin fœtal (SBF) est ajouté pour neutraliser l'activité enzymatique. La suspension cellulaire est centrifugée à 1200×g pendant 10 minutes pour obtenir un SVF de haute densité. Le surnageant est éliminé et le culot du SVF est remis en suspension dans du NH₄Cl incubé à température ambiante pendant 10 min pour éliminer les érythrocytes.

Le SVF est collecté par centrifugation puis filtré à travers une maille de 100 µm pour éliminer les fragments de tissus non digérés incubé à 37 °C pendant la nuit dans un milieu témoin (DMEM, 10 % de SBF, 500 UI de pénicilline, et 500 µg de streptomycine) avec 5 % de CO₂. Les CSMA sont obtenues en tant que population adhérent au plastique après une nuit de culture.

Les échantillons ont été cultivés dans un milieu de contrôle pendant 72 h avant l'analyse par cryométrie en flux. Les cellules ont été récoltées dans de la trypsine /EDTA à 0,25 % et fixées pendant 30 minutes dans du formaldéhyde à 2 % glacé. Après la fixation, les cellules ont été lavées dans un tampon de cryométrie en flux.

En outre, les cellules ont également été marquées, afin d'identifier les cellules mésenchymateuses.

Pour évaluer la viabilité, des échantillons en double ont été prélevés, fixés pendant 30 minutes avec du paraformaldéhyde à 1 % glacé, perméabilisés et incubés avec de l'iodure de

propidium (PI) à une concentration de 25 mg/mL. Les débris et les cellules mortes ont été exclus en éliminant les événements PI-positifs. Tous les échantillons ultérieurs ont été corrigés en conséquence.

En 2016, Raposi et al . ont décrit la procédure d'isolement réalisée par un processus d'isolement à la fois mécanique (centrifugation) et enzymatique (collagénase), et ont comparé les résultats obtenus par chaque technique.

La procédure enzymatique ME , qui a été spécifiquement conçue pour une application clinique, s'est avérée facile, sûre et rapide (80 min), permettant la collecte d'un culot de CSMA's prêt à l'emploi.

La salle d 'opération a été équipée d 'une centrifugeuse et d'un incubateur. Après une liposuction conventionnelle, le tissu adipeux récolté (100 ml) a subi une première centrifugation (1600 RPM 6 min), obtenant environ 50 ml de tissu adipeux concentré de grande qualité, qui a été mélangé avec 50 ml de solution de digestion à la collagénase , préalablement diluée avec une solution saline phosphate-buffered stérile (PBS).

La solution obtenue (lipoaspirat+solution de digestion à la collagénase) a ensuite été incubée pendant 30 min à 37 C dans un incubateur -secoueur et elle a été centrifugée à 200 force centrifuge relative pendant 4 min.

Par la suite , seulement 10 mL de SVF ont été laissés et lavés 2 fois, chaque fois avec 45 ml solution saline . Après chaque lavage , les seringues contenant le SVF ont été positionnées à l'intérieur de la centrifugeuse à une force centrifuge relative de 200 pendant 4 minutes.

Le culot cellulaire au fond de la seringue a alors été prêt à être utilisé , véhiculé par 5 ml de solution saline . L'ensemble du processus a été réalisé dans un système en circuit fermé , ce qui a garanti la stérilité et la sécurité.

Le processus d 'isolement mécanique MC a été réalisé par un agitateur vibrant et une centrifugeuse tous deux placés dans un banc à flux d 'air laminaire . Après la liposuction , le tissu graisseux (80 ml) a été recueilli dans huit tubes à essai en plastique de 10 ml, placés dans l'agitateur vibrant à 6000 vibrations/minute pendant 6 min, et immédiatement après ,

centrifugé à 1600 rpm pendant 6 min. Par la suite, toujours sous la même enceinte à flux laminaire, le culot au fond de chaque tube est recueilli au moyen d'un système de pipetage automatisé et versé dans une seringue de 10 ml.

Dans les deux procédures, le pourcentage de cellules vitales était de 99%. Avec la procédure ME, une moyenne de $9,06 \times 10^5$ CSMAs a été collecté à partir de 100 ml de lipoaspirat, ce qui correspond à 25,9 % du nombre total de cellules prélevées.

Avec la procédure MC, une moyenne de 5×10^5 CSMAs a été collecté à partir de 80 ml de lipoaspirat, ce qui correspond à 5 % du nombre total de cellules prélevées.

En se basant sur les données recueillies, à partir de la même quantité de lipoaspirat, la procédure ME s'est avérée plus efficace et a permis d'isoler un plus grand nombre de CSMAs (25,9%) que la procédure MC (5%).

Concernant notre étude, l'isolement des CSMAs a été réalisé après décantation, lavage et digestion enzymatique par collagénase type I et II et centrifugation, en se basant sur la méthode enzymatique décrite Raposi et al, sans mise en culture des CSMAs, les échantillons ont été analysés par la suite, par Cryométrie en flux.

6. Les incidents post-greffe des CSM :

Dans la littérature, l'étude de Debora B. Araujo [121], a montré qu'aucun événement indésirable grave n'a été observé après greffe des cellules souches dérivées du tissu adipeux et supplémentation en vitamine D. Les patients ont présenté les effets indésirables transitoires immédiats suivants : céphalées transitoires (n = 8), réactions locales légères à la perfusion (n = 7), tachycardie (n = 4) et crampes abdominales (n = 1).

En outre, selon les résultats de l'étude de Per-Ola Carlsson [123], tous les patients (n = 10) qui ont reçu le traitement autologue avec des CSM ont bien toléré la procédure. Aucun effet secondaire ou complication aigüe n'a été observé, notamment pas d'épisodes d'acidocétose hyper-glycémique ou d'hypoglycémie assistée. Ainsi qu'au cours de la 1ère année, aucune tumeur ou infection chronique n'a été diagnostiquée chez les patients de l'étude.

Sagar Jawale [171] a signalé par son étude quelques effets secondaires notés après la thérapie par cellules souches, mais ils étaient en grande partie autolimités et de nature mineure. 3 patients (14,2%) ont eu une légère éruption cutanée qui a disparu sans aucun traitement. 5 patients (23,8 %) ont eu des douleurs postopératoires qui ont complètement disparu avec une dose unique de Diclofenac comme analgésique. 2 patients (9,5%) ont eu des nausées légères qui n'ont nécessité aucun traitement.

Ces résultats concordent avec les données rapportées dans notre étude, aucun patient n'a présenté des incidents majeurs (épisodes d'acidocétose hyper-glycémique ou d'hypoglycémie assistée) ou mineurs notamment pas de vomissements ni de réaction cutanée, en dehors des nausées légères, et des douleurs au moment de la transfusion du concentré des CSM présentés chez 25% des patients.

Tableau XXIX : Les résultats de différentes séries concernant Les incidents post-greffe des CSM.

Série	Les incidents mineurs	Les incidents majeurs
Debora B.Araujo	<ul style="list-style-type: none"> • Céphalées transitoires (n = 8) • Réactions locales légères à la perfusion (n = 7) • Tachycardie (n = 4) • Crampes abdominales (n = 1) 	RAS
Per-Ola Carlsson	RAS	RAS
Sagar Jawale	<ul style="list-style-type: none"> • Une légère éruption cutanée (14,2%) • Douleurs postopératoires (23,8 %) • Nausées légères (9,5%) 	RAS
Notre série	<ul style="list-style-type: none"> • Nausées légères (25%) • Douleurs au moment de la transfusion (25%) 	RAS

7. La durée de suivi des patients après la greffe des CSM :

Dans notre étude, on a établi un suivi trimestriel pour les patients, sur une durée d'un an, allant du 1 Juillet 2021 au 1 Juillet 2022.

Cela concorde avec les données rapportées dans l'étude de A.V. Vanikar, Umang G. Thakkar, et Per-Ola Carlsson, chez qui la durée de suivi était également un an après la greffe des CSM.[85][98][123]

Contrairement aux autres études qui ont établi un suivi plus long allant jusqu'à quatre ans, ou plus court de trois mois.

Tableau XXX : La durée de suivi des patients après la greffe des CSM des différentes séries.

Série	La durée de suivi des patients après la greffe des CSM
A.V.Vanikar[85]	12 mois
Umang G.Thakkar[98]	12 mois
Per-Ola Carlsson[123]	12 mois
Sagar Jawale[171]	4 ans
Joana R.Dantas[121]	3 mois
Notre série	12 mois

IV. Perspectives :

1. Sécurité et contrôle de la qualité des CSM :

Même si les perspectives qu'offrent ces cellules paraissent très prometteuses, il ne faut pas perdre de vue les problèmes de sécurité que représente encore leur administration aux patients.

Parmi les questions susceptibles de modifier les modalités voire la possibilité même d'utiliser ces cellules en clinique, la sécurité est à notre sens la plus importante. Il a été montré sur des modèles murins que les CSM pouvaient représenter un risque dans le domaine de la cancérologie, à la fois par leur capacité à diminuer la réaction immunitaire de l'hôte contre une tumeur, par leur capacité à favoriser la vascularisation d'un tissu ischémique, par l'inhibition de l'apoptose de cellules tumorales mais également par leur capacité de transformation propre, vraisemblablement accentuée par la mise en culture [71].

Si le suivi de nombreux patients inclus dans les différents essais devrait permettre de quantifier ce risque d'apparition accrue de cancers, différentes voies d'investigation visent déjà à diminuer voire à éliminer ce risque.

2. Optimisation des modes d'utilisation de CSM :

Concernant les types cellulaires existant, une multiplicité de modèles précliniques sera probablement nécessaire afin d'optimiser leur utilisation.

Pour chaque pathologie, il faudra établir quelles CSM (autologues ou allogéniques) seront les plus efficaces. Les différences inter-individuelles importantes sur des paramètres comme la prolifération ou les profils de sécrétions (données personnelles), permettraient potentiellement la sélection de CSM plus efficace sans nécessité de modifications génétiques. Les notions de quantités de cellules vivantes injectées ainsi que le mode d'utilisation le plus efficace restent le plus souvent à déterminer. Il est possible que l'environnement dans

lesquelles les CSM sont injectées ne permette pas leur survie , ou modifie leur phénotype par rapport à ce qui était souhaité

Les facteurs sécrétés in vitro par les CSM sont modulables, car l'environnement dans lequel elles se trouvent est contrôlé, ceci représente un intérêt thérapeutique important. En effet, l'administration du sécréta en substitut des cellules permettrait d'éviter une partie des problèmes d'immunisation et de tumorigenèse. Cependant, l'inconvénient est que le sécréta , à la différence des cellules douées d'une certaine plasticité , n'est pas modulable in situ . D'autre part, en vue de prévenir l'influence d'un environnement délétère, la pré-différenciation des CSM est actuellement envisagée comme un moyen de leur permettre de survivre (pré-culture en normoxie tissulaire pour éviter le passage brutal de 20% d'O₂ à moins de 1-2% [66], ou d'orienter leur profil de sécrétions. [67]

3. Les dérivés des CSMA AT, CM, Exosomes :

Les dérivés sans cellules adipeuses ont récemment attiré l'attention en tant qu'agents thérapeutiques potentiels pour diverses maladies humaines . Ces dérivés comprennent le milieu conditionné des CSMA (ADSC-CM), les exosomes des CSMA (ADSCExo), et les extraits de tissu adipeux sans cellules (ATE), qui peuvent tous être transportés, stockés et acheminés facilement.

