



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

Année 2022

Thèse N° 040

Cellules souches mésenchymateuses adipocytaires : isolement et indications en chirurgie plastique

THÈSE

PRÉSENTÉE ET SOUTENUE PUBLIQUEMENT LE 14/02/2022

PAR

Mlle. Khaoula EL BEZZI

Née le 22 Décembre 1994 à Safi

POUR L'OBTENTION DU DOCTORAT EN MÉDECINE

MOTS-CLÉS

Cellules souches mésenchymateuses- graisse- isolement - régénération tissulaire

JURY

Mr. S.AMAL Professeur de Dermatologie.	PRESIDENT
Mr. Y. BENCHAMKHA Professeur de Chirurgie plastique et réparatrice.	} RAPPORTEURS
Mr. A.BELBACHIR Professeur d'Anatomie-pathologique	
Mr. M. D. EL AMRANI Professeur d'Anatomie.	} JUGES
Mr. A.BENHIMA Professeur de Traumatologie.	

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ



رَبِّ أَوْزِعْنِي أَنْ أَشْكُرَ نِعْمَتَكَ الَّتِي أَنْعَمْتَ
عَلَيَّ وَعَلَىٰ وَالِدَيَّ وَأَنْ أَعْمَلَ صَالِحًا تَرْضَاهُ
وَأَصْلِحْ لِي فِي ذُرِّيَّتِي ۗ إِنِّي تُبْتُ إِلَيْكَ وَإِنِّي
مِنَ الْمُسْلِمِينَ





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 ALAOUY YAZIDI

ADMINISTRATION

Doyen

: Pr. Mohammed BOUSKRAOUI

Vice doyen à la Recherche et la Coopération

: Pr. Mohamed AMINE

Vice doyen aux Affaires Pédagogiques

: Pr. Redouane EL FEZZAZI

Secrétaire Générale

: Mr. Azzeddine EL HOUDAIGUI

**Professeurs de l'enseignement
supérieur**

NometPrénom	Spécialité	NometPrénom	Spécialité
ABKARIlmad	Traumato-orthopédie	ESSAADOUNILamiaa	Médecineinterne
ABOUELHASSANTaoufik	Anésthésie-réanimation	FADILIWafaa	Néphrologie
ABOUCHADIAbdeljalil	Stomatologieetchirmaxillofaciale	FAKHIRBouchra	Gynécologie-obstétrique
ABOULFALAHAbderrahim	Gynécologie-obstétrique	FOURAIJKarima	Chirurgiepédiatrique
ABOUSSAIRNisrine	Génétique	GHANNANEHoussine	Neurochirurgie
ADALIImane	Psychiatrie	GHOUNDALEOmar	Urologie
ADMOUBrahim	Immunologie	HACHIMIAbelhamid	Réanimationmédicale
AGHOUTANEElMouhtadi	Chirurgiepédiatrique	HAJJIlbtissam	Ophtalmologie
AISSAOUIYounes	Anesthésie-réanimation	HAROUKaram	Gynécologie-obstétrique
AITAMEURMustapha	HématologieBiologique	HOCAROUafa	Dermatologie
AITBENALISaid	Neurochirurgie	JALALHicham	Radiologie
AITBENKADDOURYassir	Gynécologie-obstétrique	KAMILIEI OuafiElAouni	Chirurgiepédiatrique
AIT-SABIImane	Pédiatrie	KHALLOUKIMohammed	Anesthésie-réanimation
ALJSoumaya	Radiologie	KHATOURIALi	Cardiologie
AMALSaid	Dermatologie	KHOUCHANIMouna	Radiothérapie

AMINEMohamed	Epidémiologie-clinique	KISSANINajib	Neurologie
AMMARHaddou	Oto-rhino-laryngologie	KRATIKhadija	Gastro-entérologie
AMROLamyae	Pneumo-phtisiologie	KRIETMohamed	Ophtalmologie
ANIBAKhalid	Neurochirurgie	LAGHMARIMehdi	Neurochirurgie
ARSALANELamia	Microbiologie-Virologie	LAKMICHIMohamedAmine	Urologie
ASMOUKIHamid	Gynécologie-obstétrique	LAOUADInass	Néphrologie
ATMANEEMehdi	Radiologie	LOUHABNisrine	Neurologie
BAIZRIHicham	Endocrinologie et maladiesmétaboliques	LOUZIAbdelouahed	Chirurgie-générale
BASRAOUIDounia	Radiologie	MADHARSiMohamed	Traumato-orthopédie
BASSIRAhlam	Gynécologie-obstétrique	MANOUDIFatiha	Psychiatrie
BELBARAKARhizlane	Oncologiemédicale	MANSOURINadia	Stomatologieetchi rumaxillofaciale
BELKHOUAhlam	Rhumatologie	MAOULAININEFadl mrabihrabou	Pédiatrie(Neonatologie)
BENDRISSLaila	Cardiologie	MATRANEAboubakr	Médecinenucléaire
BENALIAbdeslam	Psychiatrie	MOUAFFAKYoussef	Anesthésie-réanimation
BENCHAMKHAYassine	Chirurgie réparatrice etplastique	MOUDOUNISaid Mohammed	Urologie
BENELKHAIATBENOMARRidouan	Chirurgie-générale	MOUFIDKamal	Urologie
BENHIMAMohamedAmine	Traumatologie-orthopédie	MOUTAJRedouane	Parasitologie
BENJILALILaila	Médecineinterne	MOUTAOUAKILAbdeljalil	Ophtalmologie
BENZAROUELDounia	Cardiologie	MSOUGGARYassine	Chirurgiethoracique
BOUCHENTOUFRachid	Pneumo-phtisiologie	NAJEBYoussef	Traumato-orthopédie
BOUKHANNILahcen	Gynécologie-obstétrique	NARJISSYoussef	Chirurgiegénérale
BOUKHIRAAbderrahman	Biochimie-chimie	NEJMIHicham	Anesthésie-réanimation
BOUMZEBRADrissi	ChirurgieCardio-Vasculaire	NIAMANERadouane	Rhumatologie
BOURRAHOUATAicha	Pédiatrie	OUALIIDRISSIMariem	Radiologie
BOURROUSMonir	Pédiatrie	OUBAHASofia	Physiologie
BOUSKRAOUMohammed	Pédiatrie	OULADSAIADMohamed	Chirurgiepédiatrique
CHAFIKRachid	Traumato-orthopédie	QACIFHassan	Médecineinterne
CHAKOURMohamed	HématologieBiologique	QAMOUSSYoussef	Anesthésie-réanimation
CHELLAKSaliha	Biochimie-chimie	RABBANIKhalid	Chirurgiegénérale

CHERIFIDRISSIELGANOUNI Najat	Radiologie	RADANoureddine	Pédiatrie
CHOULLIMohamedKhaled	Neuropharmacologie	RAISHanane	Anatomiepathologique
DAHAMIZakaria	Urologie	RAJIAbdelaziz	Oto-rhino-laryngologie
DRAISSGhizlane	Pédiatrie	ROCHDIYoussef	Oto-rhino-laryngologie
ELADIBAhmedRhassane	Anesthésie-réanimation	SAMKAOUIMohamedAbde nasser	Anesthésie-réanimation
ELAMRANIMoulayDriss	Anatomie	SAMLANI Zouhour	Gastro-entérologie
ELANSARINawal	Endocrinologieet maladiesmétaboliques	SARFIsmail	Urologie
ELBARNIRachid	Chirurgie-générale	SORAANabila	Microbiologie-Virologie
ELBOUCHTIlmane	Rhumatologie	SOUMMANIAbderraouf	Gynécologie-obstétrique
ELBOUIHIMohamed	Stomatologieetchirmaxillo faciale	TASSINoura	Maladiesinfectieuses
ELFEZZAZI Redouane	Chirurgiepédiatrique	TAZIMohamedIlias	Hématologie-clinique
ELHAOURYHanane	Traumato-orthopédie	YOUNOUSSaid	Anesthésie-réanimation
ELHATTAOUIMustapha	Cardiologie	ZAHLANE Kawtar	Microbiologie-virologie
ELHOUDZIJamila	Pédiatrie	ZAHLANEMouna	Médecineinterne
ELIDRISSISLITINENadia	Pédiatrie	ZAOUISanaa	Pharmacologie
ELKARIMISaloua	Cardiologie	ZIADIAmra	Anesthésie-réanimation
ELKHAYARIMina	Réanimationmédicale	ZOUHAIRSaid	Microbiologie
ELMGHARITABIBGhizlane	Endocrinologie et maladiesmétaboliques	ZYANIMohammed	Médecineinterne
ELFIKRIAbdelghani	Radiologie		

ProfesseursAgrégés

NometPrénom	Spécialité	NometPrénom	Spécialité
ABIRBadreddine	Stomatologie etChirurgiemaxillofaciale	GHAZIMirieme	Rhumatologie
ADARMOUCHLatifa	MédecineCommunautaire(m édecine préventive,santépubliqueet hygiène)	HAZMIRIFatimaEzzahra	Histologie- embyologiecytogénéti que
AITBATAHARSalma	Pneumo-phtisiologie	IHBIBANefatima	MaladiesInfectieuses
ARABIHafid	Médecine physique etréadaptationfonctionnelle	KADDOURISaid	Médecineinterne
ARSALANEAdil	ChirurgieThoracique	LAHKIMMohammed	Chirurgiegénérale
BELBACHIRAnass	Anatomie-pathologique	LAKOUICHMIMohamme d	Stomatologie et Chirurgiemaxillofaciale

BELHADJ Ayoub	Anesthésie-Réanimation	MARGADO Omar	Traumatologie-orthopédie
BENJELLOUN HARZIMI Amine	Pneumo-phtisiologie	MLIHATOUATI Moham med	Oto-Rhino-Laryngologie
BOUZERDA Abdelmajid	Cardiologie	MOUHSINE Abdelilah	Radiologie
BSISS Mohamed Aziz	Biophysique	NADER Youssef	Traumatologie-orthopédie
CHRAA Mohamed	Physiologie	SALAMA Tarik	Chirurgie pédiatrique
DAROUASSI Youssef	Oto-Rhino-Laryngologie	SEDDIKI Rachid	Anesthésie-Réanimation
ELHAOUATI Rachid	Chirurgie Cardio-vasculaire	SERGHINI Issam	Anesthésie-Réanimation
ELKAMOUNI Youssef	Microbiologie Virologie	TOURABI Khalid	Chirurgie réparatrice et plastique
ELKHADER Ahmed	Chirurgie générale	ZARROUKI Youssef	Anesthésie-Réanimation
ELMEZOUARIE Moustafa	Parasitologie Mycologie	ZEMRAOUIN Adir	Néphrologie
ELOMRANI Abdelhamid	Radiothérapie	ZIDANEMoulay Abdelf ettah	Chirurgie thoracique
FAKHRI Anass	Histologie-embryologie cytogénétique		

Professeurs Assistants

Nom et Prénom	Spécialité	Nom et Prénom	Spécialité
AABBASSI Bouchra	Pédopsychiatrie	ESSADI Ismail	Oncologie Médicale
ABALLAN Ajoua	Chirurgie pédiatrique	FASSIFIHRIMohamed jawad	Chirurgie générale
ABDEL FETTAH Youness	Rééducation et Réhabilitation Fonctionnelle	FDIL Naima	Chimie de Coordination Bio-organique
ABDOU Abdessamad	Chiru Cardiovasculaire	FENNANEHicham	Chirurgie Thoracique
ABOULMAKARIM Siham	Biochimie	HAJHOUI Farouk	Neurochirurgie
ACHKOUN Abdessalam	Anatomie	HAJJI Fouad	Urologie
AITERRAMI Adil	Gastro-entérologie	HAMMISalah Eddine	Médecine interne
AKKAR Rachid	Gastro-entérologie	Hammoune Nabil	Radiologie
ALAOUI Hassan	Anesthésie - Réanimation	HAMRI Asma	Chirurgie Générale
ALJALIL Abdelfattah	Oto-rhino-laryngologie	HAZIMERaja	Immunologie
AMINE Abdellah	Cardiologie	JALLAL Hamid	Cardiologie
ARROBA Dil	Chirurgie réparatrice et plastique	JANAHHicham	Pneumo-phtisiologie
ASSERRAJI Mohammed	Néphrologie	LAFFINTI Mahmoud Amine	Psychiatrie
AZAMI Mohamed Amine	Anatomie pathologique	LAHLIMI Fatima Ezzahra	Hématologie clinique
AZIZ Zakaria	Stomatologie et chirurgie maxillofaciale	LAHMINI Widad	Pédiatrie

BAALLALHassan	Neurochirurgie	LALYAIssam	Radiothérapie
BABAHicham	Chirurgie générale	LAMRANIHANCHAsmae	Microbiologie-virologie
BELARBIMarouane	Néphrologie	LOQMANSouad	Microbiologie et toxicologie environnementale
BELFQUIHHatim	Neurochirurgie	MAOUJOUDOmar	Néphrologie
BELGHMAIDISarah	Ophtalmologie	MEFTAHAZzelarab	Endocrinologie et maladies métaboliques
BELLASRISalah	Radiologie	MESSAOUDIRedouane	Ophtalmologie
BENANTARLamia	Neurochirurgie	MILOUDIMohcine	Microbiologie-Virologie
BENCHAFAllias	Oto-rhino-laryngologie	MOUGUIAHmed	Rhumatologie
BENNAOUIFatiha	Pédiatrie	NASSIHHouda	Pédiatrie
BENZALIMMeriam	Radiologie	NASSIMSABAHTaoufik	Chirurgie Réparatrice et Plastique
BOUTAKIOUTEBadr	Radiologie	OUEIAGLINABIHFadoua	Psychiatrie
CHAHBIZakaria	Maladies infectieuses	OUMERZOUKJawad	Neurologie
CHEGGOURMouna	Biochimie	RAGGABIamine	Neurologie
CHETOUIAbdelkhalek	Cardiologie	RAISSIAbderrahim	Hématologie clinique
CHETTATIMariam	Néphrologie	REBAHIHoussam	Anesthésie-Réanimation
DAMIAbdallah	Médecine Légale	RHARRASSIIsam	Anatomie-pathologique
DARFAOUI Mouna	Radiothérapie	RHEZALIManal	Anesthésie-réanimation
DOUIREKFouzia	Anesthésie-réanimation	ROUKHSIRedouane	Radiologie
EL-AKHIRIMohammed	Oto-rhino-laryngologie	SAHRAOUIHoussamEddine	Anesthésie-réanimation
ELAMIRIMyAhmed	Chimie de Coordination bio- organique	SALLAHIHicham	Traumatologie-orthopédie
ELFADLIMohammed	Oncologie médicale	SAYAGHSanae	Hématologie
ELFAKIRIKarima	Pédiatrie	SBAAIMohammed	Parasitologie-mycologie
ELGAMRANIYounes	Gastro-entérologie	SBAIAsma	Informatique
ELHAKKOUNIAwatif	Parasitologie mycologie	SEBBANIMajda	Médecine Communautaire (médecine préventive, santé publique et hygiène)
ELJADIHamza	Endocrinologie et maladies métaboliques	SIRBOURachid	Médecine d'urgence et de catastrophe
ELKHASSOUIamine	Chirurgie pédiatrique	SLIOUIBadr	Radiologie
ELATIQUIOumkeltoum	Chirurgie réparatrice et plastique	WARDAKarima	Microbiologie
ELBAZMeriem	Pédiatrie	YAHYAOUIHicham	Hématologie
ELJAMILIMohammed	Cardiologie	ZBITOUMohamedAnas	Cardiologie
ELOUARDIYoussef	Anesthésie-réanimation	ZOUITABtissam	Radiologie
EL-QADIRYRabiy	Pédiatrie	ZOUIZRAZahira	Chirurgie Cardio-vasculaire