Actuellement, la recherche sur le milieu conditionné des CSMA (ADSC-CM) et les exosomes des CSMA (ADSC-Exo) est en plein essor.

En outre, les extraits de tissu adipeux (ATE) exempts de cellules, obtenus par des méthodes purement physiques, sont devenus le centre d'intérêt de la recherche ces dernières années.[157]

Les dérivés sans cellules adipeuses comprennent les ADSC-CM, les ADSC-Exo et les ATE. L'ADSC-CM, qui contient des substances actives sécrétées par les CSMA, telles que des

cytokines, des exosomes, de l'ADN et de l'ARN, peut favoriser la réparation des tissus et réguler l'immunité [45].

Les ADSC -Exo sont des vésicules extracellulaires qui transportent des protéines , de l'ARN, de l'ADN et des molécules lipidiques ; elles peuvent pénétrer les barrières tissulaires physiologiques et participer à l'échange de matériaux et d'informations entre les cellules [46]. Comme les dérivés sans cellules adipeuses ne contiennent pas de cellules et ne peuvent donc pas contribuer activement à la tumorigenèse , ils peuvent être utilisés pour l'allo-génique transplantation. Les dérivés sans cellules adipeuses sont faciles à transporter et à stocker ; ils présentent un large potentiel thérapeutique pour le traitement de maladies telles que le vieillissement de la peau , la réparation des plaies , la réparation des cicatrices et la régénération

En comparant les trois dérivés acellulaires , par rapport à la thérapie par cellules souches, les trois dérivés ne contiennent pas de cellules . L'ADSC-CM contient principalement des cytokines, des exosomes et des exosomes sécrétés par les CSMA.

Les exosomes transportent principalement des protéines sécrétées par les CSMA et des molécules actives telles que les ARNm, les microARN, les lncARN, l'ADN, etc..., qui sont internalisées par les cellules réceptrices grâce à la liaison récepteur -ligand ou la fusion avec la membrane plasmique et le mécanisme d'endocytose pour échanger des protéines et de gènes [158], favorisant ainsi la réparation de dommages tissulaires . L'ATE est plus facile à obtenir et est plus riche en cytokines et de vésicules extracellulaires. Par conséquent, on peut supposer que ces dérivés sont non immunogènes, ce qui peut favoriser leur utilisation dans la même espèce ou dans différentes espèces. Deuxièmement, l'utilisation de dérivés sans cellules permet de surmonter des problèmes tels que le faible taux de survie des cellules implantées ou le risque potentiel de tumorigenèse.

En outre , les dérivés acellulaires ne nécessitent pas l'utilisation d'une solution de cryoconservation des cellules , sont faciles à stocker et à transporter, et présentent de grands

avantages pour les applications cliniques. Cependant, leur application pose certains problèmes. Par exemple, comme les dérivés acellulaires ne contiennent pas de cellules, l'efficacité de ces dérivés n'est pas aussi bonne que celle de la thérapie par cellules souches et de multiples injections multiples sont nécessaires pour obtenir de meilleurs effets thérapeutiques.

En outre, les principales molécules fonctionnelles de l'ADSC-Exo ne sont pas encore clairement définies et il n'existe actuellement aucune méthode unifiée de dosage et de méthode d'administration, de dosage, ou de stockage des dérivés acellulaires.

4. Nouveaux modes d'utilisation des CSM :

Après la thérapie cellulaire dans laquelle des cellules isolées vont remplacer des cellules défectueuses, recréer une matrice ou agir indépendamment de leur localisation, l'ingénierie tissulaire permet de pallier la dysfonction d'organes dont l'architecture joue un rôle fonctionnel. En effet, la réparation d'une lésion passe souvent par des phénomènes de cicatrisation, aboutissant à une altération de l'architecture, à la différence de l'organogenèse, ou de la réparation sans cicatrisation de tissus fœtaux lésés.

L'ingénierie tissulaire à base de CSM a pour but d'apporter un tissu ayant une architecture fonctionnelle en remplaçant le processus de cicatrisation. Les tissus actuellement ciblés sont ceux pour lesquels la différenciation des CSM est la plus facile, et dont l'architecture est relativement simple, c'est-à-dire le cartilage articulaire et l'os [68].

Les connaissances sur la composition des matrices extracellulaires de différents tissus, des types cellulaires interagissant au sein d'un tissu ainsi que l'amélioration des procédés techniques permettent de penser que les CSM ont leur place dans ces matrices en tant que cellules différenciées, en diminution d'une réaction d'allo-immunisation, ou en tant que source d'un gradient de chimiokines attirant des progéniteurs autologues. Le remplacement de tissus ne faisant pas encore l'objet d'essais cliniques comme le derme semblent faire partie des possibilités d'utilisation des CSM à court terme.

La modification génétique ex vivo des CSM a déjà fait l'objet de multiples essais précliniques. Ces modifications ont pour but de moduler le comportement des CSM, ou de les faire sécréter des facteurs au tropisme local ou systémique [69].

La modulation de comportement des CSM vise à permettre une meilleure survie (par surexpression de Akt ou Bcl 2 par exemple), migration (CXCR-4), ou à permettre leur différenciation ainsi que celle des cellules de voisinage (BMP2, BMP4).

L'adressage des CSM vers les cellules tumorales , bien qu'il soit à la base d'un effet plutôt délétère des CSM, pourrait être mis à profit en immunothérapie afin de favoriser la réaction anti-tumorale, en transfectant des CSM par le gène de l'IL-2 par exemple.

Enfin, les CSM peuvent aussi être vues comme usines à protéines , par exemple après transfection du gène codant pour cette protéine (EPO) dans le cas d'anémies. La transfection du master gène commandant une transdifférenciation comme PDX 1 permet in vitro et in vivo de faire sécréter de l'insuline de façon régulée par des CSM.

Enfin, les capacités stromales des CSM commencent également à être mises à profit par leur utilisation en tant que « feeder » pour différents types cellulaires utilisables à plus ou moins court terme en thérapeutique, comme des cardiomyocytes, ou des kératinocytes [70].

5. Nouvelles indications cliniques :

De nouvelles indications cliniques potentielles se profilent au vu des données précliniques. Dernièrement, la capacité des CSM à moduler la réaction inflammatoire et la survie de cellules pré-apoptotiques, que ce soit directement ou par l'inhibition de réactions immunitaires délétères a permis d'envisager l'utilisation de CSM au cours de différentes dysfonctions d'organes, allant du syndrome de détresse respiratoire aigu (SDRA) au choc septique [71] [72].

6. Perspectives au service d`Endocrinologie et Diabétologie :

Dans la littérature, la majorité des essais cliniques ont opté pour la greffe des cellules souches mésenchymateuses après leur mise en culture, avec un taux de réussite important au profit des patients.

Dans ce sens, notre service opte également pour le développement de la technique de culture des CSM dans un milieu spécialisé au centre de recherche en médecine régénérative, durant une période bien déterminée, puis les greffer aux patients, dont l`objectif ultime est d`orienter ces CSMs vers l`organe cible qui est le pancréas, et par conséquent maximiser les chances de différenciation en cellules bêta pancréatiques capable de sécréter de nouveau l`insuline.

CONCLUSION

Les cellules souches mésenchymateuses représentent un traitement de plus en plus étudié contre de nombreuses maladies dont le diabète de type 1. Ces cellules sont théoriquement capables de se différencier en plusieurs types cellulaires et de se multiplier indéfiniment.

Au cours de cette décennie les domaines d'applications thérapeutiques futures des CSMA se sont grandement étoffés. Initialement envisagées sous l'angle de la réparation squelettique, elles sont aujourd'hui proposées dans d'autres domaines comme l'immunologie de la greffe et des maladies auto-immunes, les pathologies ischémiques ou dégénératives.

La facilité de récolte et d'isolement, l'abondance des CSMA, leur potentiel de différenciation en multiples lignées, la sécrétion de diverses cytokines, ainsi que leurs effets immuno-modulateurs, mettent les CSMA en première ligne en terme de thérapie cellulaire et de régénération tissulaire et ouvrent de belles perspectives d'avenir pour toutes les disciplines médicales non seulement pour la diabétologie.

Les résultats obtenus de l'injection des CSMA dans la plupart des études, y compris la nôtre sont des résultats très satisfaisants et très encourageants. C'est une thérapie performante que nous recommandons pour les différentes indications précitées.

Cependant, et bien que la plupart des résultats rapportés ont été positifs, nos connaissances et notre utilisation du pouvoir de régénération du tissu adipeux est encore à ses débuts et d'autres études sont nécessaires pour obtenir, entre autres, une uniformité du protocole d'isolement, d'administration, et explorer la sécurité à long terme des CSMA.

Ainsi que 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.

Enfin, il n'y a toutefois pas de doute que ces études précliniques permettront de tirer le meilleur parti du potentiel de ces cellules dans des cadres pathologiques eux-mêmes de plus en plus nombreux. Ainsi que, les avancées des connaissances sur leurs mécanismes d'action permettront à l'avenir de mieux orienter les essais et d'améliorer leur efficacité.

RESUMES

Résumé

Contexte :

La facilité de récolte et d'isolement, l'abondance des CSMs, leur potentiel de différenciation en multiples lignées, la sécrétion de diverses cytokines, ainsi que leurs effets immuno-modulateurs, mettent les CSMs en première ligne en terme de thérapie cellulaire et de régénération tissulaire et ouvrent de belles perspectives d'avenir pour toutes les disciplines médicales non seulement pour la diabétologie.

Objectif :

L'objectif de notre étude est de mettre le point sur l'apport des cellules souches mésenchymateuses provenant du tissu adipeux ou de la moelle osseuse de nos patients, dans l'amélioration de la prise en charge du diabète de type 1 de découverte récente, afin d'avoir un équilibre glycémique optimal.

Patients et méthodes :

Il s'agit d'une étude pilote prospective transversale descriptive, portant sur une série de 4 patients diabétiques type 1 nouvellement diagnostiqués, ayant bénéficié d'une extraction du tissu adipeux, et ponction de la moelle osseuse avec isolement des cellules souches mésenchymateuses et une injection unique et intraveineuse des CSMs en association avec du plasma riche en plaquettes, durant une période de 12 mois, s'étalant du juillet 2021 au juillet 2022.

Notre étude est colligée au service d'Endocrinologie et de Diabétologie de CHU Mohammed VI de Marrakech, en collaboration avec le service de chirurgie plastique, réparatrice, esthétique et brûlés, ainsi que le centre de médecine régénérative du CHU Mohammed VI de Marrakech.

Résultats :

- L'âge moyen de nos patients était de 20.5 ans avec des extrêmes allant de 11 ans à 34 ans.
- Notre étude dénombrait au total 2 femmes et 2 hommes avec un sexe ratio de 1.
- La durée moyenne d'évolution du diabète chez nos patients était de 2,45 ans avec des extrêmes allant de 10 mois à 5 ans.
- tous les patients avaient un IMC pré-greffe normal, dont la moyenne est de 20.5 kg/m²
- Le prélèvement est effectué à partir du tissu adipeux chez 75% des patients en chirurgie plastique, et par ponction de la moelle osseuse chez 25% des patients en traumatologie.
- Toutes les interventions ont été réalisées par liposuction tumescence.

- Le site du prélèvement du tissu adipeux est effectué au niveau de : la paroi abdominale sous ombilical, la face interne des cuisses ainsi que la face interne des deux genoux.
- Le volume moyen du tissu adipeux prélevé était de 51,5 mL, avec des extrêmes allant de 40ml à 60 ml.
- Le volume des prélèvements du Plasma riche en plaquettes était de 48 mL pour tous les patients.
- L'isolement des cellules mésenchymateuses a été réalisé par digestion enzymatique.
- La quantité moyenne de rendement de CSMA à partir du tissu adipeux récolté, a été > 2 million de CSMA, pour la totalité des patients.
- La durée moyenne de la transfusion de la solution des CSM diluée dans 100 cc du SSI était de 40 min.
- aucun patient n'a présenté des incidents majeurs ou mineurs après la transfusion, en dehors des nausées légères, et des douleurs au moment de la transfusion du concentré des CSM présentés chez 25% des patients
- Le suivi post-greffe était trimestriel avec un minimum de 5 mois et un maximum de 12 mois.
- La glycémie à jeun et postprandiale, les taux d'HbA1C et de la peptide C, le poids du patient et son IMC, le besoin quotidien total en insuline (basale et rapide), et les complications aiguës : étaient les principales variables à comparer.
- Les besoins moyens en insuline ont diminué chez la majorité des patients après la greffe des cellules souches mésenchymateuses. Le besoin moyen en insuline basal a diminué de 0.29 à 0.28 ui/kg/j, ainsi que le besoin moyen en insuline rapide a diminué de 0.3 à 0.27 ui/kg/j.
- Le taux d'HbA1c a baissé chez la totalité des patients, passant d'une HbA1c moyenne pré-greffe de 8.82 à 7.07% après traitement par CSM.
- Après un an de la thérapie par greffe de CSM, les GÀJ et les GPP ont régressés pour la totalité des patients de notre étude, passant d'une GÀJ moyenne pré-greffe de 1.35 à 1.18 g/l, et d'une GPP moyenne pré-greffe de 2.16 à 1.49 g/l.
- Au bout de 2ème mois post-greffe, on a constaté une augmentation des niveaux de peptide C chez 50% des patient qui a doublé de valeur en passant de 0,16 à 0,29 ng/ml chez le premier cas, et de 0,34 à 0,67 ng/ml chez le troisième cas, avec une moyenne de 0.14 ng/ml en pré-greffe, passant à 0.33 ng/ml en post-greffe.

Conclusion :

La thérapie cellulaire par CSMA constitue un nouvel espoir non seulement en diabétologie, mais également dans d'autres disciplines médicales, grâce à leur principal potentiel de différenciation en multiples lignées.

Abstract

Background:

The ease of harvesting and isolation, the abundance of AMSCs, their potential to differentiate into multiple lineages, the secretion of various cytokines, as well as their immunomodulatory effects, put AMSCs at the forefront in terms of cell therapy and tissue regeneration and open up great future prospects for all medical disciplines not only for diabetology.

Objective:

The objective of our study is to evaluate the contribution of mesenchymal stem cells from adipose tissue or bone marrow in our patients, in order to improve the management of type 1 diabetes of recent discovery, in order to have an optimal glycemic balance.

Patients and methods:

This is a prospective descriptive cross-sectional pilot study, involving a series of 4 newly diagnosed type 1 diabetic patients, who underwent adipose tissue extraction and bone marrow aspiration with isolation of mesenchymal stem cells and a single intravenous injection of BMSCs in combination with platelet-rich plasma, during a 12-month period, from July 2021 to July 2022.

Our study is collated at the Endocrinology and Diabetology Department of CHU Mohammed 6 of Marrakech, in collaboration with the Plastic, Reconstructive, Aesthetic and Burns Surgery Department, as well as the Regenerative Medicine Center of CHU Mohammed VI of Marrakech.

Results:

- The average age of our patients was 20.5 years with extremes ranging from 11 to 34 years.
- Our study counted a total of 2 women and 2 men with a sex ratio of 1.
- The average duration of diabetes in our patients was 2.45 years with extremes ranging from 10 months to 5 years.
- All patients had a normal pre-transplant BMI, with an average of 20.5 kg/m²
- Harvesting was performed from adipose tissue in 75% of plastic surgery patients, and by bone marrow puncture in 25% of trauma patients.
- All procedures were performed by tumescent liposuction.
- The site of the fat removal was the abdominal wall under the umbilical, the inner side of the thighs and the inner side of both knees.
- The average volume of fat tissue collected was 51.5 mL, with extremes ranging from 40 mL to 60 mL.
- The volume of platelet-rich plasma samples was 48 mL for all patients.
- Isolation of mesenchymal cells was performed by enzymatic digestion.

- The average yield of AMSCs from harvested adipose tissue was > 2 million AMSCs for all patients.
- The average duration of transfusion of the MSC solution diluted in 100 cc of ISS was 40 min.
- No patient presented major or minor incidents after the transfusion, apart from mild nausea and pain at the time of the MSC concentrate transfusion presented in 25% of patients.
- Post-transplant follow-up was quarterly with a minimum of 5 months and a maximum of 12 months.
- Fasting and postprandial blood glucose, HbA1C and C-peptide levels, patient weight and BMI, total daily insulin requirement (basal and rapid), and acute complications were the main variables to be compared.
- Mean insulin requirements decreased in the majority of patients after mesenchymal stem cell transplantation. The mean basal insulin requirement decreased from 0.29 to 0.28 ui/kg/d, as well as the mean rapid insulin requirement from 0.3 to 0.27 ui/kg/d.
- HbA1c levels decreased in all patients, from a mean pre-transplant HbA1c of 8.82% to 7.07% after MSC therapy.
- After one year of MSC transplantation therapy, GAD and FPG decreased in all patients in our study, from a mean pre-transplant GAD of 1.35 to 1.18 g/l, and from a mean pre-transplant FPG of 2.16 to 1.49 g/l.
- After 2 months post-transplant, there was an increase in C-peptide levels in 50% of the patients which doubled in value from 0.16 to 0.29 ng/ml in the first case, and from 0.34 to 0.67 ng/ml in the third case, with an average of 0.14 ng/ml pre-transplant, increasing to 0.33 ng/ml post-transplant.

Conclusion:

Cell therapy with AMSCs is a new hope not only in diabetes, but also in other medical disciplines, thanks to their main potential of differentiation into multiple lineages.

ملخص

مقدمة:

إن سهولة العزل، ووفرة الخلايا الجذعية، وإمكانية تمايزها إلى سلالات متعددة، تضعها في طليعة العلاج بالخلايا وتجديد الأنسجة، وكذلك تفتح آفاقاً كبيرة للمستقبل لجميع التخصصات الطبية، وليس فقط لأمراض السكري.

الهدف:

الهدف من دراستنا هو تسليط الضوء على مساهمة الخلايا الجذعية المتوسطة المستخرجة من الأنسجة الدهنية أو نخاع العظام، في تحسين إدارة مرض السكري من النوع الأول، من أجل تحقيق التوازن الأمثل في نسبة السكر في الدم.

المرضى والطرق:

اطروحتنا عبارة عن دراسة استطلاعية وصفية مستعرضة، تتضمن سلسلة من 4 مرضى السكري من النوع الأول الذين تم تشخيصهم حديثاً، والذين خضعوا لاستخراج الأنسجة الدهنية، ونخاع العظم مع عزل الخلايا الجذعية المتوسطة وحقن هذه الخلايا في الوريد بالإضافة إلى البلازما الغنية بالصفائح الدموية، لمدة 12 شهراً، من يوليو 2021 إلى يوليو 2022.

تم تطبيق دراستنا في قسم أمراض الغدد والسكري في مركز المستشفى الجامعي بمراكش، بالتعاون مع قسم الجراحة التجميلية والترميمية وجراحة الحروق، بالإضافة إلى مركز الطب التجديدي بمركز المستشفى الجامعي بمراكش.

النتائج:

- متوسط عمر مرضانا هو 20.5 سنة مع حدود قصوى تتراوح من 11 سنة إلى 34 سنة.
- تم تضمين 4 مرضى في دراستنا. مقسمون الى 2 رجال و2 نساء بنسبة جنس 1 .
- كان متوسط مدة تطور مرض السكري لدى مرضانا 2.45 سنة مع فترات قصوى تتراوح من 10 أشهر إلى 5 سنوات.
- مؤشر كتلة الجسم كان طبيعياً لجميع المرضى بمتوسط 20.5 كجم / م².
- أخذت عينة من الأنسجة الدهنية لدى 75% من المرضى في قسم الجراحة التجميلية، ومن خلال نخاع العظم لدى 25% من المرضى في قسم جراحة العظام والمفاصل.
- أجري شفط الدهون تحت تخدير موضعي.
- تم إجراء أخذ عينات الأنسجة الدهنية على مستوى: جدار البطن أسفل السرة والوجه الداخلي للفخذين وكذلك الوجه الداخلي للركبتين.
- كان متوسط حجم عينة الأنسجة الدهنية 51.5 مل، مع حدود قصوى تتراوح من 40 مل إلى 60 مل.
- كان حجم عينات البلازما الغنية بالصفائح الدموية 48 مل لجميع المرضى.
- تم عزل الخلايا بواسطة الهضم الانزيمي.
- كان متوسط كمية الخلايا الناتجة من الأنسجة الدهنية المحصودة < 2 مليون لجميع المرضى.
- كان متوسط مدة نقل محلول الخلايا الجذعية المخفف 40 دقيقة.
- لم يسجل أي مريض حوادث كبيرة أو طفيفة بعد نقل محلول الخلايا الجذعية المخفف، باستثناء الغثيان الخفيف والألم أثناء نقل المحلول.
- كانت المتابعة بعد زرع الخلايا الجذعية كل ثلاثة أشهر.