LISTE ARRÊTÉE LE 23/06/2021



DEDICACE





*Louange à Dieu tout puissant,
qui m'a permis de voir ce jour tant attendu.*



« Parfois notre lumière s'éteint, puis elle est rallumée par un autre être humain. Chacun de nous doit de sincères remerciements à ceux qui ont ravivé leur flamme. »
Albert Schweitzer



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

À mes adorables parents,

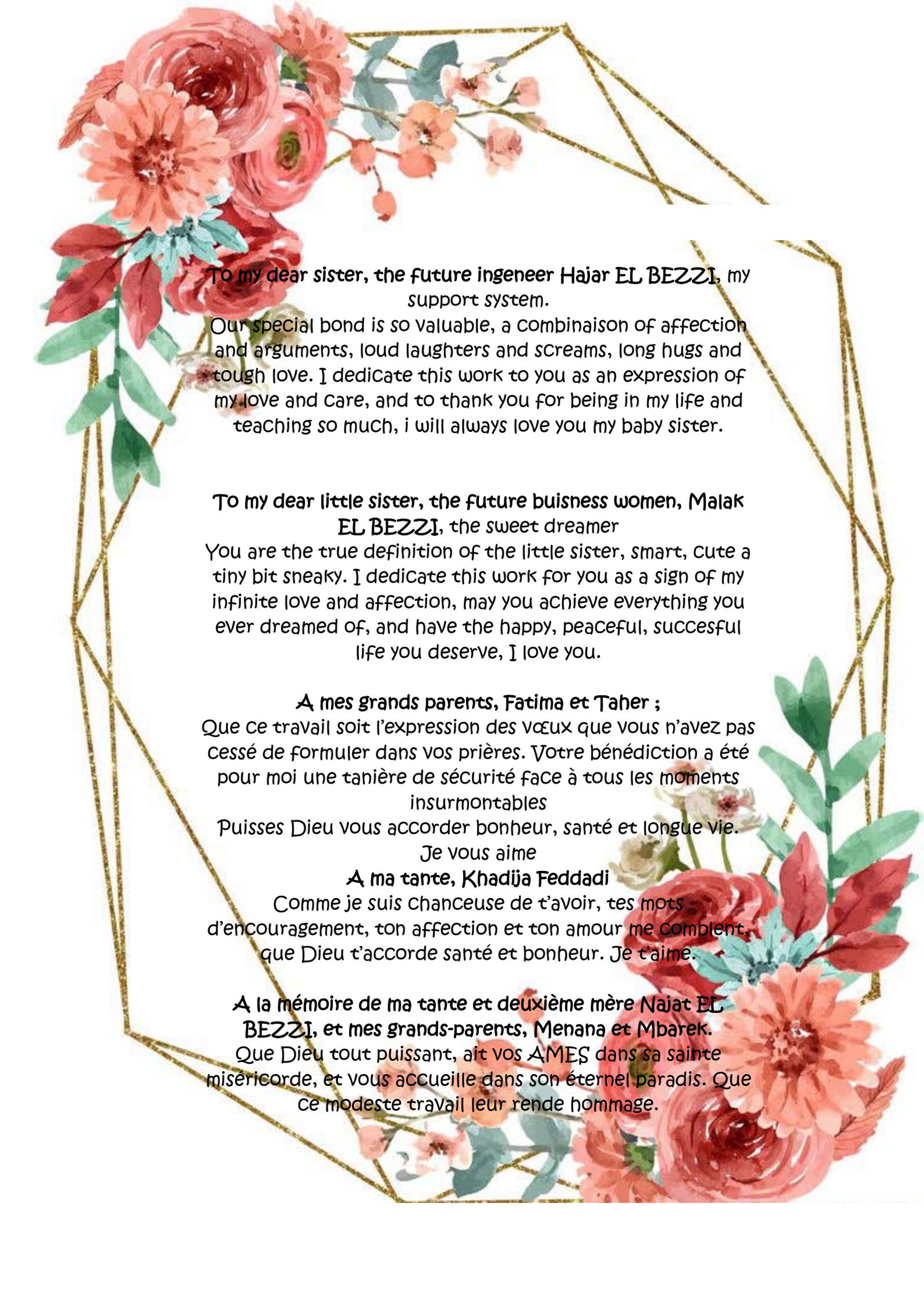
À mon cher père, Hassan EL BEZZI, mon pilier et mon idole. Aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect, mon amour et ma considération pour les sacrifices innombrables que tu as consentis pour mon instruction et mon bien être. Sans toi je ne serai pas là aujourd'hui, tu m'as toujours soutenue et chérie, puisses Dieu t'accorder bonheur, santé et longue vie. Je t'aime fort.

À ma chère mère, Ezzohra FEDDADI, ma confidente et ma meilleure amie.

À ma raison de vivre, ma joie d'être, la lumière qui jaillit dans mes jours et mes soirs. Je te dédie ce travail en gage de ma profonde reconnaissance et de ma tendre affection. Merci pour ton amour inconditionnel, pour tous tes sacrifices, ton altruisme, d'avoir été aux petits soins pour moi, de m'avoir accompagnée, soutenue et d'avoir toujours cru en moi. Puisse Dieu **TOÛT** puissant, te préserver et t'accorder bonne santé et longévité afin que je puisse te rendre un minimum de ce que je te dois. Je t'aime fort ma Reine.

To my dear brother, Dr Mohammed Taha EL BEZZI, my studdy buddy, and back bone.

I cant thank you enough for simply being the smart, funny, lovely and caring brother that you are. I dedicate this work to you as a symbol of my unconditinnal love and affection for you. Im grateful to have you and i cant ask for a better brother. I love you.



To my dear sister, the future ingeneer Hajar EL BEZZI, my support system.

Our special bond is so valuable, a combinaison of affection and arguments, loud laughters and screams, long hugs and tough love. I dedicate this work to you as an expression of my love and care, and to thank you for being in my life and teaching so much, i will always love you my baby sister.

To my dear little sister, the future buisness women, Malak EL BEZZI, the sweet dreamer

You are the true definition of the little sister, smart, cute a tiny bit sneaky. I dedicate this work for you as a sign of my infinite love and affection, may you achieve everything you ever dreamed of, and have the happy, peaceful, succesful life you deserve, I love you.

A mes grands parents, Fatima et Taher ;

Que ce travail soit l'expression des vœux que vous n'avez pas cessé de formuler dans vos prières. Votre bénédiction a été pour moi une tanière de sécurité face à tous les moments insurmontables

Puisses Dieu vous accorder bonheur, santé et longue vie.

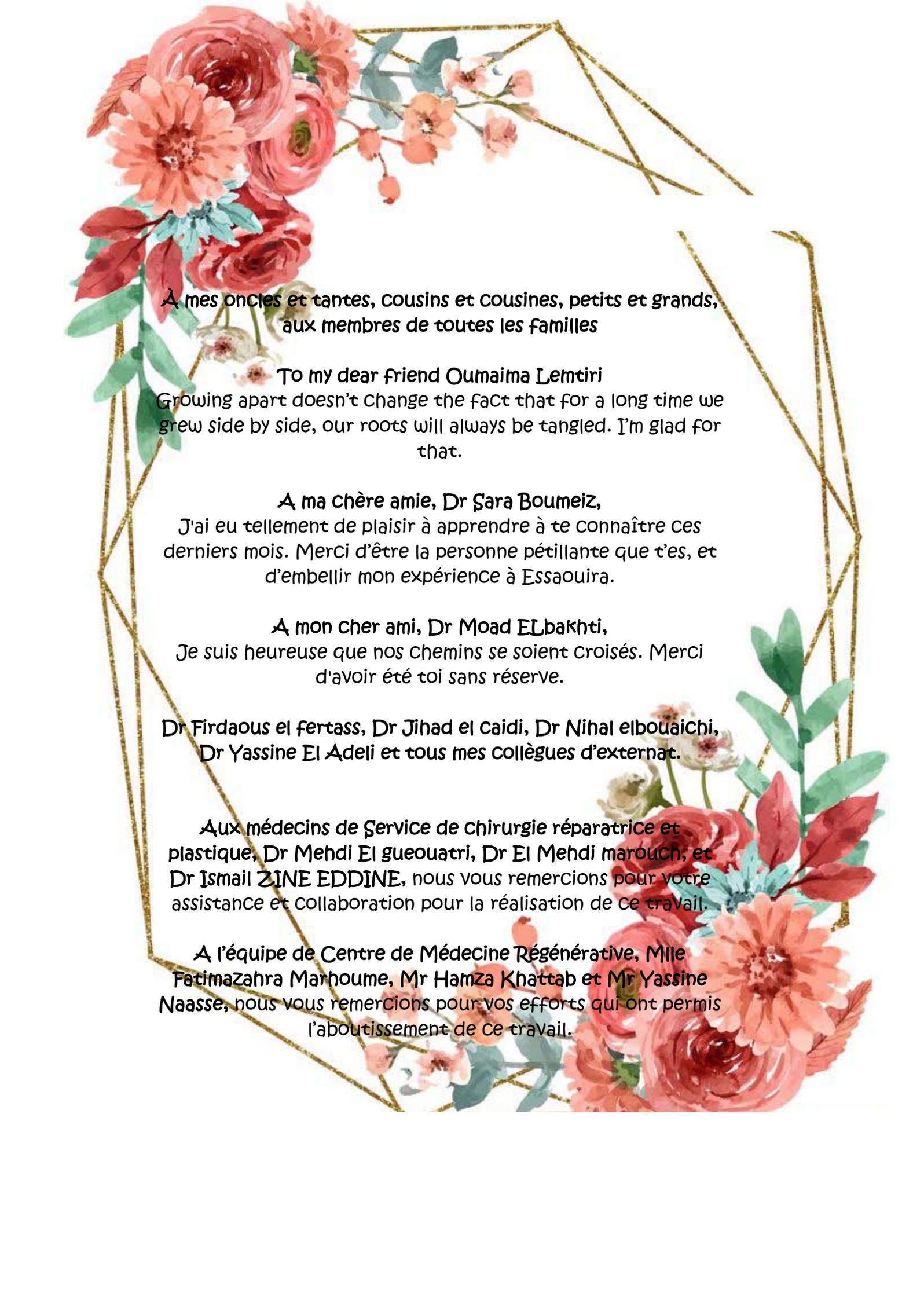
Je vous aime

A ma tante, Khadija Feddadi

Comme je suis chanceuse de t'avoir, tes mots d'encouragement, ton affection et ton amour me comblent, que Dieu t'accorde santé et bonheur. Je t'aime.

A la mémoire de ma tante et deuxième mère Najat EL BEZZI, et mes grands-parents, Menana et Mbarek.

Que Dieu tout puissant, ait vos AMES dans sa sainte miséricorde, et vous accueille dans son éternel paradis. Que ce modeste travail leur rende hommage.



**À mes oncles et tantes, cousins et cousines, petits et grands,
aux membres de toutes les familles**

To my dear friend Oumaima Lemtiri
Growing apart doesn't change the fact that for a long time we
grew side by side, our roots will always be tangled. I'm glad for
that.

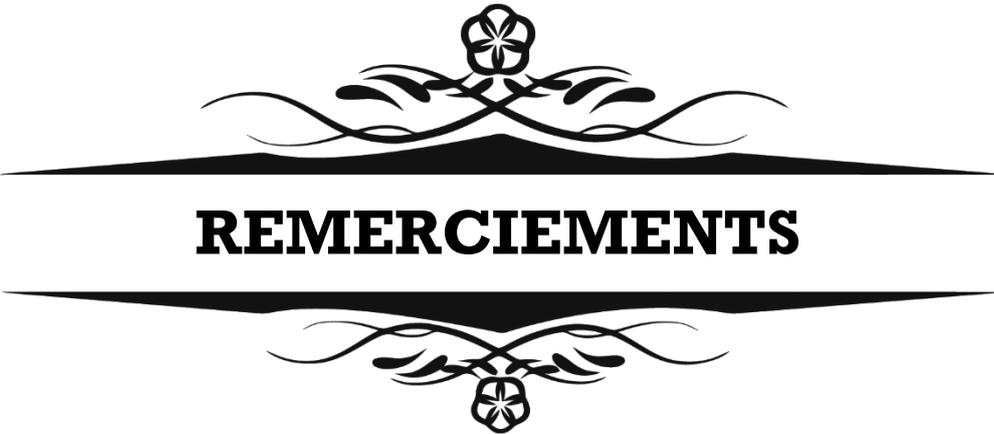
A ma chère amie, Dr Sara Boumeiz,
J'ai eu tellement de plaisir à apprendre à te connaître ces
derniers mois. Merci d'être la personne pétillante que t'es, et
d'embellir mon expérience à Essaouira.

A mon cher ami, Dr Moad ELbakhti,
Je suis heureuse que nos chemins se soient croisés. Merci
d'avoir été toi sans réserve.