- نسبة سكر الدم قبل وبعد الأكل، مستويات الهيموجلوبين السكري والبيتيد C، وزن المريض ومؤشر كتلة الجسم، متطلبات الأنسولين اليومية الكلية (القاعدية والسريعة)، والمضاعفات الحادة: كانت المتغيرات الرئيسية التي يجب مقارنتها.
- انخفض متوسط متطلبات الأنسولين لدى غالبية المرضى بعد زراعة الخلايا الجذعية، انخفض متوسط متطلبات الأنسولين القاعدية من 0.29 إلى 0.28 وحدة / كجم / يوم، وكذلك انخفض متوسط متطلبات الأنسولين السريعة من 0.3 إلى 0.27 وحدة / كجم / يوم.
- انخفض مستوى الهيموجلوبين السكري لدى جميع المرضى، حيث انتقل من متوسط 8.82% قبل العلاج إلى 7.07% بعد العلاج بالخلايا الجذعية.
- بعد سنة واحدة من العلاج بالخلايا الجذعية، تراجعت نسبة سكر الدم قبل وبعد الأكل لجميع المرضى في دراستنا.
- في نهاية الشهر الثاني بعد العلاج بالخلايا الجذعية، لوحظت زيادة في مستويات البيتيد C لدى 50% من المرضى، والتي تضاعفت قيمتها من 0.16 إلى 0.29 نانوغرام / مل في الحالة الأولى، ومن 0.34 إلى 0.67 نانوغرام / مل في الحالة الثالثة، بمتوسط 0.14 نانوغرام / مل قبل العلاج، إلى 0.33 نانوغرام / مل بعد العلاج.

الخلاصة:

يشكل العلاج الخلوي بواسطة الخلايا الجذعية أملاً جديداً ليس فقط في مرض السكري، ولكن أيضاً في التخصصات الطبية الأخرى، وذلك بفضل إمكانيتها الرئيسية للتمايز إلى سلالات متعددة.

ANNEXES

ANNEXES

Annexe 1 :

FICHE D'EXPLOITATION



Service d'endocrinologie, Diabétologie, Maladies Métaboliques et Nutrition

Projet d'étude de thérapie des patients DT1 par des cellules souches

Fiche d'exploitation

I. Identité :

- Nom et prénom :
- Date : N° d'entrée : N° téléphone :
- Age : sexe :
- Sécurité sociale :
- Niveau socioéconomique : Bas Moyen Elevé
- Milieu de vie : Urbain Rural

II. Histoire du diabète :

- La durée du diabète :
- Suivi assuré au niveau :
- Fréquence de l'auto surveillance :
- Les intervalles des glycémies capillaires :
- Dernière HbA1c :

- Mesures Hygiéno-diététiques :
 - Nombre de repas pris par jour :
 - Horaires de repas réguliers : OUI NON

- Activité physique :
 - L'intensité de l'activité physique : 1) Légère 2) Modérée 3) Moyenne 4) Intense 5) Très intense.
 - Nombre de minutes par jour consacrez vous à la marche :
 - Sports pratiqués :

- Traitement pharmacologique :
 - Type d'insuline :
 - Sites d'injections :
 - Règles de conservations :

- Décompensations acido-cétosiques :
 - Si oui combien de fois :
 - Circonstances de survenues :

- Les hypoglycémies :
 - Si oui combien de fois :
 - Horaire :
 - Circonstances de survenues :

III- Maladies auto-immune associées :

Oui Non si oui la ou lesquelles :

.....

IV- Autres maladies associées :

Oui Non si oui la ou lesquelles :

.....

V- Paramètres éligibles à l'inclusion des patients DT1 à la thérapie et au suivi post greffe :

➤ Paramètres pré-thérapeutique :

▪ Paramètres de base au démarrage :

- ✓ IMC :kg/m² TT : ...cm
- ✓ Dose d'insuline :U/j
- ✓ Holter glycémique (si disponible) :g/l
- ✓ Gc/4H pendant 3 jours

Dates	Gc/	Gc/	Gc/	Gc/	Gc/	Gc/
1 ^{er} jour						
2 ^e jour						
3 ^e jour						

- ✓ Peptide C de basenmol/l ;
 Peptide C 2h après ingestion de 75 g de glucose : ...nmol/l
- ✓ Ac anti GAD 65: U/ml
 Ac anti- ilotsU/ml
 Ac anti-IA2 :U/ml
 Ac anti ZnT8 :U/ml
- ✓ HbA1C : ...%

- ✓ Chol total: g/l; LDL: g/l, HDL: ...g/l, triglycérides:g/l
- ✓ Ac urique : ...mg/l
- ✓ Na+ : ...mmol/l ; K+ :mmol/l

▪ Paramètres de base au démarrage pour l'éligibilité des patients à l'étude :

- ✓ Sérologie : Hépatite B : négatif positif
- Hépatite C : négatif positif
- HIV : négatif positif
- Syphilis : négatif positif

- ✓ Troponines ultrasensible :ng/l
- ✓ ASAT :U/l , ALAT :U/l , GGT :U/l
- ✓ Creat:mg/l ; urée :g/l ;
Micro albuminurie :mg/24h
- ✓ NFS (GB:/mm³ ; Hb :.....g/dl ,(Ht :..... ;
VG :.....) ;Plt :...../mm³)
CRP :.....mg/l ; ECBU :
- Rx du thorax :
- ✓ Marqueurs tumoraux : AFP :U/ml ; Ca125 :.....U/ml , ;
ACE :.....U/ml ; CA15-3 :U/ml ; CA19,9 :.....U/ml
- ✓ Grossesse (fille) : BHCG :U/ml

➤ Compte rendu du déroulement de la greffe

- Date :
- Type de greffe :
.....
.....
- Technique :
.....
.....
.....
.....
.....

➤ Paramètres de suivi post greffe :

▪ **Pour la surveillance glycémique**

- ✓ Holter glycémique (si disponible) la première semaine
.....

- ✓ Gc/4H (veineuse et capillaire) les 3 premiers jours

Dates	Gc /	Gc/	Gc/	Gc/	Gc/	Gc/
1 ^{er} jour						
2 ^e jour						
3 ^e jour						
4 ^e jour						
5 ^e jour						
6 ^e jour						
7 ^e jour						

- ✓ Du 8^eme jour à 1 mois : GAJ et GPP veineuse / semaine

Semaines	GAJ	GPP
1 ^{ere} semaine		
2 ^e me semaine		
3 ^e me semaine		
4 ^e me semaine		

- ✓ Puis durant les 2 mois suivants : GAJ et GPP veineuse /15 jours

Quinzaine	GAJ	GPP
1 ^{ère} quinzaine		
2 ^e me quinzaine		
3 ^e me quinzaine		
4 ^e me quinzaine		

▪ Suivi trimestriel :

▪ Paramètres principaux :

Durée	2 mois	5 mois	8 mois	11 mois	14 mois
Paramètres					
Dose d'insuline U/j					
GAJ g/l					
GPP g/l					
Peptide C de base nmol/l					
Peptide C PP 2h après nmol/l					
HbA1C %					

▪ Paramètres accessoires :

Durée \ Paramètres	2 mois	5 mois	8 mois	11 mois	14 mois
IMC: kg/m ² TT cm					
Chol total g/l LDL g/l HDL g/l triglycerides g/l					
Acide urique mg/l					
Na+ mmol/l ; K+ mmol/l					
ASAT U/l , ALAT U/l , GGT U/l					
Creat mg/l urée g/l					
GB /mm ³ Hb g/dl Ht VGM Plt /mm ³					
CRP mg/l ;					

Annexe 2 :

FORMULAIRE DE CONSENTEMENT ÉCLAIRÉ DU PATIENT

Royaume du Maroc
Ministère de la Santé

Centre Hospitalier Universitaire
Mohammed VI
Marrakech



المملكة المغربية
وزارة الصحة

المركز الإستشفائي الجامعي
محمد السادس
مراكش

Projet de greffe des cellules souches mésenchymateuses

Consentement éclairé relative à la greffe des cellules souches du Diabète de type 1

Je soussigné(e) _____, porteur(se) de la carte d'identité nationale:
, être complètement consentant(e) à avoir une greffe autologue des cellules adipeuses, dans le cadre d'un protocole thérapeutique expérimental pour le diabète de type 1.

Cette décision est prise après information complète en lien avec le projet, son suivi et ses risques.

Cette démarche thérapeutique n'offre aucune certitude de résultats.

Annexe 3 :

FICHE MÉDICALE DU PATIENT



1. Identité :

- Nom/Prénom :
- Numéro de dossier :
- Date de naissance :
- Sexe : Homme Femme
- Statut marital : Célibataire Marié(e) Divorcé(e) Veuf(e)
- Profession :
- Sécurité sociale : RAMED CNOPS CNSS PAYANT
- Ville :
- Tel :

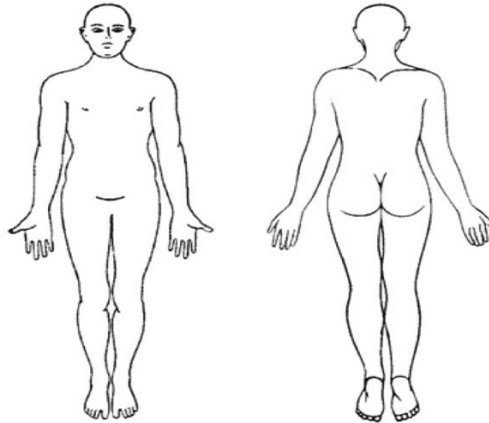
2. Antécédents :

- Médicaux :
- Chirurgicaux
- Familiaux :
- Habitudes toxiques :

3. Examen clinique :

- Examen général :
- T ° : FC : FR : TA :
- Taille : Poids : IMC :

- Examen local :
 - Ancienneté :
 - Localisation :
 - Étendue de la lésion (cm)



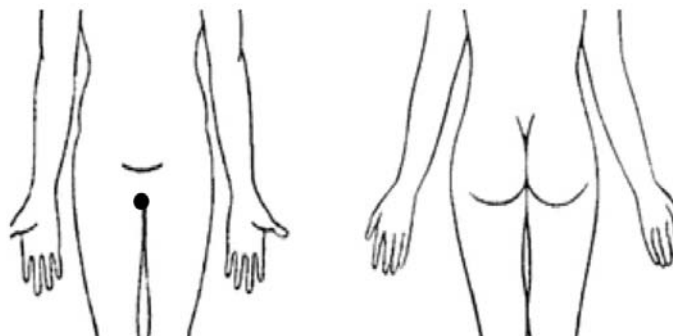
- Indication :

4. Paraclinique :

- Biologie :
- Bactériologie :
- Autres :

5. Zone donneuse :

- Site du prélèvement :
- Quantité de graisse prélevée :



6. Technique de liposuccion utilisée :

- Canule d'infiltration : Calibre :
- Solution d'infiltration : Klein : Autre :
- Canule de liposuccion : Calibre :
- Pression négative :