**Dr Firdaous el fertass, Dr Jihad el caidi, Dr Nihal elbouaichi,
Dr Yassine El Adeli et tous mes collègues d'externat.**

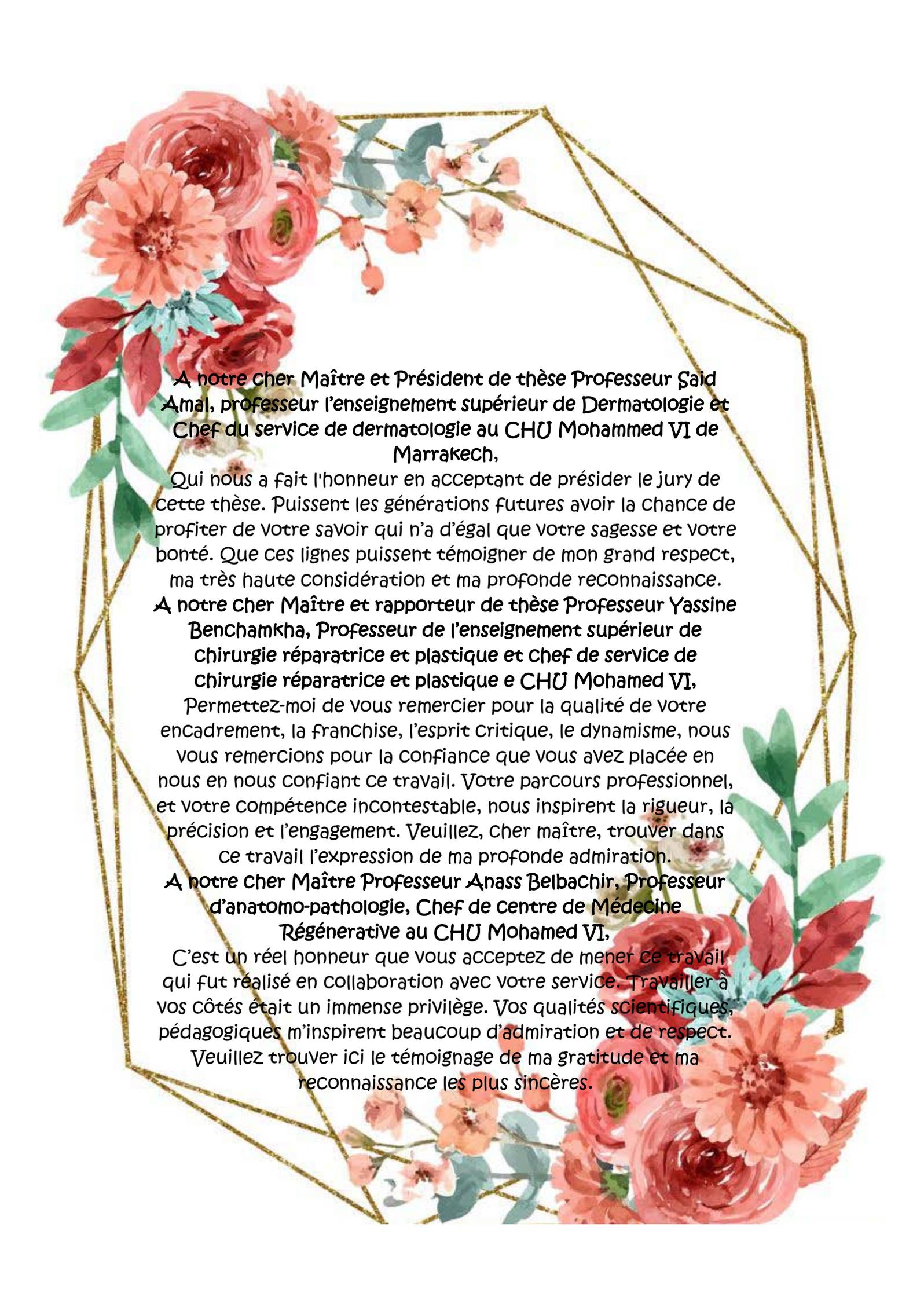
**Aux médecins de Service de chirurgie réparatrice et
plastique, Dr Mehdi El gueouatri, Dr El Mehdi marouch, et
Dr Ismail ZINE EDDINE, nous vous remercions pour votre
assistance et collaboration pour la réalisation de ce travail.**

**A l'équipe de Centre de Médecine Régénérative, Mlle
Fatimazahra Marhoume, Mr Hamza Khattab et Mr Yassine
Naasse, nous vous remercions pour vos efforts qui ont permis
l'aboutissement de ce travail.**



REMERCIEMENTS





A notre cher Maître et Président de thèse Professeur Saïd Amal, professeur l'enseignement supérieur de Dermatologie et Chef du service de dermatologie au CHU Mohammed VI de Marrakech,

Qui nous a fait l'honneur en acceptant de présider le jury de cette thèse. Puissent les générations futures avoir la chance de profiter de votre savoir qui n'a d'égal que votre sagesse et votre bonté. Que ces lignes puissent témoigner de mon grand respect, ma très haute considération et ma profonde reconnaissance.

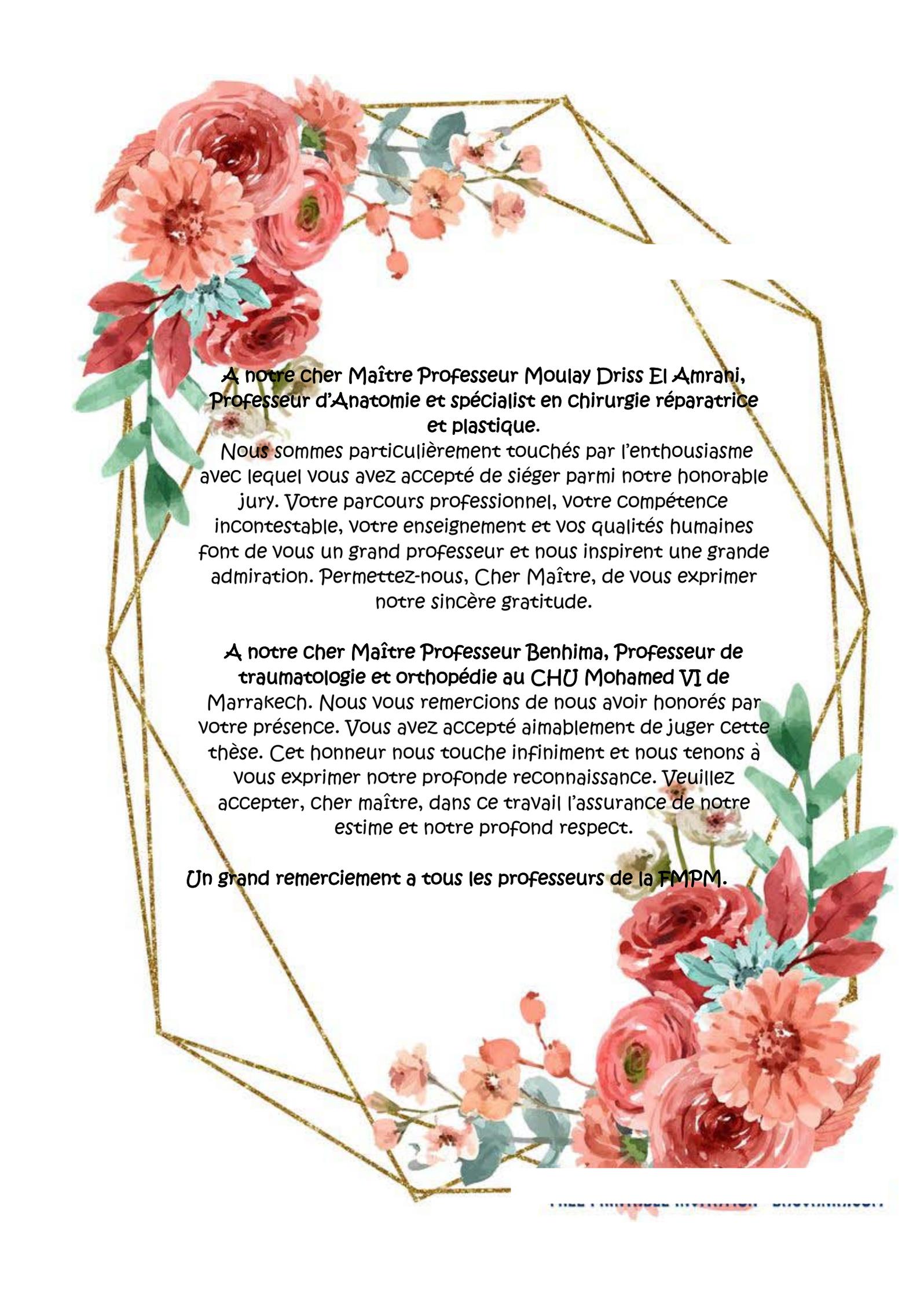
A notre cher Maître et rapporteur de thèse Professeur Yassine Benchamkha, Professeur de l'enseignement supérieur de chirurgie réparatrice et plastique et chef de service de chirurgie réparatrice et plastique e CHU Mohamed VI,

Permettez-moi de vous remercier pour la qualité de votre encadrement, la franchise, l'esprit critique, le dynamisme, nous vous remercions pour la confiance que vous avez placée en nous en nous confiant ce travail. Votre parcours professionnel, et votre compétence incontestable, nous inspirent la rigueur, la précision et l'engagement. Veuillez, cher maître, trouver dans ce travail l'expression de ma profonde admiration.

A notre cher Maître Professeur Anass Belbachir, 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 votre service. Travailler à vos côtés était un immense privilège. Vos qualités scientifiques, pédagogiques m'inspirent beaucoup d'admiration et de respect.

Veuillez trouver ici le témoignage de ma gratitude et ma reconnaissance les plus sincères.



**À notre cher Maître Professeur Moulay Driss El Amrani,
Professeur d'Anatomie et spécialiste en chirurgie réparatrice
et plastique.**

Nous sommes particulièrement touchés par l'enthousiasme avec lequel vous avez accepté de siéger parmi notre honorable jury. Votre parcours professionnel, votre compétence incontestable, votre enseignement et vos qualités humaines font de vous un grand professeur et nous inspirent une grande admiration. Permettez-nous, Cher Maître, de vous exprimer notre sincère gratitude.

**À notre cher Maître Professeur Benhima, Professeur de
traumatologie et orthopédie au CHU Mohamed VI de
Marrakech.** Nous vous remercions de nous avoir honorés par votre présence. Vous avez accepté aimablement de juger cette thèse. Cet honneur nous touche infiniment et nous tenons à vous exprimer notre profonde reconnaissance. Veuillez accepter, cher maître, dans ce travail l'assurance de notre estime et notre profond respect.

Un grand remerciement à tous les professeurs de la FMPPM.



Abréviations



LISTE D'ABREVIATIONS

PRP	: plasma riche en plaquettes
CSM	: Cellule souche mésenchymateuse
AINS	: Antiinflammatoire non stéroïdien
SVF	: stromal-vascular fraction ou fraction vasculaire stromale
CSMA	: Cellules souches d'origine adipeuse
ADSC	: adipose-derived stem cells ou Cellules souches dérivées du tissu adipeux
CAL	: cell-assisted lipotransfer
PDS	: Perte de substance
CMR	: Centre de médecine régénérative
PSM	: poste de sécurité microbiologique
IMC	: Indice de masse corporelle
CS	: Cellule souche
CSE	: Cellule souche embryonnaire
iPS	: induced pluipotent stem cells ou cellule souche pluripotente induite
ISCT	: Société internationale de thérapie cellulaire
MO	: Moelle osseuse
BM	: Bone marrow ou moelle osseuse
BMSC	: cellule souche mésenchymateuse de la moelle osseuse
CSH	: Cellule souche hématopoïétique
CFU-F	: Colony forming units fibroblast ou unités formant colonies de fibroblast
PLA	: Cellule de lipoaspirat traité
IFATS	: Société internationale de technologie appliquée au graisses
TNF	: Facteur de nécrose tumoral
TGF	: Facteur de croissance tumoral
VEGF	: Facteur de croissance endothelial vasculaire
FGF	: facteur de croissance basique des fibroblastes
ME	: Méthode enzymatique
MC	: Méthode mécanique

MMP1 : Métallo–protéase 1

ADSC–CM : Milieu conditionné des cellule souches dérivées du tissu adipeux

HDF : Fibroblaste dermique humain

UVB : Ultraviolets B

ATE : Extraits du tissu adipeux

ADSC–Exo : Exosomes des cellule souches mésenchymateuses dérivées du tissu adipeux



INTRODUCTION	1
PATIENTS ET METHODES	4
I. Objectif de l'étude :	5
II. Type de l'étude :	5
III. Population cible et échantillonnage :	5
IV. Recueil des données	5
V. Consentement éclairé et photographie	6
VI. Isolement des cellules souches mésenchymateuses d'origine adipeuse	6
VII. Injection des cellules souches mésenchymateuses d'origine adipeuse	20
VIII. Caractérisation des cellules souches mésenchymateuses d'origine adipeuse	22
IX. Outils digitaux et statistiques	23
X. Considérations éthiques	23
RESULTATS	24
I. Données épidémiologiques :	25
II. Données cliniques :	30
III. Caractéristiques des prélèvements graisse et sang :	33
IV. Données de comptage et de phénotypage des cellules souches mésenchymateuses d'origine adipeuse :	34
V. Evolution :	39
DISCUSSION	49
I. Généralités :	50
1. Les cellules souches :	50
2. Les cellules souches mésenchymateuses :	52
3. Tissu adipeux : d'un tissu de comblement à une source de cellules souches mésenchymateuses	60
4. La cicatrisation cutané : Rôle des cellules souches mésenchymateuses	68
II. Isolement des cellules souches mésenchymateuses d'origine adipeuse	71
III. Apport des cellules souches mésenchymateuses d'origine adipeuse en chirurgie plastique:	94
IV. Sécurité d'utilisation des cellules souches mésenchymateuses d'origine adipeuse	103
V. Axes d'amélioration et perspectives	104
1. Organisation du travail :	104
2. Développement de la recherche :	107
CONCLUSION	111
RÉSUMÉS	119
ANNEXES	125
BIBLIOGRAPHIE	134



INTRODUCTION

Cellules souches mésenchymateuses adipocytaires: isolement et indications en chirurgie plastique.

Devant le besoin croissant de remplacer ou de régénérer les tissus endommagés, des cellules ont été exploitées à cet égard, notamment les cellules souches. Elles présentent un potentiel illimité en ingénierie tissulaire avancée et en thérapies cellulaires, qui peut fournir des solutions thérapeutiques à de nombreuses pathologies dans divers secteurs médicaux [1].

Les cellules souches sont des cellules non spécialisées, capables de s'auto-renouveler et de se différencier en n'importe quelle cellule de l'organisme en fonction de leur potentiel de différenciation. Elles existent aussi bien dans les embryons que dans les cellules adultes. La capacité de différenciation diminue à chaque étape de développement, allant de la cellule souche totipotente à la cellule souche unipotente.