7. Résultats de Centre de médecine régénérative :

- Volume de CSMAs acheminé :
- Associé au PRP :
- Rendement en CSMAs viables/ml :
- Culture des CSMAs et potentiel de différenciation :

8. Procédure & Surveillance :

- J0(1eresé ancè) :
- 1 mois :
- 3 mois :
- 6 mois :

9. Évolution :

Mauvaise	Aucune	Bonne	Excellente
----------	--------	-------	------------

BIBLIOGRAPHIE

1. **Josué Kunjom Mfopou Luc Bouwen.**
Diabète: approches thérapeutiques émergentes Différenciation des cellules souches pluripotentes en cellules pancréatiques, « Diabète: approches thérapeutiques émergentes ». m/s n° 8-9, vol. 29, août-septembre 2013 DOI : 10.1051/medsci/2013298012.
2. **Zappia E, Casazza S, Pedemonte E, et al.**
Mesenchymal stem cells ameliorate experimental autoimmune encephalomyelitis inducing T-cell anergy. Blood 2005; 106: 1755-61.
3. **Morikawa S, Mabuchi Y, Kubota Y, et al.**
Prospective identification, isolation, and systemic transplantation of multipotent mesenchymal stem cells in murine bone marrow. J Exp Med 2009 ; 206 : 2483-96.
4. **Isabelle Lihrmann.**
Des cellules souches mésenchymateuses pour réparer les tissus :une réalité palpable, Correspondances en Métabolismes Hormones Diabète et Nutrition – Vol. XIV – n° 9 – novembre 2010.
5. **Kode JA, Mukherjee S, Joglekar MV et al.**
Mesenchymal stem cells: immunobiology and role in immunomodulation and tissue regeneration. Cytotherapy 2009;11(4):377-91.
6. **Friedenstein AJ, Chailakhyan RK, Latsinik NV, Panasyuk AF, Keilis-Borok IV.**
Stromal cells responsible for transferring the microenvironment of the hemopoietic tissues. Cloning in vitro and retransplantation in vivo. Transplantation 1974;17(4):331-40.
7. **Caplan AI.**
Mesenchymal stem cells. J Orthop Res 1991;9(5):641-50.
8. **Castro-Malaspina H, Gay RE, Resnick G et al.**
Characterization of human bone marrow fibroblast colony-forming cells (CFU-F) and their progeny. Blood 1980;56(2):289-301.
9. **Pittenger MF, Mackay AM, Beck SC et al.**
Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells. Science 1999;284(5411):143-7.
10. **Ohishi M, Schipani E.**
Épidémiologie du diabète de type 1 et de ses complications. Publié le 1 juin 2018, Mis à jour le 20 novembre 2019.
11. **Claire Briet, Clara Piffaretti, Sandrine Fosse, Pierre Denis.**
Épidémiologie du diabète de type 1 et de ses complications. La Revue du Praticien.Publié le 20 Juin 2018, 68(6);607-10
12. **Jesus Cardenas .**
Les différents types de diabète Mis à jour le 27/09/2019 à 15h52
13. **S.B. Gning, M. Thiam, F. Fall, K. Ba-Fall, P.S. Mbaye, L. Fourcade .**
Diabète sucré en Afrique Subsaharienne ,ASPECTS ÉPIDÉMIOLOGIQUES, DIFFICULTÉS DE PRISE EN CHARGE . Med Trop 2007 ; 67 : 607-611.

14. **F.Djrolo¹D.Houinato²A.Gbary³R.Akoha²O.Djigbéoudé²J.Sègnon².**
Prévalence du diabète sucré dans la population adulte à Cotonou, Bénin: Prevalence of diabetes mellitus in the adult population at Cotonou, Benin. Médecine des Maladies Métaboliques. Volume 6, Issue 2, March 2012, Pages 167–169
15. **Sauvanet A.**
Anatomie du pancréas. Dans : Imagerie de l'abdomen. Paris : Vilgrain V, Regent D.; 2010 p. 401–404.
16. **Atlas d'anatomie humaine Sobotta.**
Tome 2 Tronc, viscères, membre inférieur. 4^e édition française. Editions Médicales internationales.
17. **Marc Diedisheim.**
Analyse morphométrique et étude de la répartition des cellules bêta humaines entre la tête et la queue du pancréas Submitted on 19 Oct 2015. HAL Id: dumas-01217426.
18. **M. Dufresne.**
Docteur en sciences, directrice de recherche Inserm
Inserm UMR1037, Centre de recherche en cancérologie de Toulouse, Université Paul Sabatier, équipe Marqueurs et cibles pour les biothérapies des cancers digestifs, CHU Rangueil, bat L3, BP 84225, 31432 Toulouse cedex 4, France.
19. **Karen Leal Fischer , Manon Jaffredo , Jochen Lang et Matthieu Raoux.**
Cellules α et β du pancréas Meilleures ennemies ou partenaires pour la vie ?Pancreatic α and β cells: Best enemies or partners for life? Med Sci (Paris).Volume 37, Number 8–9, Août–Septembre 2021.
20. **World Health Organisation.**
Definition and Diagnosis of Diabetes Mellitus and Intermediate Hyperglycaemia: Report of a WHO/IDF Consultation. Geneva, Switzerland: World Health Organisation, 2006. Disponible sur : (https://www.idf.org/webdata/docs/WHO_IDF_definition_diagnosis_of_diabetes.pdf) (consulté le 30.01. 2017)
21. **Michael Weiss, Donald F Steiner, M.D., and Louis H Philipson, M.D., Ph.D.**
Insulin Biosynthesis, Secretion, Structure, and Structure–Activity Relationships. Last Update: February 1, 2014.
22. **Steiner, D.F. 1967.**
Evidence for a precursor in the biosynthesis of insulin. Trans. N. Y. Acad. Sci. 30:60–68.
23. **Blundell, T.L., Cutfield, J.F., Cutfield, S.M., Dodson, E.J., Dodson, G.G., Hodgkin, D.C., Mercola, D.A., and Vijayan, M. 1971.**
Atomic positions in rhombohedral 2–zinc insulin crystals. Nature 231:506–511.

24. **Brange, J., Ribel, U., Hansen, J.F., Dodson, G., Hansen, M.T., Havelund, S., Melberg, S.G., Norris, F., Norris, K., and Snel, L. 1988.**
Monomeric insulins obtained by protein engineering and their medical implications. *Nature* 333:679–682.
25. **Brange, J., and Vølund, A. 1999.**
Insulin analogs with improved pharmacokinetic profiles. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 35:307–335.
26. **Couper JJ, Haller MJ, Ziegler A–G, Knip M, Ludvigsson J, Craig ME.**
Phases of type 1 diabetes in children and adolescents. *Pediatr Diabetes* 2014; 15 (20): 18–25.
27. **Watkins RA, Evans–Molina C, Blum JS, Dimeglio LA.**
Established and emerging biomarkers for the prediction of type 1 diabetes: a systematic review. *Transl Res* 2014;164(2):110–21.
28. **Dubois–Laforgue D.**
Progrès physiopathologique dans le diabète de type 1. *La revue du praticien* 2010 ;60 :166.
29. **Laure Catoire.**
Diabète à anticorps négatifs de l'enfant présentation, évolution et diagnostic étude d'une cohorte de patients rouennais. Submitted on 3 Nov 2014. HAL Id: dumas–01079563.
30. **Oram RA, Jones AG, Besser RE, Knight BA, Shields BM, Brown RJ et al.**
The majority of patients with long–duration type 1 diabetes are insulin microsecretors and have functioning beta cells. *Diabetologia* 2014 ; 57(1): 187–91.
31. **Noble JA, Valdes AM.**
Genetics of the HLA Region in the Prediction of Type 1 Diabetes. *Current Diabetes Reports* 2011;11(6):533–42.
32. **Hyttinen V, Kaprio J, Kinnunen L, Koskenvuo M, Tuomilehto J.**
Genetic Liability of Type 1 Diabetes and the Onset Age among 22,650 Young Finnish Twin Pairs: A Nationwide Follow–up Study. *Diabetes* 2003; 52(4) : 1052–5.
33. **De La Haye Saint Hilaire D, Moreau F, Sigrist S, Pinget M, Jeandidier N.**
Insulinothérapie: insuline ou analogues ? Injection ou perfusion ? Boucle ouverte ou boucle fermée ?
Médecine Nucléaire 2010 ; 34 (10) :583–8.
34. **Galloway J.**
New directions in drugs development: mixtures, analogues and modeling. *Diabetes Care* 1993;16:16–23.
35. **Beltrand J, Robert J–J.**
L'insulinothérapie en pédiatrie *Archives de Pédiatrie* 2013; 20: S131–5.
36. **Boileau P, Merle B, Bougnères PF.**
Traitement du diabète de l'enfant et de l'adolescent. *EMC – Pédiatrie– Maladies infectieuses* 2005;1–11.

37. Dorchy H.

Utilisation rationnelle des nouveaux analogues de l'insuline dans le traitement du diabète de type 1 chez les enfants et adolescents : expérience personnelle Archives de pédiatrie 2006; 13 :1275-82.

38. Estelle Habet.

De la pompe à insuline au pancréas artificiel Submitted on 4 Jul 2017. HAL Id: dumas-01555536.

39. Diabète.

Nouvelles technologies pour améliorer le suivi et la qualité de vie tiré de Le Webzine de la HAS, disponible à l'URL suivante: http://www.has-sante.fr/portail/jcms/c_2664181/fr/diabete-nouvelles-technologies-pour-ameliorer-le-suivi-et-la-qualite-de-vie, consulté le 09/12/2016.

40. Pompes à insuline extenes et implantables dans le diabète de type 1

bénéfices et perspectives, disponibles à l'URL suivante: <http://booksc.org/book/24739628/209f22>, consulté le 17/04/2017.

41. Dardour J-C.

Nouvelle approche anatomoclinique du tissu adipeux. Ann Chir Plast Esthétique 2012 Oct;57(5):454-64.

42. Mojallal A, Boucher F, Breton P, Braye F.

Tissu adipeux et ses applications en chirurgie plastique. EMC - Tech Chir - Chir Plast Reconstr Esthétique 2011 Jan;6(2):1-16.

43. Ryan TJ, Curri SB.

The structure of fat. Clin Dermatol. 1989 Oct;7(4):37-47.

44. Mojallal A, Foyatier J-L.

Historique de l'utilisation du tissu adipeux comme produit de comblement en chirurgie plastique. Ann Chir Plast Esthétique 2004 Oct;49(5):419-25.

45. Jurgens WJFM, Oedayrajsingh-Varma MJ, Helder MN, ZandiehDoulabi B, Schouten TE, Kuik DJ, Ritt MJPF, van Milligen FJ.

Effect of tissue-harvesting site on yield of stem cells derived from adipose tissue: implications for cell-based therapies. Cell Tissue Res. 2008 Jun;332(3):415-26.