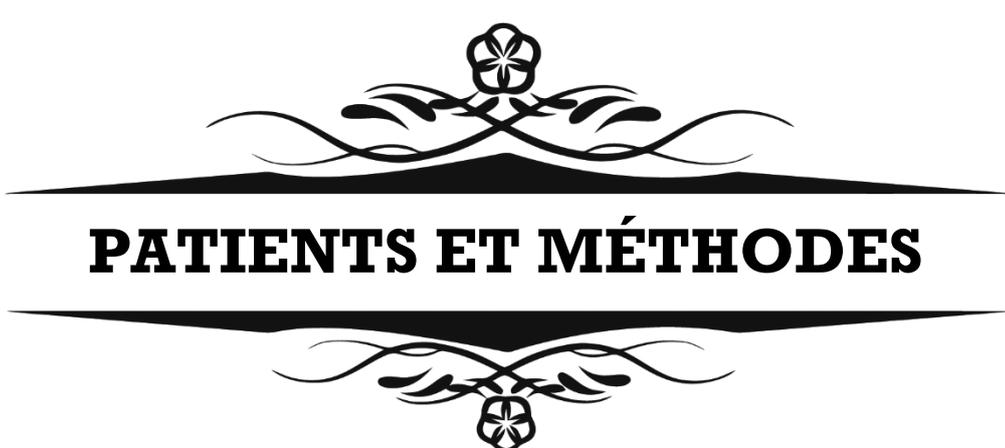
Jusqu'à la fin du XXe siècle, la population de cellules souches mésenchymateuse la mieux caractérisée et considérée comme possédant une capacité multipotente est celle des cellules souches mésenchymateuses (CSM) de la moelle osseuse, mais la faible quantité de tissus pouvant être prélevée et de cellules pouvant être récoltées, a encouragé la communauté scientifique à chercher une source plus abondante et plus accessible de cellules souches. Le tissu adipeux s'est révélé comme une source attrayante ce qui a augmenté de façon exponentielle la recherche sur les cellules souches mésenchymateuses d'origine adipeuse (CSMA).

Par définition, les cellules souches mésenchymateuses d'origine adipeuse (CSMA) sont des cellules multipotentes, prolifératives et adhérentes au plastique, isolées du tissu adipeux, capables d'exister en un état indifférencié, et également subir un auto-renouvellement et une différenciation multilinéaire, conduisant à des cellules différenciées terminales.

Cellules souches mésenchymateuses adipocytaires: isolement et indications en chirurgie plastique.

En raison de leur potentiel, et leur facilité de récolte en grande quantité avec une morbidité minime au niveau du site donneur, les CSMAs se sont montrées particulièrement prometteuses pour les thérapies régénératives.

Notre travail rejoint des études[2][3][4] déjà établies dans ce sens en mettant l'accent sur l'isolement des cellules souches mésenchymateuses à partir du tissu adipeux et de leurs différentes indications en chirurgie plastique et réparatrice.



PATIENTS ET MÉTHODES

I. Objectif de l'étude :

L'objectif de ce travail est de :

- Evaluer et discuter l'apport quantitatif des cellules souches mésenchymateuses d'origine adipeuse chez nos patients ;
- Evoquer quelques indications d'utilisation des CSMA en chirurgie réparatrice et esthétique ;
- Etablir des recommandations, afin d'optimiser les techniques d'extraction du tissu adipeux, d'acheminement et d'isolement et d'injection des CSMA

II. Type de l'étude :

L'étude est rétro et prospective, descriptive et analytique.

III. Population cible et échantillonnage :

La population cible est constituée de patients admis au service de chirurgie plastique du CHU Mohammed VI de Marrakech, pour prise en charge de défauts tissulaires, de séquelles de brûlures, ou de conséquences de l'âge, durant une période de 22 mois, s'étalant de Janvier 2020 à Octobre 2021.

Critères d'éligibilité et d'exclusion : (voir Annexe 1).

IV. Recueil des données :

Le recueil des données anamnestiques, cliniques, paracliniques, thérapeutiques et évolutives de chaque patient a été réalisé à partir des dossiers médicaux archivés au niveau du

service de chirurgie plastique du CHU Mohammed VI. Les informations ont été recueillies à l'aide d'une fiche d'exploitation établie au préalable : (voir Annexe 2).

V. Consentement éclairé et photographie :

Une documentation photographique précise a devenu incontournable en chirurgie reconstructrice, cosmétique et 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, péri-opératoire, et les soins postopératoires. (Voir Annexe 3).

VI. Isolement des cellules souches adipocytaires :

1. Préparation et techniques de prélèvements :

a) Préparation au geste :

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

- Arrêt strict du tabac pour au moins 2 mois.
- Arrêt de la prise d'aspirine, d'AINS, ou d'anticoagulants oraux dans les 15 jours qui précèdent l'intervention.
- Arrêt de la contraception oral 1 mois avant l'intervention.
- Une douche la veille de l'intervention

b) Prélèvement du tissu adipeux :

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

i. Matériel pour liposuction :

Le plateau technique était composé de:(Voir figure 1)

- Jeu de canules d'infiltration et de liposuction

Cellules souches mésenchymateuses adipocytaires: isolement et indications en chirurgie plastique.

- Seringues de Luer–Lock
- Instrument pour sutures
- Instrument pour anesthésie locale
- Antiseptiques et champs stériles

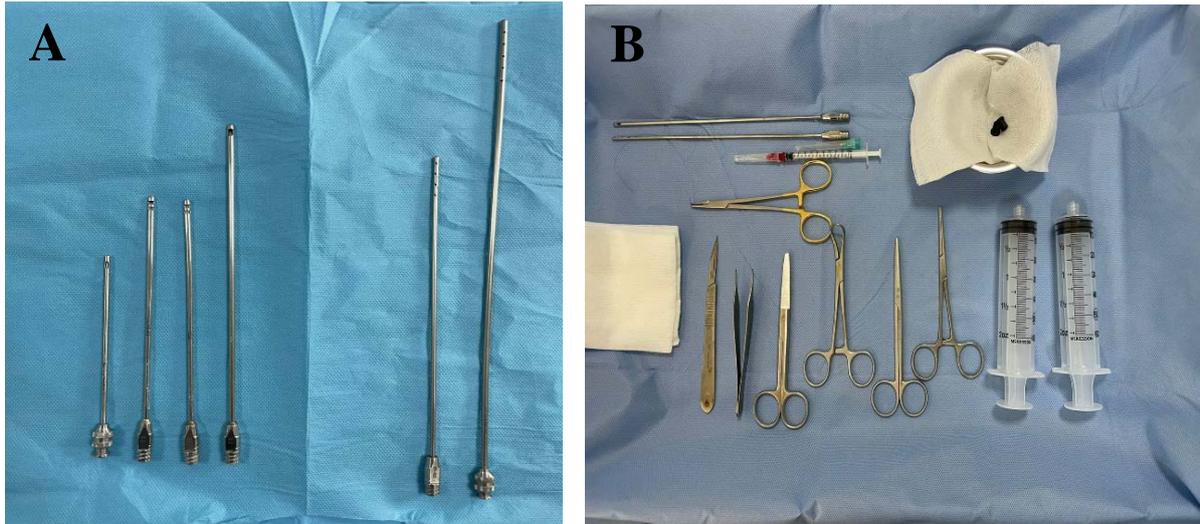


Figure 1 : A. canules de lipoaspiration (à gauche) et d'infiltration (à droite) /B. Matériels d'extraction du tissu adipeux

ii. Préparation de l'infiltration :

Le fluide tumescent est préparé à l'aide de la solution de Klein contenant pour 500 cc de Sérum salé isotonique : 20 cc de Xylocaïne 2% + 1 mg d'adrénaline + 25 cc de Bicarbonate de Sodium (figure 2).

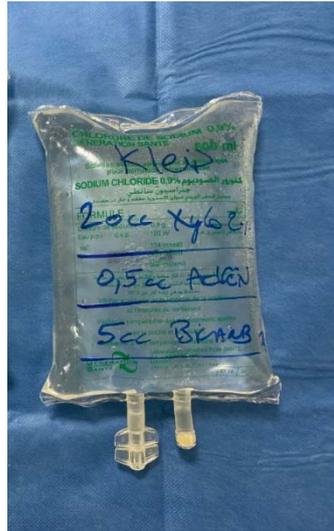


Figure 2 : solution de Klein

iii. Le site de prélèvement :

Le site de prélèvement est la paroi abdominale sous ombilical et flancs pour l'ensemble de nos patients, au niveau de la graisse profonde en respectant 5 mm en sous dermique. (Figure 3).



Figure 3 : Le site de prélèvement

iv. Infiltration :

La xylocaïne 2% a été injectée en sous ombilicale, et une incision de 1 mm a été faite par une lame chirurgicale N° 11, au-dessous de l'ombilic, permettant la pénétration de la canule d'infiltration. (figure 4)

Cellules souches mésenchymateuses adipocytaires: isolement et indications en chirurgie plastique.

Une infiltration préalable est réalisée pour tous nos patients dans un but antalgique et hémostatique et est administrée à travers une canule d'infiltration calibre 3mm/4 mm, en adoptant la technique WET (figure 4). Il est important d'attendre environ 30 minutes après la tumescence afin que le liquide s'infilte et que ses effets pharmacologiques complets prennent effet. Ceci est révélé par une légère diminution de la fermeté et de la capacité à saisir la peau.

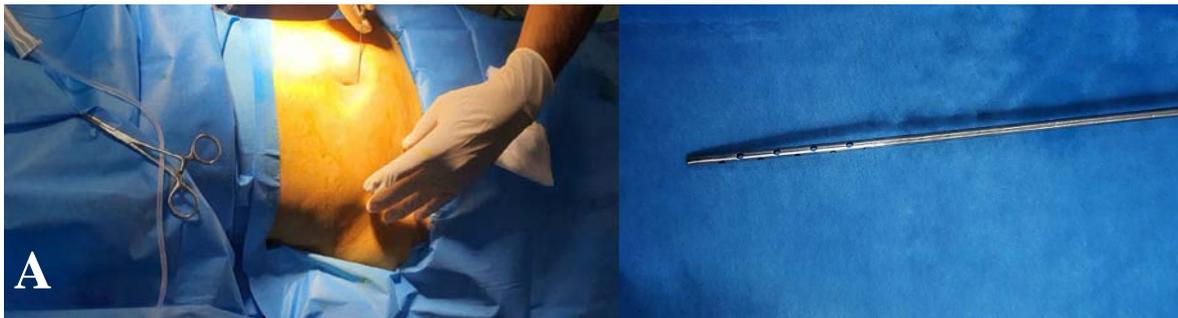


Figure 4 : Technique (A) et canule d'infiltration (B)

v. Lipoaspiration

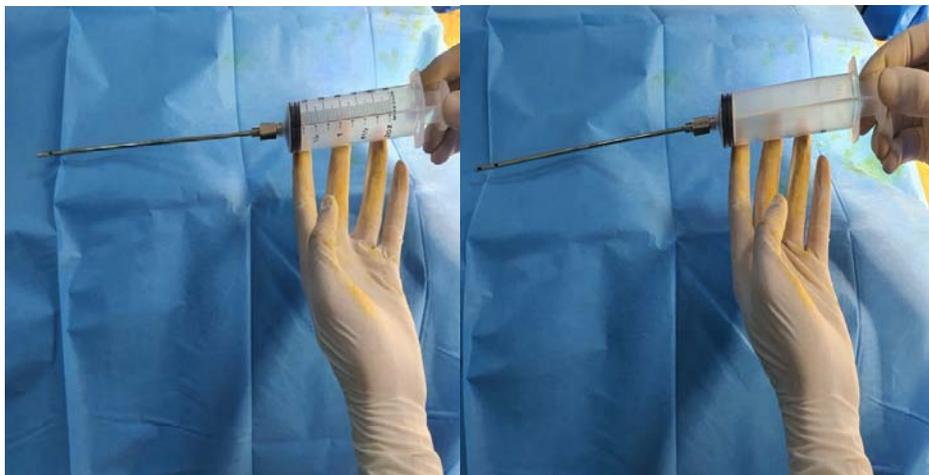


Figure 5: Les canules de lipoaspiration montées sur seringue

Cellules souches mésenchymateuses adipocytaires: isolement et indications en chirurgie plastique.

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 (figure 5)

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 6)

Un drainage par pression est fait afin d'éliminer le reste de l'infiltration et l'épanchement séro-hématique, ensuite l'acide fucidique est appliqué au niveau de l'incision avec une compression légère de l'abdomen.



Figure 6 : Lipoaspiration

Le lipoaspirat a été ensuite laissé pour décantation sous l'action de la gravité, et la fraction aqueuse est éliminée (figure 7)

La quantité de graisse prélevée après décantation varie entre 30cc et 120 cc.

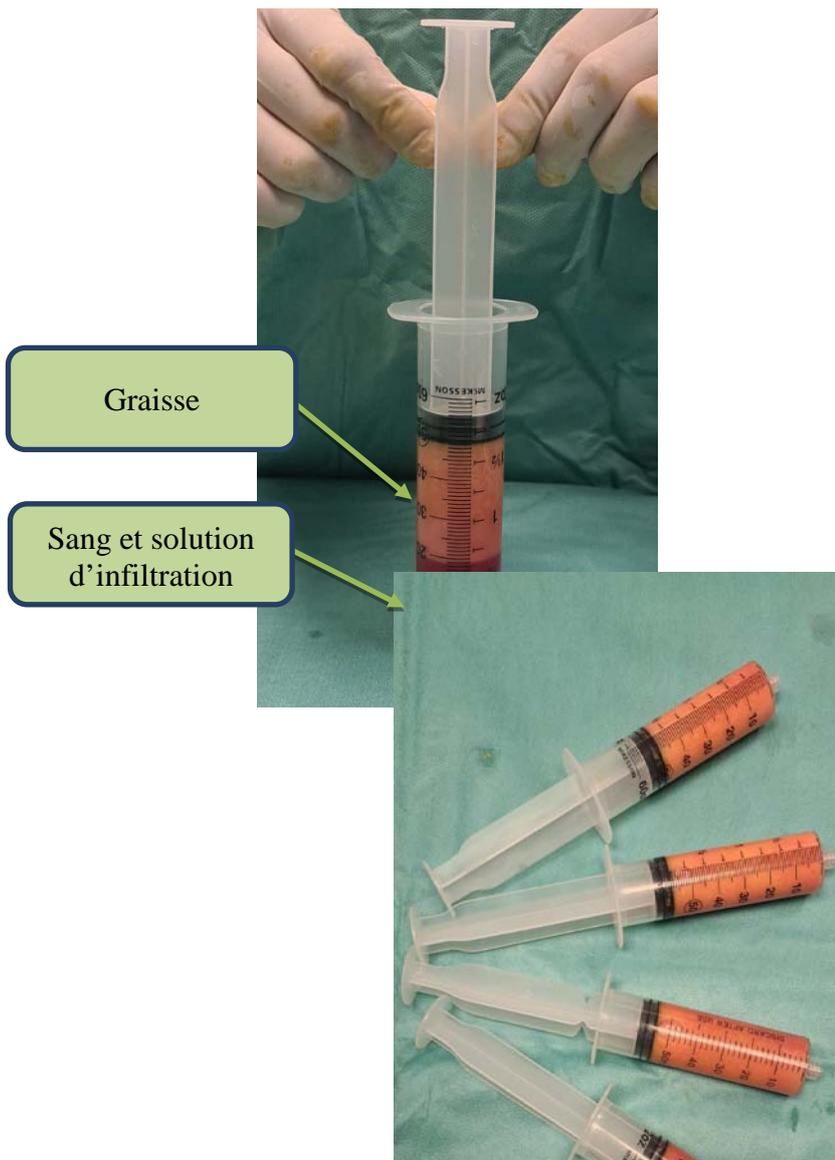


Figure 6 : Décantation du lipoaspirat.

c) **Prélèvement sanguin pour Plasma riche en plaquettes :**

Un prélèvement sanguin de 48cc a été réalisé via une veine périphérique en utilisant un tube contenant le citrate de sodium comme anticoagulant (figure 8 et 9). Les tubes seront acheminés ensuite au Centre de Médecine Régénérative.



Figure 8 : prélèvement sanguin



Figure 9 : Tubes citratés pour recueil du PRP

2. Acheminement et isolement des cellules souches mésenchymateuses d'origine adipeuse au Centre de Médecine régénérative :

a) Acheminement des prélèvements :

Les seringues sont verrouillées à l'aide d'un bouchon, étiquetées puis placées dans une boîte stérile. (Figure 10)

Les prélèvements du tissu adipeux et sanguins ont été mis dans un récipient stérile au Centre de Médecine Régénérative, à température ambiante, dans les 5 minutes suivant le prélèvement, munis d'une fiche dûment remplie. (voir Annexe 2)



Figure 10 : Mise en condition

b) Isolement des cellules souches mésenchymateuses d'origine adipeuse :

Les CSMAs 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 Cytométrie de flux.

i. Préparation du poste de travail : (Figure 11)

- 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 11 : Poste de travail

ii. Lavage :

Les seringues bouchonnées sont placées verticalement pour séparer les fragments de tissus flottants de la solution tumescence et du sang (figure 12). 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 12 : Décantation

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 13).



Figure 13 : Lavage

iii. La digestion enzymatique :

- Préparation de l'enzyme de digestion : l'enzyme utilisée est la collagénase type I et II. Elle est sous forme de poudre dans un flacon stérile. Elle est préparée par l'ajout de solution saline stérile. (Figure 14).
- 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 15).
- Le processus de digestion est inspecté visuellement. Il est arrêté une fois le processus de digestion est terminé.

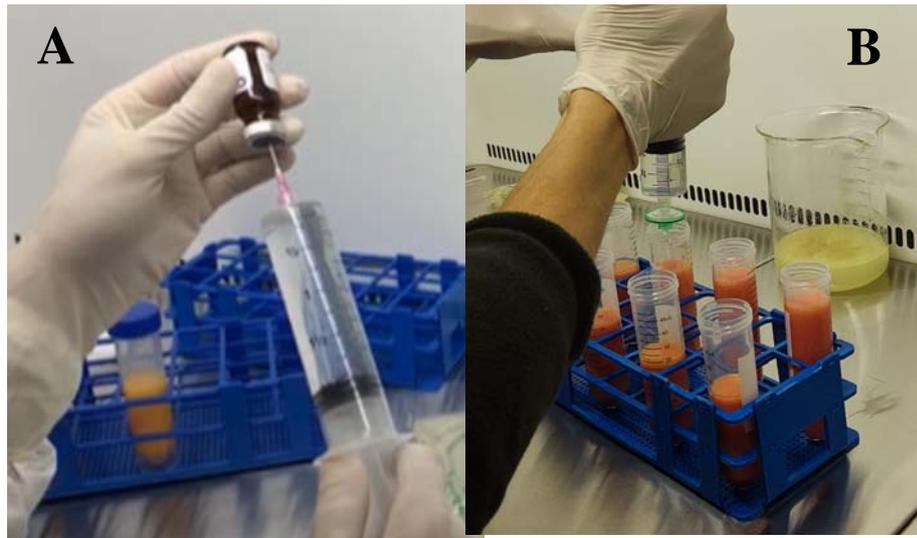


Figure 14 : Préparation de la collagénase



Figure 15 : Incubation/Agitation

iv. Centrifugation :

Le processus a pour but de séparer le culot cellulaire du surnageant. Le surnageant est éliminé. (Figure 16).



Figure 16 : Centrifugation

1. Préparation du Plasma riche en plaquettes :

- Les tubes ont subi un double processus de centrifugation ; (Figure17)
- 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 17 A)



Figure 17 : (A) Centrifugation du prélèvement sanguin, (B) Activation du PRP.

2. Mélange du Plasma riche en plaquettes et cellules souches mésenchymateuses d'origine adipeuse et réacheminement au service de chirurgie plastique et réparatrice :

- A la suite de la centrifugation
- Le culot contenant les CSMA a été isolé à l'aide d'une pipete ; (figure 18).
- Un échantillon a été mis de côté pour le comptage et le phénotypage ;
- Le culot a été mélangé au PRP (précédemment préparé) ;
- Le mélange a été filtré à l'aide d'un filtre de 100 micromètres ;

Cellules souches mésenchymateuses adipocytaires: isolement et indications en chirurgie plastique.

- Le produit final a été ensuite placé sur une seringue étiquetée afin d'être acheminé au service de Chirurgie Plastique et Réparatrice ; (figure 19).
- Une activation du produit final par une lumière LED a été réalisée afin d'augmenter l'efficacité.
- Le mélange CSMA et PRP a été réacheminé dans une boîte stérile, à température ambiante au service de chirurgie plastique réparatrice et esthétique.

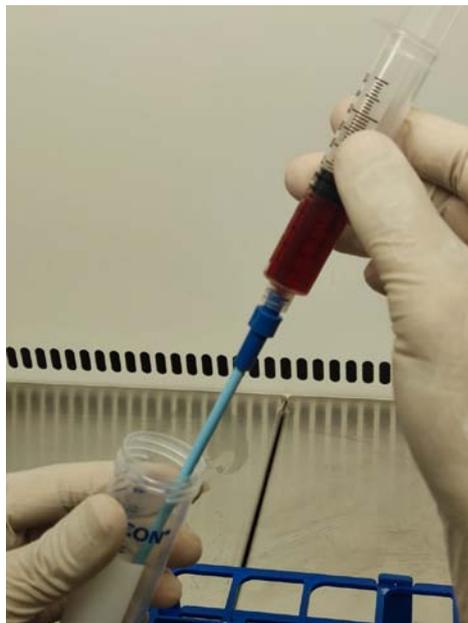


Figure 18: Isolement du culot des CSMA_s



Figure 19: le produit final

VII. Injection des cellules souches mésenchymateuses d'origine adipeuse :

Le produit préparé au CMR est transféré dans des seringues de 1 cc et était prêt à l'injection.

L'injection des CSMA se fait 2h30 à 3h après leur prélèvement. 1 seule séance a été réalisée pour tous nos patients.

Les pertes de substances chroniques ont été injectées à l'aide de seringue de 1cc en intra lésionnel, bourgeons et périphéries.

Pour les séquelles de brûlures, les CSMA ont été injectées en intra et péri-lésionnel.

Pour l'alopecie, les CSMA ont été injectées à l'aide d'une seringue 1 cc, aiguille 30 G.

Cellules souches mésenchymateuses adipocytaires: isolement et indications en chirurgie plastique.

Pour le rajeunissement facial, les CSMA ont été injectées à l'aide de canule d'infiltration spécialement adaptée à la face dans le tissu sous cutané. (Tableau I)

Tableau I : Indications d'injection des CSMA, sites d'injection et photos

Indications	Sites d'injection	Photos
Pertes de substance chroniques	Intra lésionnel, bourgeons et périphéries.	

Cellules souches mésenchymateuses adipocytaires: isolement et indications en chirurgie plastique.

Séquelles de brûlures	Intra lésionnel et périphéries	
Alopécie	Quadrillage d'1 <u>cm</u> ²	
Rajeunissement facial	Intra cicatriciel	

Le pansement a été effectué pour les PDS à l'aide de : Tulle gras + Pommade antibiotique

Les patients ont été mis sous antalgiques (Paracétamol) ± antibiotiques (Amoxicilline + Acide fucidique) en fonction des indications, et sont tous revus à un intervalle moyen de 3 mois

et 6 mois après injection des CSMA. Des photographies ont été réalisées à incidence et distance égale permettant une évaluation équitable des résultats.

L'évolution était jugée cliniquement, et par le logiciel Ekare.Inc sur tablette, qui permet la mesure en profondeur (3D) en surface (2D) et en volume en cm³ en fusionnant les deux données précédentes.

VIII. Caractérisation des cellules souches mésenchymateuses d'origine adipeuse par cytométrie en flux :

Les cellules souches mésenchymateuses d'origine adipeuse ont été colorées avec une concentration saturante d'un cocktail d'anticorps (Tableau II), selon les instructions du fabricant pendant 20 minutes à température ambiante dans l'obscurité.

Les CSMA ont été ensuite analysées, par cytométrie en flux Macs Quant 10 Miltenyi Biotec.

Tableau II : Les marqueurs pertinents pour la caractérisation des cellules souches mésenchymateuses.

Marker	Expressed by
MSC-positive marker	
CD73, CD90, CD105	MSCs
MSC-negative marker	
CD14	Monocytes and macrophages
CD19	Pan B cells
CD34	Primitive hematopoietic progenitors and endothelial cells
CD45	Pan-leukocyte cells
HLA-DR	Dendritic cells, B cells, monocytes, macrophages

IX. Outils digitaux et statistiques :

L'analyse de l'évolution clinique a été effectuée à l'aide du logiciel Ekare Inc, l'analyse statistique des données a été effectuée à l'aide du logiciel SPSS. La saisie des textes et des

données a été faite sur le logiciel Microsoft Word et celle des graphiques sur le logiciel SPSS version 21. La bibliographie a été réalisée à l'aide du logiciel Zotero.

X. Considérations éthiques :

L'équipe de travail a veillé sur l'anonymat et sur la confidentialité des données de nos patients.



RÉSULTATS



I. Données épidémiologiques :

20 patients répondaient aux critères d'inclusion et d'exclusion ont été candidats à une injection de CSMA avec résultats comme suit :

1. Répartition selon l'âge :

Moyenne d'âge : 39,40 avec des extrêmes de 15 à 75 ans.

La majorité des patients appartenait à une tranche d'âge comprise entre 15 et 30 ans, constituant ainsi 35 % des patients, suivie par la tranche d'âge de 30 à 45 ans avec un pourcentage de 30 %.

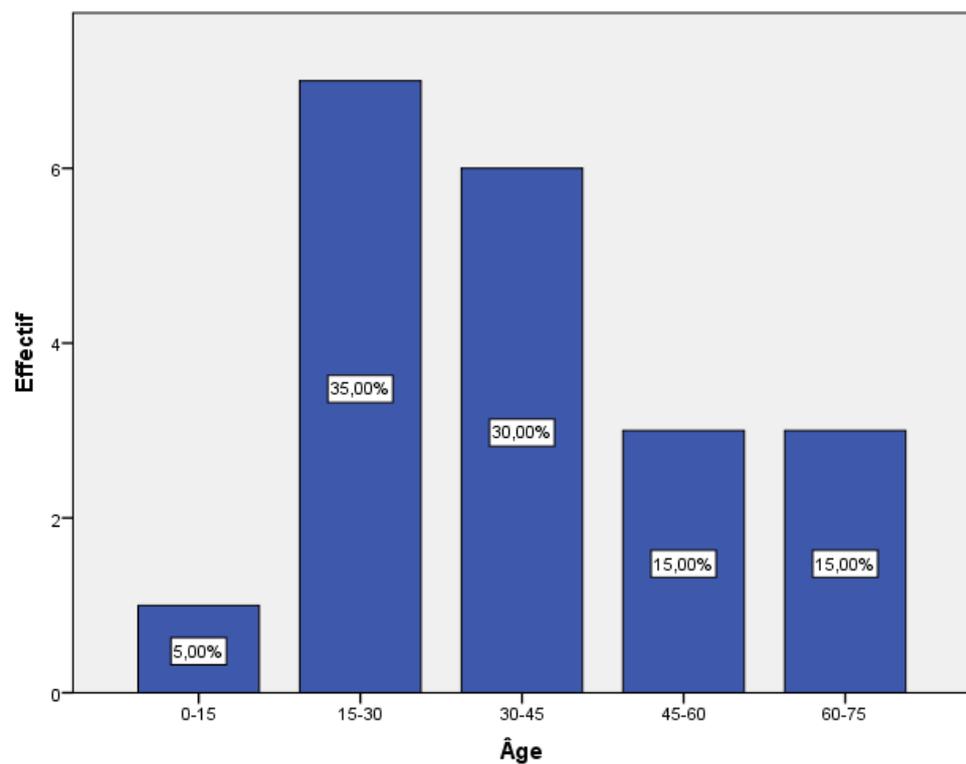


Figure 20 : la répartition des patients selon l'âge.