46. Daher SR, Johnstone BH, Phinney DG, March KL.

Adipose Stromal/Stem Cells: Basic and Translational Advances: The IFATS Collection. Stem Cells. 2008 Oct 1;26(10):2664-5.

47. Varghese J, Griffin M, Mosahebi A, Butler P.

Systematic review of patient factors affecting adipose stem cell viability and function: implications for regenerative therapy. Stem Cell Res Ther. 2017 Dec;8(1):45.

48. **Kokai LE, Marra K, Rubin JP.**
Adipose stem cells: biology and clinical applications for tissue repair and regeneration. *Transl Res.* 2014 Apr;163(4):399–408.
49. **Mazini L, Rochette L, Amine M, Malka G.**
Regenerative Capacity of Adipose Derived Stem Cells (ADSCs), Comparison with Mesenchymal Stem Cells (MSCs). *Int J Mol Sci.* 2019 May 22;20(10):2523.
50. **Delorme B, Ringe J, Pontikoglou C, et al.**
Specific lineage–priming of bone marrow mesenchymal stem cells provides the molecular framework for their plasticity. *Stem Cells* 2009;27(5):1142–1151.
51. **Jung S, Sen A, Rosenberg L, et al.**
Identification of growth and attachment factors for the serum–free isolation and expansion of human mesenchymal stromal cells. *Cytotherapy* 2010;12(5):637–657.
52. **Pittenger MF, Mackay AM, Beck SC, et al.**
Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells. *Science* 1999;284(5411):143–147.
53. **Augello A, De Bari C.**
The regulation of differentiation in mesenchymal stem cells. *Hum Gene Ther* 2010. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gate2.inist.fr/pubmed/20804388> [Accé dé Septembre 18, 2010].
54. **Titushkin I, Sun S, Shin J, et al.**
Physicochemical control of adult stem cell differentiation: shedding light on potential molecular mechanisms. *J Biomed Biotechnol* 2010;2010:743476.
55. **Kuroda Y, Kitada M, Wakao S, et al.**
Unique multipotent cells in adult human mesenchymal cell populations. *Proc Natl Acad Sci USA* 2010;107(19):8639–8643.
56. **Phinney DG, Prockop DJ.**
Concise review: mesenchymal stem/ multipotent stromal cells: the state of transdifferentiation and modes of tissue repair—current views. *Stem Cells* 2007;25(11):2896–2902.
57. **Majumdar MK, Thiede MA, Haynesworth SE, et al.**
Human marrow–derived mesenchymal stem cells (MSCs) express hematopoietic cytokines and support long–term hematopoiesis when differentiated toward stromal and osteogenic lineages. *J Hematother Stem Cell Res* 2000;9(6):841–848.
58. **Gnecchi M, He H, Liang OD, et al.**
Paracrine action accounts for marked protection of ischemic heart by Akt–modified mesenchymal stem cells. *Nat Med* 2005;11(4):367–368.
59. **Spees JL, Olson SD, Ylostalo J, et al.**
Differentiation, cell fusion, and nuclear fusion during ex vivo repair of epithelium by human adult stem cells from bone marrow stroma. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003;100(5):2397–2402.
60. **Spees JL, Olson SD, Whitney MJ, et al.**
Mitochondrial transfer between cells can rescue aerobic respiration. *Proc Natl Acad Sci USA* 2006;103(5):1283–1288.

61. **Chen TS, Lai RC, Lee MM, et al.**
Mesenchymal stem cell secretes microparticles enriched in pre-microRNAs. *Nucleic Acids Res* 2010;38(1):215–224.
62. **Chen J, Park H, Addabbo F, et al.**
Kidney-derived mesenchymal stem cells contribute to vasculogenesis, angiogenesis and endothelial repair. *Kidney Int* 2008;74(7):879–889.
63. **Varghese J, Griffin M, Mosahebi A, Butler P.**
Systematic review of patient factors affecting adipose stem cell viability and function: implications for regenerative therapy. *Stem Cell Res Ther.* 2017 Dec;8(1):45.
64. **Padoin AV, Braga-Silva J, Martins P, Rezende K, Rezende AR da R, Grechi B, Gehlen D, Machado DC.**
Sources of Processed Lipoaspirate Cells: Influence of Donor Site on Cell Concentration: *Plast Reconstr Surg.* 2008 Aug;122(2):614–8.
65. **Faustini M, Bucco M, Chlapanidas T, Lucconi G, Marazzi M, Tosca MC, Gaetani P, Klingner M, Villani S, Ferretti VV, Vigo D, Torre ML.**
Nonexpanded Mesenchymal Stem Cells for Regenerative Medicine: Yield in Stromal Vascular Fraction from Adipose Tissues. *Tissue Eng Part C Methods.* 2010 Dec;16(6):1515–21.
66. **Karastergiou K, Fried SK, Xie H, Lee M-J, Divoux A, Rosencrantz MA, Chang RJ, Smith SR.**
Distinct Developmental Signatures of Human Abdominal and Gluteal Subcutaneous Adipose Tissue Depots. *J Clin Endocrinol Metab.* 2013 Jan;98(1):362–71.
67. **Schipper BM, Marra KG, Zhang W, Donnenberg AD, Rubin JP.**
Regional Anatomic and Age Effects on Cell Function of Human Adipose-Derived Stem Cells. *Ann Plast Surg.* 2008 May;60(5):538–44.
68. **Di Taranto G, Cicione C, Visconti G, Isgrò MA, Barba M, Di Stasio E, Stigliano E, Bernardini C, Michetti F, Salgarello M, Lattanzi W.**
Qualitative and quantitative differences of adipose-derived stromal cells from superficial and deep subcutaneous lipoaspirates: a matter of fat. *Cytotherapy.* 2015 Aug;17(8):1076–89.
69. **Satija NK, Singh VK, Verma YK, et al.**
Mesenchymal stem cell-based therapy: a new paradigm in regenerative medicine. *J Cell Mol Med* 2009;13(11–12):4385–4402.
70. **Laco F, Kun M, Weber HJ, et al.**
The dose effect of human bone marrow-derived mesenchymal stem cells on epidermal development in organotypic co-culture. *J Dermatol Sci* 2009;55(3):150–160.
71. **Christophe Martinauda, Cédric Thepenier, Marina Trouillasa, Juliette Peltzer, Georges Uzan, Marie-Caroline Le Bousse Kerdilès, Marie Prata, Jean-Jacques Lataillade,**
Les cellules souches mésenchymateuses: des cellules pour la médecine régénérative du futur? *REVUE FRANCOPHONE DES LABORATOIRES – DÉCEMBRE 2010 – N°427.*

72. **Né meth K, Leelahavanichkul A, Yuen PST, et al.**
Bone marrow stromal cells attenuate sepsis via prostaglandin E(2)-dependent reprogramming of host macrophages to increase their interleukin-10 production. *Nat Med* 2009;15(1):42-49.
73. **Thomson JA, Itskovitz-Eldor J, Shapiro SS, et al.**
Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts. *Science* 1998 ; 282 : 1145-7.
74. **Takahashi K, Tanabe K, Ohnuki M, et al.**
Induction of pluripotent stem cells from adult human fibroblasts by defined factors. *Cell* 2007 ; 131 : 861-72.
75. **Simonacci F, Bertozzi N, Grieco MP, Grignaffini E, Raposio E.**
Procedure, applications, and outcomes of autologous fat grafting. *Ann Med Surg.* 2017 Aug;20:49-60.
76. **Baeyens L, Bouwens L.**
Cellular plasticity of the pancreas. *Biol Chem* 2009 ; 390 : 995-1001.
77. **Houbracken I, Bouwens L.**
The quest for tissue stem cells in the pancreas and other organs, and their application in beta-cell replacement. *Rev Diabet Stud* 2010 ; 7 : 112-23.
78. **Scharfmann R.**
Du nouveau sur les cellules souches pancréatiques. *Med Sci (Paris)* 2004 ; 20 : 732-4.
79. **Mfopou JK, Bouwens L.**
Milestones of pancreatic beta cell differentiation from embryonic stem cells. *Adv Gene Mol Cell Ther* 2007 ; 1 : 161-71.
80. **Nostro MC, Keller G.**
Generation of beta cells from human pluripotent stem cells: potential for regenerative medicine. *Semin Cell Dev Biol* 2012 ; 23 : 701-10.
81. **Gittes GK.**
Developmental biology of the pancreas: a comprehensive review. *Dev Biol* 2009 ; 326 : 4-35.
82. **Kim SK, Hebrok M.**
Intercellular signals regulating pancreas development and function. *Genes Dev* 2001 ; 15 : 111-27.
83. **Grapin-Botton A.**
Les étapes du développement du pancréas : des pistes pour le traitement du diabète. *Med Sci (Paris)* 2002 ; 18 : 467-73.
84. **Assady S, Maor G, Amit M, et al.**
Insulin production by human embryonic stem cells. *Diabetes* 2001 ; 50 : 1691-7.
85. **Vanikar, A.V.; Dave, S.D.; Thakkar, U.G.; Trivedi, H.L.**
Cotransplantation of adipose tissue-derived insulin-secreting mesenchymal stem cells and hematopoietic stem cells: A novel therapy for insulin-dependent diabetes mellitus. *Stem Cells Int.* 2010, 2010, 582382.

86. **Mehra NK, Kumar N, Kaur G, Kanga U, Tandon N.**
Biomarkers of susceptibility to type 1 diabetes with special reference to the Indian population. *Indian Journal of Medical Research.* 2007;125(3):321–344.
87. **Nathan DM.**
Long-term complications of diabetes mellitus. *The New England Journal of Medicine.* 1993;328(23):1676–1685.
88. **Rubin RR, Peyrot M.**
Quality of life and diabetes. *Diabetes/Metabolism Research and Reviews.* 1999;15(3):205–218.
89. **Voltarelli JC, Couri CEB, Stracieri ABPL, et al.**
Autologous nonmyeloablative hematopoietic stem cell transplantation in newly diagnosed type 1 diabetes mellitus. *Journal of the American Medical Association.* 2007;297(14):1568–1576.
90. **Raposio E, Caruana G, Petrella M, Bonomini S, Grieco MP.**
A Standardized Method of Isolating Adipose-Derived Stem Cells for Clinical Applications. *Ann Plast Surg.* 2016 Jan;76(1):124–6.
91. **Raposio E, Simonacci F, Perrotta RE.**
Adipose-derived stem cells: Comparison between two methods of isolation for clinical applications. *Ann Med Surg.* 2017 Aug;20:87–91.
92. **Trivedi H, Shah V, Shah P, et al.**
High dose DBMC associated tolerance in live-related renal allograft recipients. *Transplantation Proceedings.* 2000;32(7):2001–2002.
93. **Si Z, Wang X, Sun C, Kang Y, Xu J, Wang X, Hui Y.**
Adipose-derived stem cells: Sources, potency, and implications for regenerative therapies. *Biomed Pharmacother.* 2019 Jun;114:108765.
94. **Zuk PA, Zhu M, Ashjian P, et al.**
Human adipose tissue is a source of multipotent stem cells. *Molecular Biology of the Cell.* 2002;13(12):4279–4295.
95. **Yañez R, Lamana ML, García-Castro J, Colmenero I, Ramírez M, Bueren JA.**
Adipose tissue-derived mesenchymal stem cells have in vivo immunosuppressive properties applicable for the control of the graft-versus-host disease. *Stem Cells.* 2006;24(11):2582–2591.
96. **Doucet C, Ernou I, Zhang Y, et al.**
Platelet lysates promote mesenchymal stem cell expansion: a safety substitute for animal serum in cell-based therapy applications. *J Cell Physiol* 2005;205(2): 228–236.
97. **Zhou Q, Brown J, Kanarek A, Rajagopal J, Melton DA.**
In vivo reprogramming of adult pancreatic exocrine cells to β -cells. *Nature.* 2008;455(7213):627–632.