2. Répartition selon le sexe :

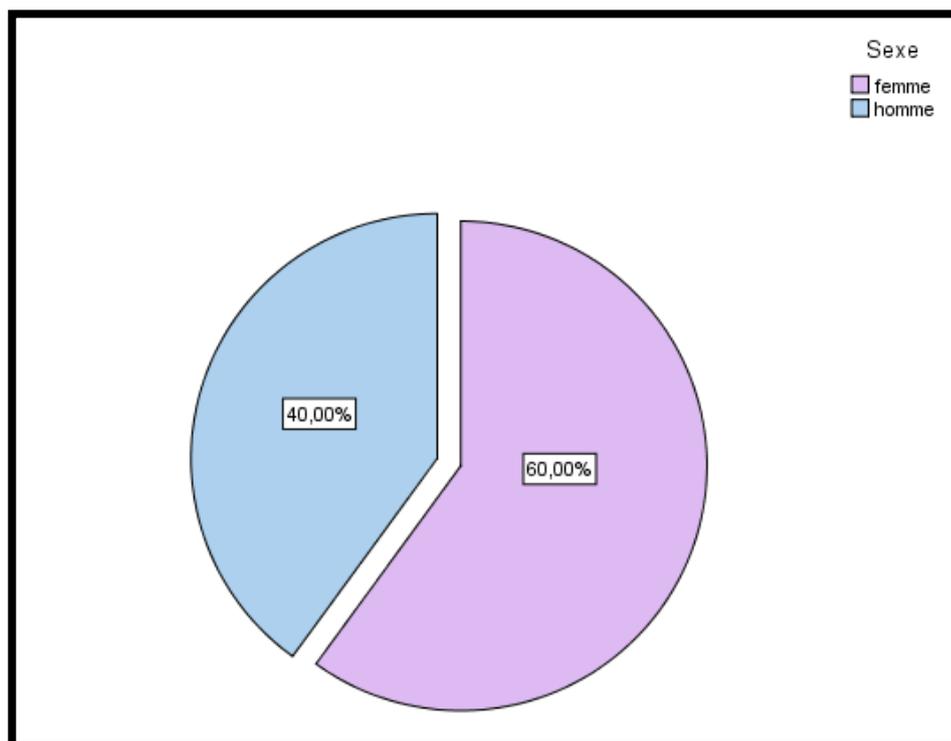


Figure 21 : Répartition des patients en fonction du sexe.

Notre série a été caractérisée par une prédominance féminine, 60 % des patients étaient des femmes, soit un sex-ratio H/F de 0,66.

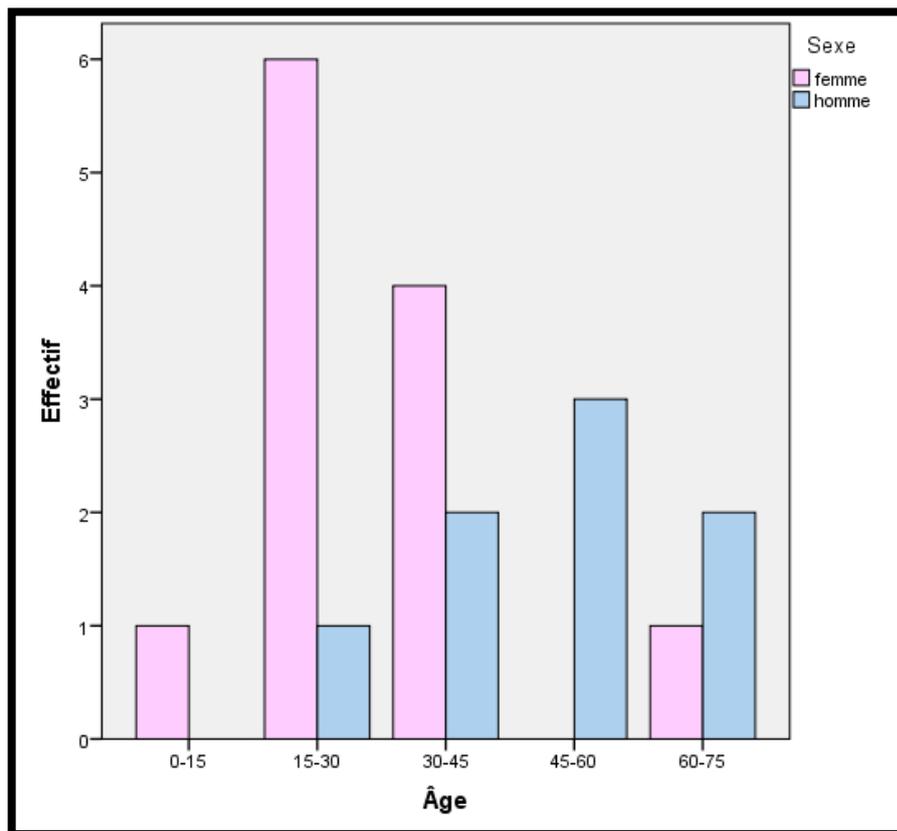


Figure 22 : Sexe des patients par tranche d'âge

La population jeune de 15 à 45 ans est caractérisée par une prédominance féminine, alors que la population âgée est prédominée par le sexe masculin.

3. La distribution géographique :

Parmi les 20 patients, 19 provenaient du milieu urbain soit 95%, et 1 du milieu rural soit 5%.

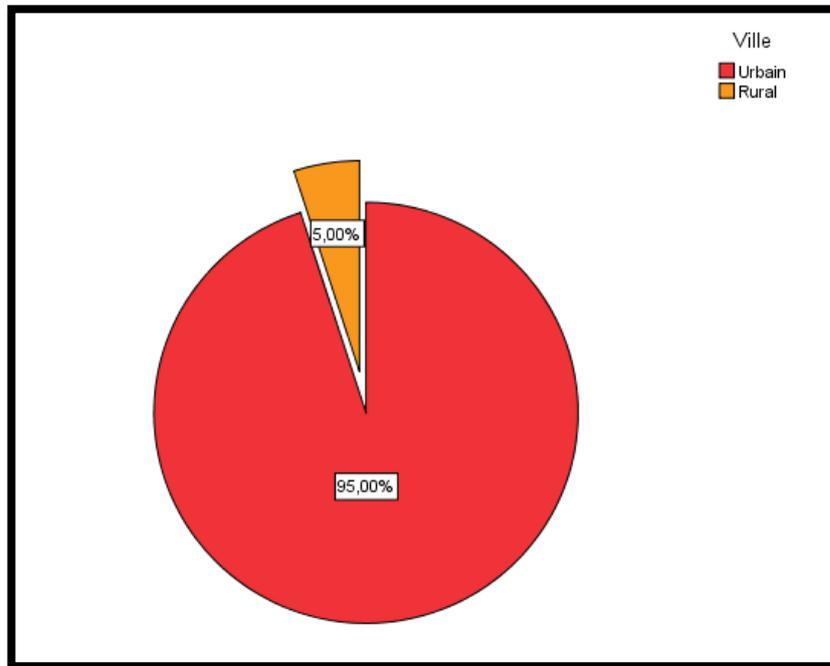


Figure 23 : la répartition géographique des patients.

4. Répartition selon 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, 30 % des patients avaient un niveau socioéconomique moyen, 55 % avaient un niveau bas et seulement 15 % avaient un bon niveau socioéconomique.

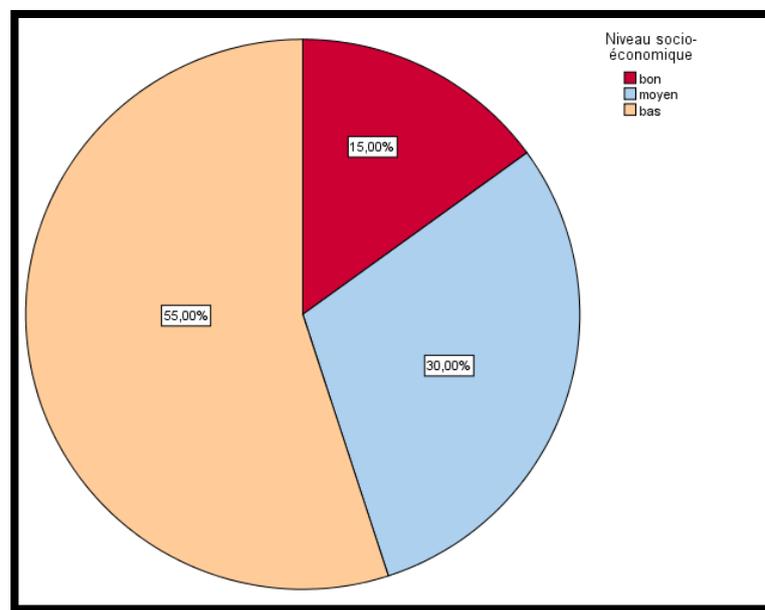


Figure 24: la répartition des patients en fonction de leurs niveau socio-économique.

II. Données cliniques :

1. Antécédents

a) Antécédents médicaux :

Les antécédents médicaux ont été retrouvés chez 2 patients, soit 10% des cas :

- 1 cas de diabète de type 1 ;
- 1 cas d'anémie ferriprive ;

b) Antécédents chirurgicaux :

Les antécédents de chirurgie plastique et reconstructrice ont été retrouvés chez 6 patients, soit 30 % des cas :

- 5 greffes cutanées
- 1 lambeau cutané

Les antécédents de chirurgies traumatologiques ont été retrouvés chez 4 patients, soit 20% des cas.

c) Antécédents toxiques :

- Tabac : Dans notre série 5 patients sont tabagique et 1 patient sevré. Soit 25 %
- Alcool : 2 patients, soit 10 %

2. Examen clinique :

a) IMC

42,86% des patients ont un IMC normal, 38,10 % sont en surpoids, alors que 19,5 % sont obèses.

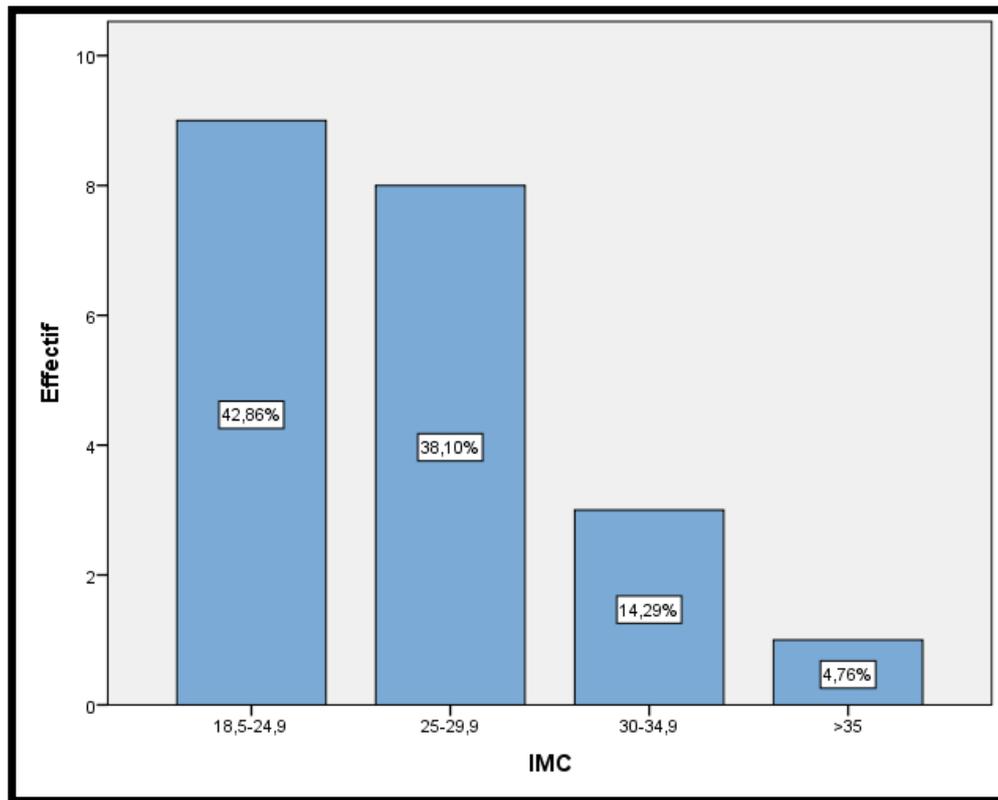


Figure 25 : La répartition des patients en fonction de leurs IMC

3. Indications d'injection des cellules souches adipocytaires :

Les indications ont été subdivisées en 2 volets :

- Le premier : cicatrisation pathologique englobant les pertes de substances chroniques ainsi que les séquelles de brûlures.
- Le deuxième : indications esthétiques qui comprennent le rajeunissement facial et l'alopecie.

2/3 des indications portent sur la réparation tissulaire et 1/3 sur des indications esthétiques.

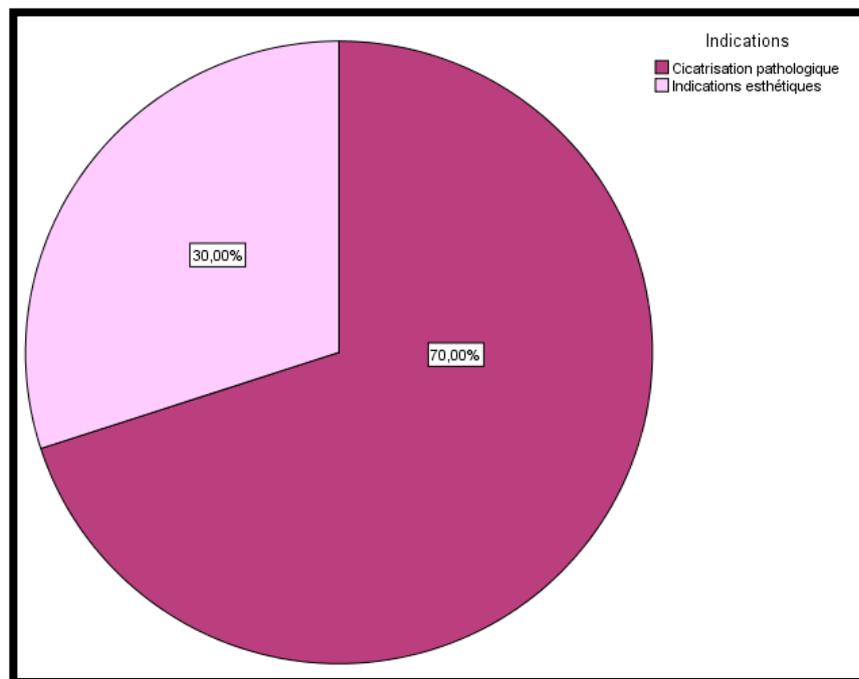


Figure 26 : Les indications d'injections de cellules souches mésenchymateuses d'origine adipeuse dans notre étude.

III. Caractéristiques des prélèvements graisse et sang :

La quantité de graisse prélevée varie entre 30 et 120mL, avec une moyenne de 68,75 mL
48 mL de sang a été prélevé pour tous les patients.

60 mL de graisse a été prélevé chez 42,85 % des patients.

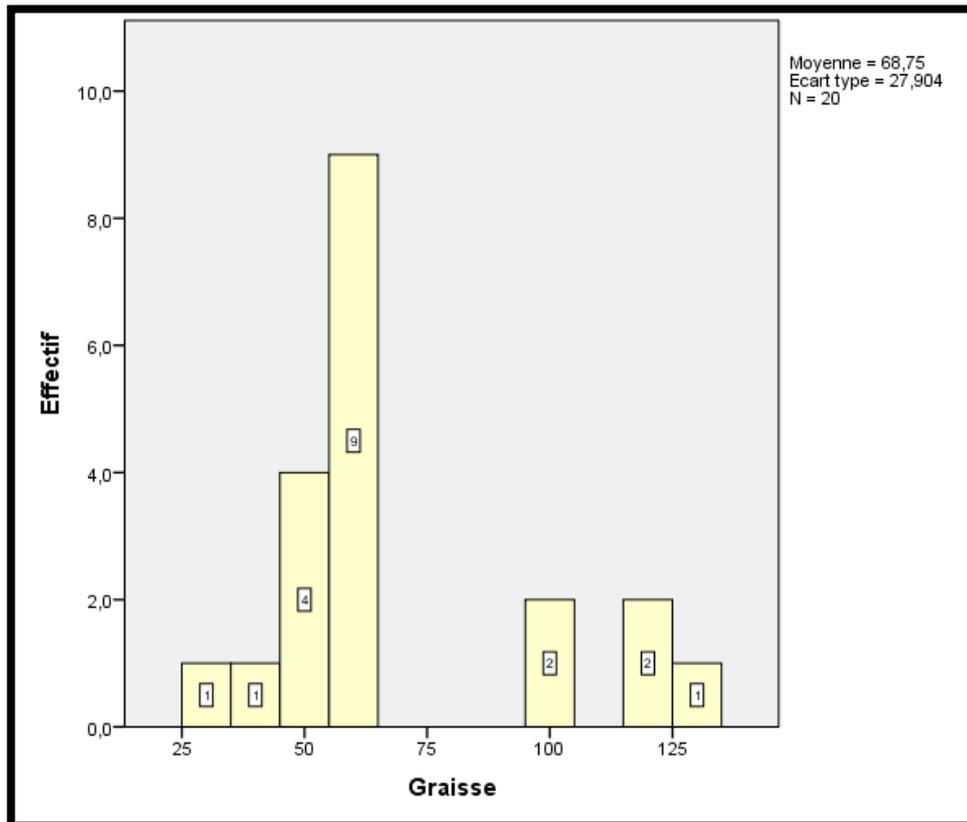


Figure 27 : Répartition des patients en fonction de la graisse prélevée.

IV. Données de comptage et de phénotypage des cellules souches mésenchymateuses d'origine adipeuse :

1. Résultats du cymomètre

Le comptage et le phénotypage des cellules ont été fait chez 11 patients.

Les cellules isolées ont été caractérisées par un test de Cytométrie de flux, les marqueurs CD90+/CD105+/CD73+ ont été détectés dans notre population de cellules. (Figure 28)

Le marqueur de CSM CD90+ et le marqueur d'endogline CD105+, marqueurs de la population endothéliale, comme l'ont suggéré Bourin et al [5] , et CD73+ marqueur de cellules stromales caractérisant les CSMAs.

A partir de 1 cc de tissu adipeux récolté, On a eu une moyenne de **6,82 x 10⁵**CSMAs. (Tableau III)

Tableau III : Rendement des CSMAs

Statistiques descriptives

	N	Minimum	Maximum	Moyenne	Ecart type
Rendement	11	12000	5360000	682045,45	1563219,132
N valide (listwise)	11				

Les cellules viables présentant les marqueurs CD105, CD90 et CD73 ont été cherchées.

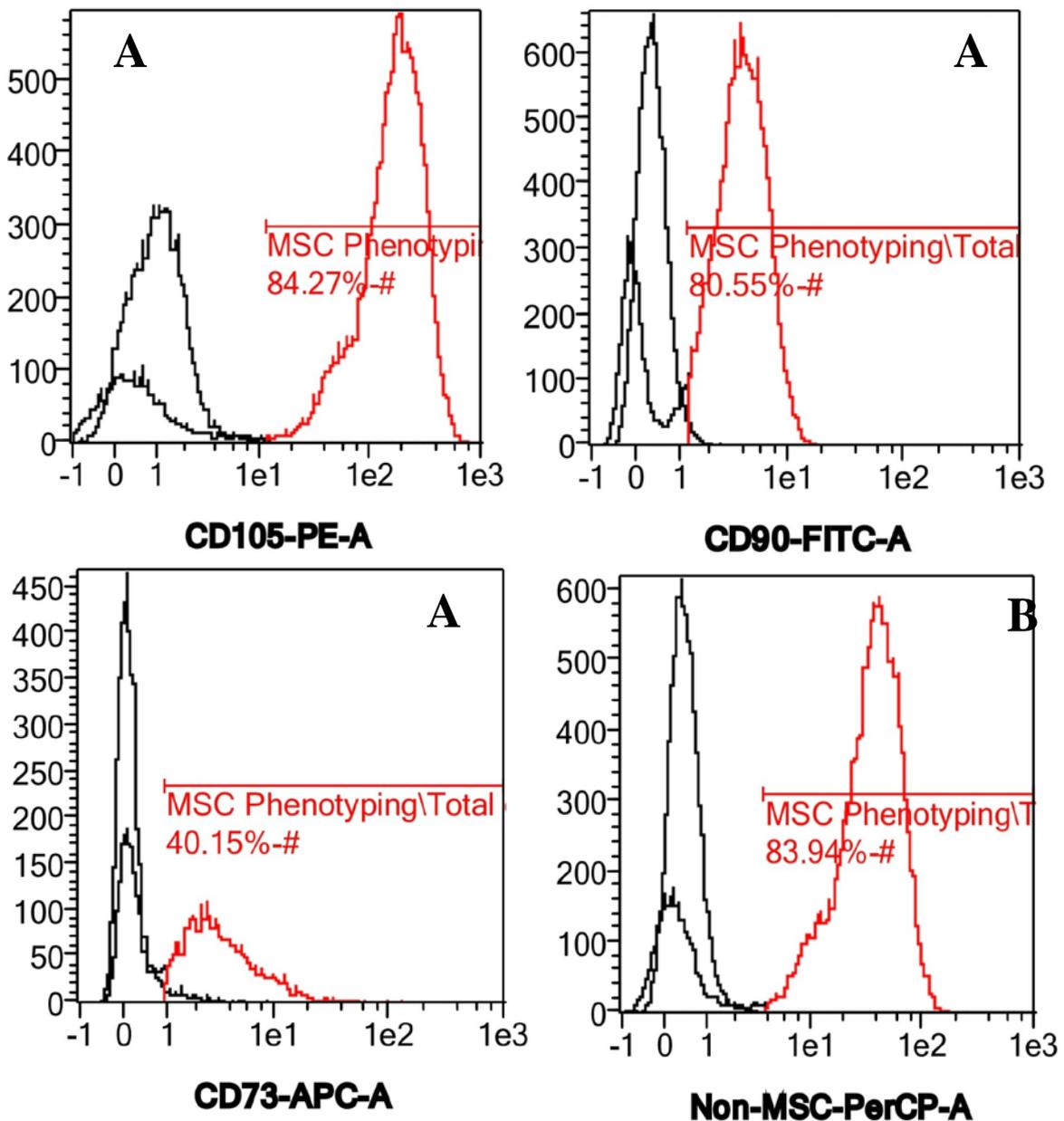


Figure 28 : Histogrammes de cytométrie en flux des CSMA isolées d'un patient représentatif. (A) Histogramme bidimensionnels montrant la coloration pour CD105, CD73, CD90 (Thy-1). (B) Histogramme bidimensionnels montrant la coloration pour CD45, CD34, CD19, CD14 et HLA-DR.

2. Résultats du comptage en fonction des profils des patients :

+ Quantité de graisse :

Multiplication du rendement cellulaire par 5, à partir de 60 mL de graisse. Figure (29)

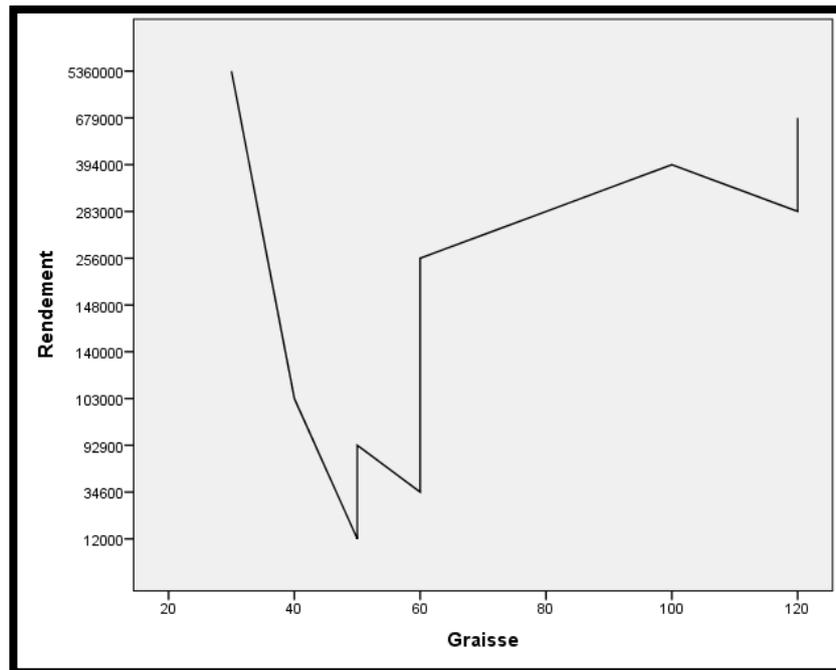


Figure 29 : Rendement des CSMA_s en fonction de la graisse prélevée.

+ L'âge :

Les rendements cellulaires les plus élevés, en fonction de l'âge, ont été constatés chez les patients âgés de 19 à 30 ans

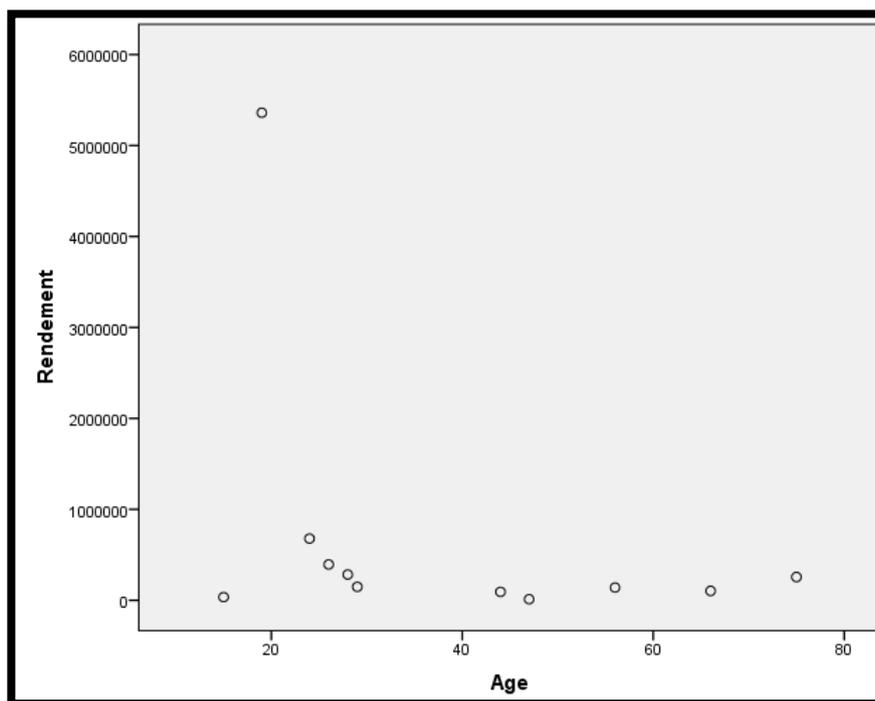


Figure 30 : Rendement des CSMA en fonction de tranches d'âge.

Le sexe :

La moyenne de rendement en CSMA chez les femmes était $1,022 \times 10^6$, et chez les hommes était $8,69 \times 10^4$. Le rendement cellulaire chez les femmes est 11 fois supérieur que chez les hommes. (Figure 29)

Tableau IV : Moyenne de rendement des CSMA en fonction du sexe.

Tableau de bord

Rendement			
Sexe	Moyenne	N	Ecart-type
femme	$1,022 \times 10^6$	7	1923624,561
homme	$8,69 \times 10^4$	4	53928,371
Total	$6,82 \times 10^5$	11	1563219,132

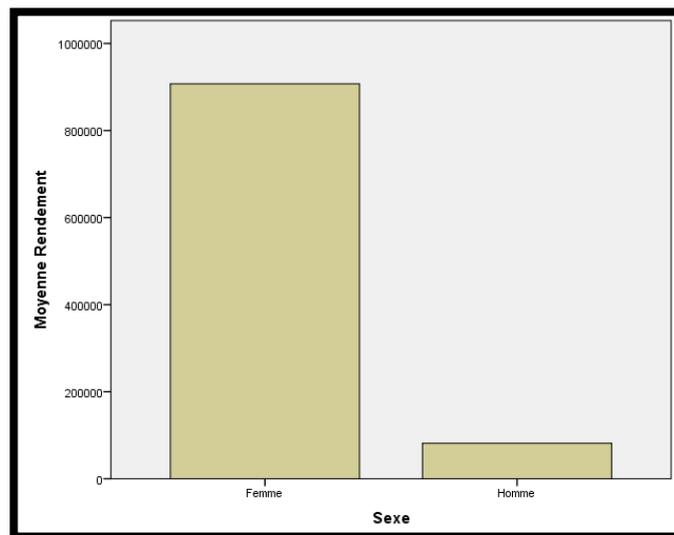


Figure 31 : Moyenne de rendement des CSMAs en fonction du sexe.