98. **Thakkar, U.G.; Trivedi, H.L.; Vanikar, A.V.; Dave, S.D.**
Insulin-secreting adipose-derived mesenchymal stromal cells with bone marrow-derived hematopoietic stem cells from autologous and allogenic sources for type 1 diabetes mellitus. *Cytotherapy* 2015, 17, 940-947.
99. **Mehra N.K, Kumar N, Kaur G, Kanga U, Tandon N.**
"Biomarkers of susceptibility to type 1 diabetes with special reference to the Indian population". *Indian J Med Res.* 2007; 125: 321-344.
100. **Nathan D.M.**
"Long-term complications of diabetes mellitus". *N Engl J Med.* 1993; 328: 1676-1685.
101. **Rubin R.R, Peyrot M.**
"Quality of life and diabetes". *Diabetes Metab Res Rev.* 1999; 15: 205-218.
102. **Voltarelli J.C, Couri C.E, Stracieri A.B, Oliveira M.C, Moraes D.A, Pieroni F. et al.**
"Autologous nonmyeloablative hematopoietic stem cell transplantation in newly diagnosed type 1 diabetes mellitus". *JAMA.* 2007; 297: 1568-1576.
103. **Scharfmann R.**
Alternative sources of beta cells for cell therapy of diabetes. *Eur J Clin Invest.* 2003; 33: 595-600.
104. **Lindolfo da Silva M, Aparecida M.F, Dimas T.C, Arnold I.C.**
Mechanisms involved in the therapeutic properties of mesenchymal stem cells. *Cytokine Growth Factor Rev.* 2009; 20: 419-427.
105. **Dave S.D, Vanikar A.V, Trivedi H.L.**
In-vitro generation of human adipose tissue derived insulin secreting cells: up-regulation of Pax-6, Ipf-1 and Isl-1. *Cytotechnology.* 2014; 66: 299-307.
106. **Dave S.D, Vanikar A.V, Trivedi H.L.**
Ex vivo generation of glucose sensitive insulin secreting mesenchymal stem cells derived from human adipose tissue. *Indian J Endocr Metab.* 2012; 16: S65-S69.
107. **Shapiro A.M.J, Lakey J.R.T, Ryan E.A, Korbutt G.S, Toth E, Warnock G.L, et al.**
Islet transplantation in seven patients with type 1 diabetes mellitus using a glucocorticoid-free immunosuppressive regimen. *N Engl J Med.* 2000; 343: 230-238.
108. **Shapiro A.M, Ricordi C, Hering B.**
Edmonton's islet success has indeed been replicated elsewhere. *Lancet.* 2003; 362: 1242.
109. **Henryk Z.**
Stem cells with potential to generate insulin-producing cells in man. *Swiss Med Wkly.* 2006; 136: 647-654.
110. **Brusko T.M.**
Mesenchymal Stem Cells: A Potential Border Patrol for Transplanted Islets?. *Diabetes.* 2009; 58: 1728-1729.

111. **Abdi R, Fiorina P, Adra C.N, Atkinson M, Sayegh M.H.**
Immunomodulation by mesenchymal stem cells: A potential therapeutic strategy for type 1 diabetes. *Diabetes*. 2008; 57: 1759–1767.
112. **Nauta A.J, Fibbe W.E.**
Immunomodulatory properties of mesenchymal stromal cells. *Blood*. 2007; 110: 3499–3506.
113. **Volarevic V, Al-Qahtani A, Arsenijevic N, Pajovic S, Lukic M.L.**
Interleukin-1 receptor antagonist (IL-1Ra) and IL-1Ra producing mesenchymal stem cells as modulators of diabetogenesis. *Autoimmunity*. 2010; 43: 255–263
114. **Lee R.H, Seo M.J, Reger R.L, Spees J.L, Pulin A.A, Olson S.D, et al.**
Multipotent stromal cells from human marrow home to and promote repair of pancreatic islets and renal glomeruli in diabetic NOD/SCID mice. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2006; 103: 17438–17443.
115. **Maria C.Oliveira, Urban V.S, Kiss J, Kovacs J, Gocza E, Vas V, Monostori E, et al.**
Mesenchymal stem cells cooperate with bone marrow cells in therapy of diabetes. *Stem Cells*. 2008; 26: 244–253
116. **Sprent J, Kishimoto H.**
The thymus and central tolerance. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*. 2001; 356: 609–616.
117. **Starzl T.E.**
The “Privileged” Liver and Hepatic Tolerogenicity. *Liver Transpl*. 2001; 7: 918–920
118. **Prokhorova T.A, Harkness L.M, Frandsen U, Ditzel N, Schroder H.D, Burns J.S, et al.**
Teratoma formation by human embryonic stem cells is site dependent and enhanced by the presence of Matrigel. *Stem Cells Dev*. 2009; 18: 47–54.
119. **Trivedi H.L, Vanikar A.V, Thakker U, Firoze A, Dave S.D, Patel C.N, et al.**
Human adipose tissue-derived mesenchymal stem cells combined with hematopoietic stem cell transplantation synthesize insulin. *Transplant Proc*. 2008; 40: 1135–1139.
120. **Lubna Rifai and Fatima A. Saleh.**
Conventional and Alternative Mesenchymal Stem Cell Therapies for the Treatment of Diabetes. *Cell Biology and Translational Medicine*. Springer Nature Switzerland AG 2020.
121. **Araujo DB, Dantas JR, Silva KR, Souto DL, de Pereira M, FC, Moreira JP et al (2020)**
Allogenic adipose tissue-derived stromal/stem cells and vitamin D supplementation in patients with recent-onset type 1 diabetes mellitus: A 3-month follow-up pilot study. *Front Immunol* 11.
122. **Erik Schwarcz, Cai J, Wu Z, Xu X, Liao L, Chen J, Huang L et al (2016)**
Umbilical cord mesenchymal stromal cell with autologous bone marrow cell transplantation in established type 1 diabetes: A pilot randomized controlled open-label clinical study to assess safety and impact on insulin secretion. *Diabetes Care* 39(1):149–157.
123. **Carlsson PO, Schwarcz E, Korsgren O, Le Blanc K (2015)**
Preserved β -cell function in type 1 diabetes by mesenchymal stromal cells. *Diabetes* 64(2):587–592.

124. **Ezquer F, Ezquer M, Contador D, Ricca M, Simon V, Conget P (2012)**
The antidiabetic effect of mesenchymal stem cells is unrelated to their Transdifferentiation potential but to their capability to restore Th1/Th2 balance and to modify the pancreatic microenvironment. *Stem Cells* 30(8):1664-1674.
125. **Ezquer M, Arango-Rodriguez M, Giraud-Billoud M, Ezquer F (2014)**
Mesenchymal stem cell therapy in type 1 diabetes mellitus and its Main complications: from experimental findings to clinical practice. *J Stem Cell Res Ther* 4(8):227.
126. **Li L, Li F, Gao F, Yang Y, Liu Y, Guo P, Li Y (2016)**
Transplantation of mesenchymal stem cells improves type 1 diabetes mellitus. *Cell Tissue Res* 364(2):345-355.
127. **Madec AM, Mallone R, Afonso G, Abou Mrad E, Mesnier A, Eljaafari A, Thivolet C (2009)**
Mesenchymal stem cells protect NOD mice from diabetes by inducing regulatory T cells. *Diabetologia* 52(7):1391-1399.
128. **Karina R.Silva, Orbay H, Tobita M, Mizuno H (2012).**
Mesenchymal stem cells isolated from adipose and other tissues: basic biological properties and clinical applications. *Stem Cells Int.* Hindawi Limited.
129. **Tsai PJ, Wang HS, Lin GJ, Chou SC, Chu TH, Chuan WT et al (2015).**
Undifferentiated Wharton's jelly mesenchymal stem cell transplantation induces insulin-producing cell differentiation and suppression of T-cell-mediated autoimmunity in nonobese diabetic mice. *Cell Transplant* 24(8):1555-1570.
130. **Zanini C, Bruno S, Mandili G, Baci D, Cerutti F, Cenacchi G et al (2011).**
Differentiation of mesenchymal stem cells derived from pancreatic islets and bone marrow into islet-like cell phenotype. *PLoS One* 6(12).
131. **Couri CEB, de Oliveira MC, Simões BP.**
Risks, benefits, and therapeutic potential of hematopoietic stem cell transplantation for autoimmune diabetes. *Curr Diabetes Rep.* (2012) 12:604-11.
132. **Fiorina P, Voltarelli J, Zavazava N.**
Immunological applications of stem cells in type 1 diabetes. *Endocr Rev.* (2011) 32:725-54.
133. **Lernmark Å, Larsson HE.**
Immune therapy in type 1 diabetes mellitus. *Nat Rev Endocrinol.*(2013) 9:92-103.
134. **Abdi R, Fiorina P, Adra CN, Atkinson M, Sayegh MH.**
Immunomodulation by mesenchymal stem cells: a potential therapeutic strategy for type 1 diabetes. *Diabetes.* (2008) 57:1759-67.
135. **Lee RH, Seo MJ, Reger RL, Spees JL, Pulin AA, Olson SD, et al.**
Multipotent stromal cells from human marrow home to and promote repair of pancreatic islets and renal glomeruli in diabetic NOD/scid mice. *Proc Natl Acad Sci USA.* (2006) 103:17438-43.
136. **Baptista LS, do Amaral RJFC, Carias RBV, Aniceto M, Claudio-da-Silva C, Borojevic R.**
An alternative method for the isolation of mesenchymal stromal cells derived from lipoaspirate samples. *Cytherapy.* (2009) 11:706-15.

137. **Gan J, Wang Y, Zhou X.**
Stem cell transplantation for the treatment of patients with type 1 diabetes mellitus: a meta-analysis. *Exp Ther Med.* (2018) 16:4479–92.
138. **Vija L, Farge D, Gautier J-F, Vexiau P, Dumitrache C, Bourgarit A, et al.**
Mesenchymal stem cells: stem cell therapy perspectives for type 1 diabetes. *Diabetes Metab.* (2009) 35:85–93.
139. **Cai J, Wu Z, Xu X, Liao L, Chen J, Huang L, et al.**
Umbilical cord mesenchymal stromal cell with autologous bone marrow cell transplantation in established type 1 diabetes: a pilot randomized controlled open-label clinical study to assess safety and impact on insulin secretion. *Diabetes Care.* (2016) 39:149–57.
140. **Zhang Y, Chen W, Feng B, Cao H.**
The clinical efficacy and safety of stem cell therapy for diabetes mellitus: a systematic review and meta-analysis. *Aging Dis.* (2020) 11:141–53.
141. **Aguayo-Mazzucato C, Bonner-Weir S (2010)**
Stem cell therapy for type 1 diabetes mellitus. *Nat Rev Endocrinol* 6:139–148.
142. **Akiyama K, Chen C, Wang D, Xu X, Qu C, Yamaza T, Cai T, Chen W, Sun L, Shi S (2012)**
Mesenchymal-stem-cell-induced immunoregulation involves FAS-ligand-/FAS-mediated T cell apoptosis. *Cell Stem Cell* 10:544–555.
143. **Bouwens L, Houbracken I, Mfopou JK (2013)**
The use of stem cells for pancreatic regeneration in diabetes mellitus. *Nat Rev Endocrinol* 9:598–606.
144. **Duvillie B, Attali M, Bounacer A, Ravassard P, Basmaciogullari A, Scharfmann R (2006)**
The mesenchyme controls the timing of pancreatic beta-cell differentiation. *Diabetes* 55:582–589.
145. **Rosová I, Dao M, Capoccia B, et al.**
Hypoxic preconditioning results in increased motility and improved therapeutic potential of human mesenchymal stem cells. *Stem Cells* 2008;26(8): 2173–2182.
146. **Hardikar AA, Lees JG, Sidhu KS, Colvin E, Tuch BE (2006)**
Stem-cell therapy for diabetes cure: how close are we? *Curr Stem Cell Res Ther* 1:425–436.
147. **Ianus A, Holz GG, Theise ND, Hussain MA (2003)**
In vivo derivation of glucose-competent pancreatic endocrine cells from bone marrow without evidence of cell fusion. *J Clin Invest* 111:843–850.
148. **Urban VS, Kiss J, Kovács J, Gócza E, Vas V, Monostori E, Uher F (2008)**
Mesenchymal stem cells cooperate with bone marrow cells in therapy of diabetes. *Stem Cells* 26:244–253.
149. **Vija L, Farge D, Gautier JF, Vexiau P, Dumitrache C, Bourgarit A, Verrecchia F, Larghero J (2009)**
Mesenchymal stem cells: stem cell therapy perspectives for type 1 diabetes. *Diabetes Metab* 35:85–93.

150. **Mairim Alexandra Solis, Ilais Moreno Velásquez, Ricardo Correa, Lynn L. H. Huang.**
Stem cells as a potential therapy for diabetes mellitus: a call-to-action in Latin America. *Diabetology & Metabolic Syndrome* volume 11, Article number: 20 (2019).
151. **Ryan EA, Lakey JRT, Rajotte RV, Korbitt GS, Kin T, Imes S, et al.**
Clinical outcomes and insulin secretion after islet transplantation with the edmonton protocol. *Diabetes*. 2001;50:710-9.
152. **Raposio E, Guida C, Coradeghini R, Scanarotti C, Parodi A, Baldelli I, Fiocca R, Santi PL.**
In vitro polydeoxyribonucleotide effects on human pre-adipocytes. *Cell Prolif*. 2008 Oct;41(5):739-54.
153. **Figliuzzi M, Bonandrini B, Silvani S, Remuzzi A.**
Mesenchymal stem cells help pancreatic islet transplantation to control type 1 diabetes. *World J Stem Cells*. 2014;6:163-72.
154. **Scanarotti C, Bassi AM, Catalano M, Guida C, Coradeghini R, Falugi C, Aluigi M, Santi P, Raposio E.**
Neurogenic-committed human pre-adipocytes express CYP1A isoforms. *Chem Biol Interact*. 2010 Mar;184(3):474-83.
155. **Simonacci F, Bertozzi N, Raposio E.**
Off-label use of adipose-derived stem cells. *Ann Med Surg*. 2017 Dec;24:44-51.
156. **Lee RH, Kim B, Choi I, Kim H, Choi HS, Suh K, Bae YC, Jung JS.**
Characterization and Expression Analysis of Mesenchymal Stem Cells from Human Bone Marrow and Adipose Tissue. *Cell Physiol Biochem*. 2004;14(4-6):311-24.
157. **CaiY, LiJ, JiaC, HeY, DengC.**
Therapeutic applications of adipose cell-free derivatives: a review. *Stem Cell Res Ther*. 2020 Dec;11(1):312.
158. **Bruin JE, Asadi A, Fox JK, Erener S, Rezanian A, Kieffer TJ.**
Accelerated maturation of human stem cell-derived pancreatic progenitor cells into insulin-secreting cells in immunodeficient rats relative to mice. *Stem Cell Rep*. 2015;5:1081-96.
159. **Li H, Rong P, Ma X, Nie W, Chen C, Yang C, et al.**
Paracrine effect of mesenchymal stem cell as a novel therapeutic strategy for diabetic nephropathy. *Life Sci*. 2018;215:113-8.
160. **Oses C, Olivares B, Ezquer M, Acosta C, Bosch P, Donoso M, et al.**
Preconditioning of adipose tissue-derived mesenchymal stem cells with deferoxamine increases the production of pro-angiogenic, neuroprotective and anti-inflammatory factors: potential application in the treatment of diabetic neuropathy. *PLoS ONE*. 2017;12:e0178011.
161. **Ezquer FE, Ezquer ME, Parrau DB, Carpio D, Yañez AJ, Conget PA.**
Systemic administration of multipotent mesenchymal stromal cells reverts hyperglycemia and prevents nephropathy in type 1 diabetic mice. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2008;14:631-40.

162. **Ezquer M, Urzua CA, Montecino S, Leal K, Conget P, Ezquer F.**
Intravitreal administration of multipotent mesenchymal stromal cells triggers a cytoprotective microenvironment in the retina of diabetic mice. *Stem Cell Res Ther.* 2016;7:42.
163. **Ezquer F, Giraud-Billoud M, Carpio D, Cabezas F, Conget P, Ezquer M.**
Proregenerative microenvironment triggered by donor mesenchymal stem cells preserves renal function and structure in mice with severe diabetes mellitus. *Biomed Res Int.* 2015;2015:164703.
164. **Biomed Res Int. 2015;2015:164703.**
Endovenous administration of bone-marrow-derived multipotent mesenchymal stromal cells prevents renal failure in diabetic mice. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2009;15:1354-65.
165. **Calligaris SD, Conget P.**
Intravenous administration of bone marrow-derived multipotent mesenchymal stromal cells has a neutral effect on obesity-induced diabetic cardiomyopathy. *Biol Res.* 2013;46:251-5.
166. **de Mayo T, Conget P, Becerra-Bayona S, Sossa CL, Galvis V, Arango-Rodriguez ML.**
The role of bone marrow mesenchymal stromal cell derivatives in skin wound healing in diabetic mice. 2017;12:e0177533.
167. **Cristina Aguayo-Mazzucato Veronika S. Urbán, Judit Kiss, János Kovács, Elen Gócza, Virág Vas, Éva Monostori, Ferenc Uher.**
Mesenchymal Stem Cells Cooperate with Bone Marrow Cells in Therapy of Diabetes. *Stem Cells*, Volume 26, Issue 1, January 2008, Pages 244-253.
168. **L.VijaabD.FargecJ.F.GautierbP.VexiaubC.DumitrachedA.BourgaritcF.Verrecchiaaj.Largheroe.**
Mesenchymal stem cells: Stem cell therapy perspectives for type 1 diabetes Les cellules souches mésenchymateuses comme nouvelle approche thérapeutique du diabète de type 1. *Diabetes & Metabolism* Volume 35, Issue 2, April 2009, Pages 85-93.
169. **Xin-Xing Wan1.**
Stem Cell Transplantation in the Treatment of Type 1 Diabetes Mellitus: From Insulin Replacement to Beta-Cell Replacement, *Endocrinol.*, 18 March 2022.
170. **Hiroyuki Takahashi. J. Clin.**
Regenerative and Transplantation Medicine: Cellular Therapy Using Adipose Tissue-Derived Mesenchymal Stromal Cells for Type 1 Diabetes Mellitus. *Med.* 2019, 8, 249.
171. **Sagar Jawale.**
Stem cell therapy for type1 diabetes with transplantation of stem cells into the Omental pouch, peritoneum, and blood, experimental study. *Annals of Medicine and Surgery* 81 (2022) 104468. Jawale hospital, Jalgaon, Maharashtra, India.

قسم الطبيب

أقسم بالله العظيم

أن أراقب الله في مهنتي.

وأن أصون حياة الإنسان في كافة أطوارها في كل الظروف

والأحوال باذلة وسعي في انقاذها من الهلاك والمرض

والألم والقلق.

وأن أحفظ للناس كرامتهم، وأستر عورتهم، وأكتم سرهم.

وأن أكون على الدوام من وسائل رحمة الله، باذلا رعايتي الطبية للقريب والبعيد،

للصالح والطالح، والصديق والعدو.

وأن أثابر على طلب العلم، وأسخره لنفع الإنسان لا لأذاه.

وأن أوقر من علمني، وأعلم من يصغرنني، وأكون أختا لكل زميل في المهنة

الطبية متعاونين على البر والتقوى.

وأن تكون حياتي مصداق إيماني في سرّي وعلانيتي،

نقية مما يشينها تجاه الله ورسوله والمؤمنين.

والله على ما أقول شهيد

أطروحة رقم 375

سنة 2022

مشروع تجريبي لزراعة الخلايا الجذعية لمرضى السكري
من النوع الأول في قسم أمراض السكري بالمركز
الإستشفائي الجامعي محمد السادس بمراكش

الأطروحة

قدمت ونوقشت علانية يوم 2023/01/04
من طرف

السيدة : أتغيام خولة

المزودة في 27 أكتوبر 1998 بدمنات

لنيل شهادة الدكتوراه في الطب

الكلمات الأساسية:

السكري من النوع الأول - زراعة - الخلايا الجذعية - الأنسجة الدهنية

اللجنة

الرئيس	ن. الأنصاري	السيدة
	أستاذة في طب أمراض الغدد والأمراض الاستقلابية	
	غ. المغاري طبيب	السيدة
المشرف	أستاذة في طب أمراض الغدد والأمراض الاستقلابية	
	ي. بنشمخة	السيد
	أستاذ في جراحة التجميل والترميم	
	أ. بلشير	السيد
الحكام	أستاذ في التشريح المرضي	