L'indice de masse corporelle :

Les rendements les plus faibles dans notre série ont été observés pour les valeurs élevées d'IMC au-delà de 30 kg/m². (Figure 32)

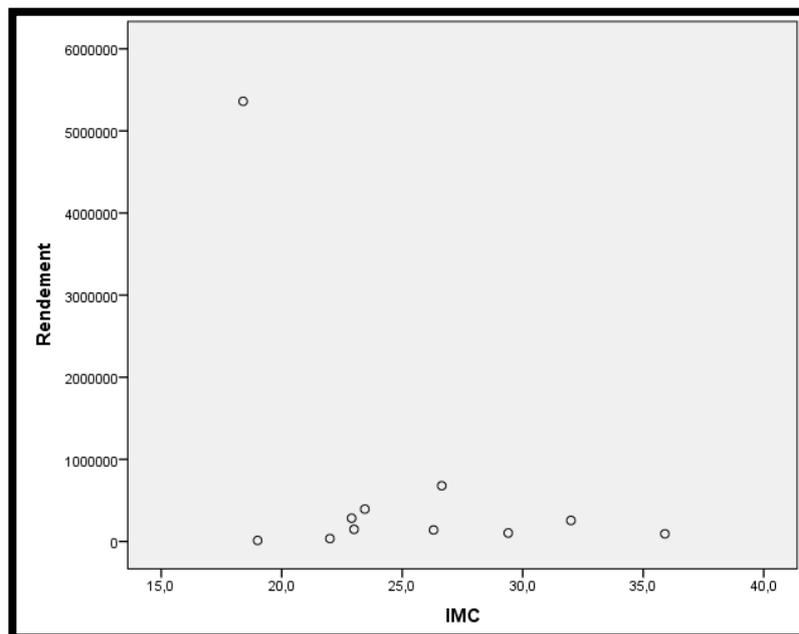


Figure 32 : Rendement des CSMAs en fonction d'IMC.

V. Evolution :



Figure 33 : Âge : 47 ans, ATCDs : valvulopathie, IMC : 19,2, PDS chronique depuis 1 an suite à une stérnotomie. Prélèvement de 60 mL de graisse, le rendement des CSMAs viables est de $1,2 \times 10^4$

A. Avant l'injection des CSMAs, bourgeons hypertrophiques avec inflammation des berges, plusieurs bourgeons dont les dimensions du plus grand sont 2.5 cm x 1 cm.

B. Après 2 mois réduction de la surface du bourgeon : 0.5 cm x 0.2 cm, avec autres bourgeons.

C. Epidémisation complète à 6 mois.



Figure 34 : Âge : 64 ans, ATCDs : myosite calcifiante et tabac, IMC : 22,1, PDS chronique depuis 2 ans la quantité de graisse prélevée : 60 mL.

A. Avant l'injection des CSMAs, PDS chronique de 7 cm x 4 cm x 1 cm, avec berges inflammatoires, ulcérés et nécrosés.

B. 3 mois après l'injection, 6 cm x 3.5 cm x 0,5 cm, bourgeon propre.

C. après 6 mois, épithémisation complète.



Figure 35 : Âge : 44 ans, ATCDs : Alcool et tabac, IMC :35,9, PDS chronique depuis 1an et demi, quantité de graisse prélevée : 60 mL, le rendement des CSMAs viable est $9,29 \times 10^4$

A. avant l'injections des CSMAs, PDS chronique au niveau de la face dorsale du pied gauche 1 cm x 1 cm x 0,2 cm, avec exposition osseuse.

B. après 3 mois d'injection, 1 cm x 1 cm x 0,1 cm, avec bourgeon propre qui recouvre l'os.

C. après 6 mois, épithémisation complète.



Figure 36 : Âge : 56 ans, ATCDs : Multiples échecs de greffe cutané, tabac, IMC :26,3, PDS chronique suite à une brûlure électrique, depuis 2 ans, la quantité de graisse prélevée : 60 mL, le rendement des CSMAs : $1,4 \times 10^5$.

A. Avant l'injection des CSMAs, PDS de la face postéro-latérale et interne du 1/3 inférieur de la jambe gauche, 17 cm x 9 cm x 0,5 cm, avec des berges inflammatoires/ ulcérés et bourgeon scléreux et fausse membrane.

B. Après 3 mois : réduction des dimensions : 15cm x 8cm x 0,5 cm, bourgeon plus propre de trophicité et vascularisation améliorées.

C. Après 6 mois : prise de la greffe.



Figure 37 : Âge : 24 ans, ATCDs : 0, IMC : 24,6, séquelles de brûlure depuis 20 ans, quantité de graisse prélevée : 120 mL, le rendement des CSMA viables est $6,79 \times 10^5$
A. Avant l'injection des CSMA, placard cicatriciel hypertrophique et dyschromique de l'hémiface droite, avec limitation de l'ouverture buccale.
B. Après 3 mois, amélioration des dyschromies, assouplissement de la peau, meilleur résultat fonctionnel sur la mimique faciale.



Figure 38 : Âge : 44 ans, ATCDs : tabac, alcool, IMC : 29,4, PDS chronique traumatique depuis 1 an, la quantité de graisse prélevée : 40 mL, le rendement des CSMAs viables est $1,03 \times 10^5$.
A. Avant l'injection des CSMAs, PDS chronique au niveau de la face antérieure de la jambe droite, 1,5 cm x 0,5 cm x 0,2 cm et exposition tibia.
B. 2 mois après l'injection, 0,5 cm x 0,3 cm.

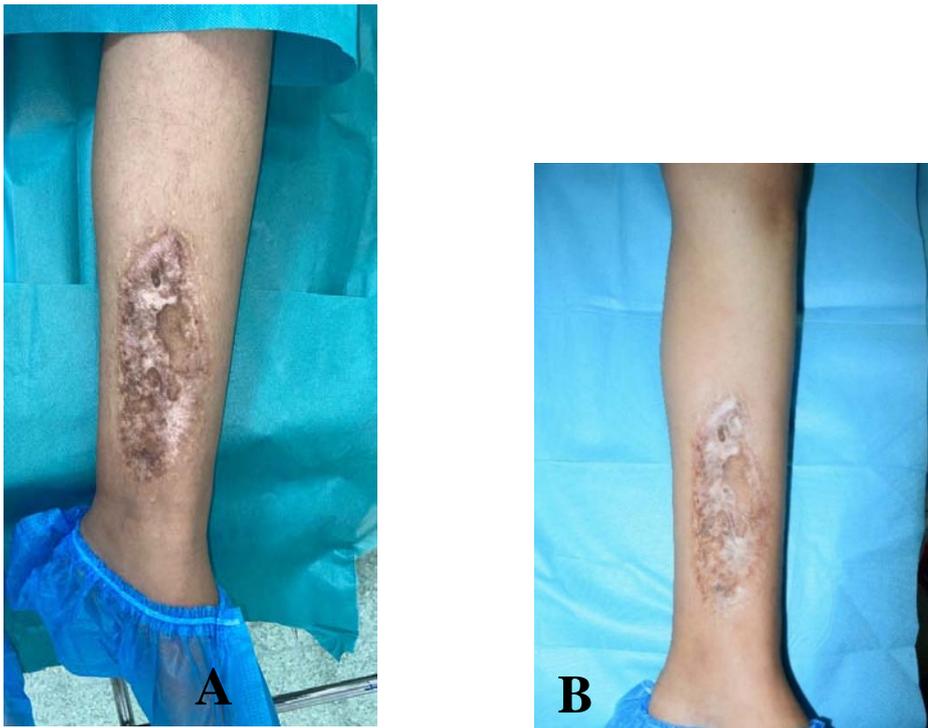


Figure 39 : Âge : 19 ans, ATCDs : 0, IMC : 18,4, PDS chronique depuis 1 an, la quantité de graisse prélevée : 30 mL, le rendement des CSMAs viables est $5,36 \times 10^6$.

A. Avant l'injection des CSMAs, un placard cicatriciel dyschromique, de 14cm x 6cm.

B. Après 3 mois, réduction des dimensions du placard dyschromique, avec une meilleure pigmentation.



Figure 40 : Âge : 22 ans, ATCDs : 0, IMC : 28,2, séquelles de brûlure depuis 20, la quantité de graisse prélevée : 100 mL,

A. Avant l'injection des CSMAs, placard cicatriciel jugal gauche hypertrophique et pigmentaire.

B. après 3 mois, assouplissement jugal,

C. Après 6 mois, amélioration de pigmentation.



Figure 41: Âge : 29 ans, ATCDs : 0, IMC : de 23,3, séquelles de brûlure depuis 6 ans, la quantité de graisse prélevée : 60 mL, le rendement en CSMAs viables est $1,48 \times 10^5$.

- A. Avant l'injection des CSMAs, placard cicatriciel hypertrophique, hyperchromique et rétractile.
B. Après 6 mois, assouplissement jugal et meilleur résultat fonctionnel sur la mimique faciale.



Figure 42 : Âge : 35 ans, ATCDs : 0, IMC : 22,9, cicatrices d'acné depuis 19 ans, la quantité de graisse prélevée : 120 mL, le rendement en CSMA's viables est $2,83 \times 10^5$.

A. Cicatrices d'acné, à types de Pic à glace et boxcar, de petite et moyenne profondeur, dispersées sur les joues.

B. réduction de la taille des cicatrices

C. Cicatrices moins visibles et amélioration de la coloration de la peau.



Figure 43: Âge : 35 ans, ATCDs : tabac, IMC : 26,4, cicatrices d'acné depuis 8 ans, la quantité de graisse prélevée : 100 mL, le rendement en CSMAs viables est $3,94 \times 10^5$.

A. avant l'injection, lésions hyperpigmentaires dispersés au niveau des joues.

B. Amélioration des cicatrices et éclaircissement cutané.



Figure 44: Âge : 75 ans, ATCDs : 0, IMC : 32,1, PDS chronique traumatique depuis 5 mois, la quantité de graisse prélevée : 60 mL, le rendement en CSMAs viables est $2,56 \times 10^5$.

A. Avant l'injection des CSMAs, PDS chronique de la face externe de la cuisse gauche, 5 cm x 9 cm x 1,5 cm,

B. Après 2 mois, 3 cm x 1 cm x 1 cm,

C. Après 6 mois, épithémisation complète.



Figure 45 : Âge : 40 ans, ATCDs : 0, IMC : 30,1, PDS chronique post amputation depuis 5 mois, la quantité de graisse prélevée : 60 mL,

A. Avant l'injection des CSMAs, PDS chronique du membre supérieur gauche, 4cm x 2,5 cm.

B. Après 3 mois, en phase d'épidermisation avec réduction des dimensions : 3 cm x 1,5 cm.



Figure 46 : Âge : 33 ans, ATCDs : 0, IMC : 23,4, mélasma malaire depuis 5 mois, la quantité de graisse prélevée : 60 mL,

A. Avant l'injection des CSMAs.

B. Après 3 mois, diminution des lésions pigmentaires



Figure 46 :Age : 29 ans, ATCDs : 0, c IMC de 32,3, Alopecie androgenique, la quantité de graisse prélevée est 125 mL.
A. Alopecie siégeant au niveau de vertex et golfes temporaux, cheveux sain en regard.
B. Après l'injection : repousse capillaire.



Figure 47 :Age : 29 ans, ATCDs : 0, IMC de 22,3, Alopecie androgenique, la quantité de graisse prélevée est 60 mL.
A. Avant alopecie siégeant au niveau de vertex, cheveux sain en regard.
B. Après l'injection : repousse capillaire.



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.[6]

b) La différenciation cellulaire:

Le potentiel de différenciation varie dans le nombre de types cellulaires vers lequel les cellules peuvent se différencier.[6], 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.[7]
- **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[8] appartenant aux 3 feuillets embryologiques, sauf les annexes (Figure 49). 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)[9][10]. 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[11].

- **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. 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.[12]
- **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 préadipocytes. 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.[12]

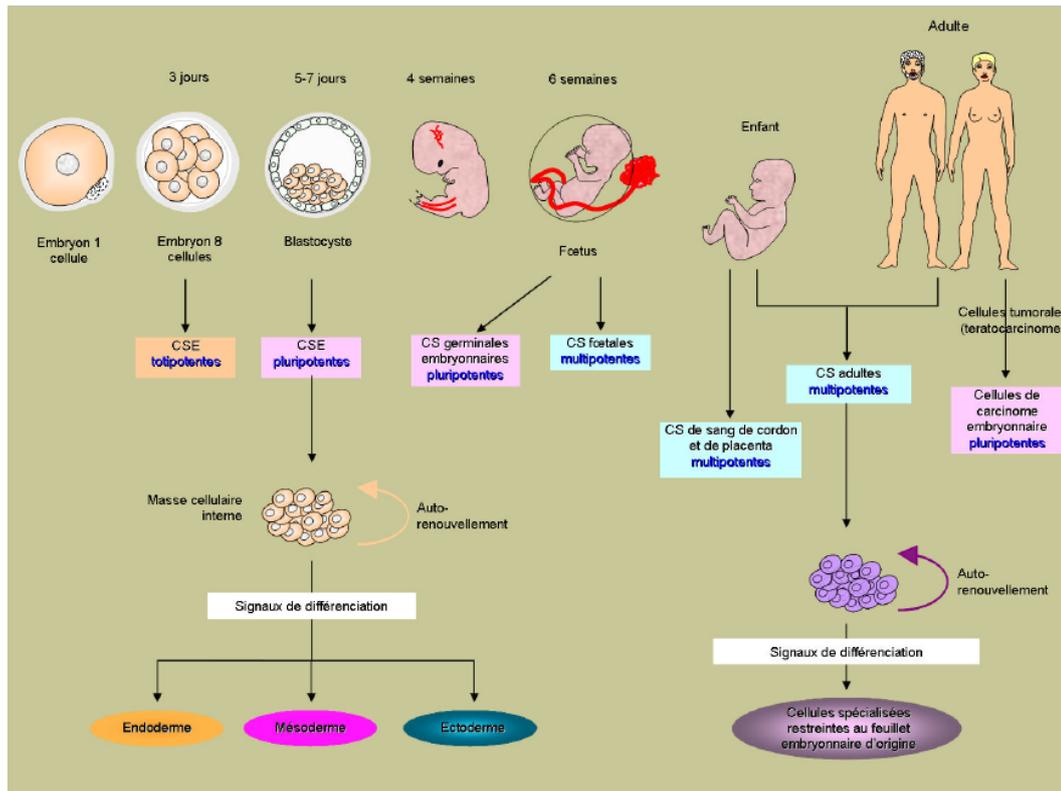


Figure 49 : Origines des cellules souches, de la formation du zygote à l'adulte.
CS : Cellule Souche ; CSE : Cellule Souche Embryonnaire.

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.

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**. [13][14][15]

En 2013, l'ISCT a dénoté des marqueurs de surface supplémentaires **CD13, 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.[5]

- **L'adhérence au plastic :**

Les CSM adhèrent, normalement, au plastic lorsqu'elles sont maintenues dans des conditions standards de culture dans des flasks 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 V)

Tableau V : Tableau des antigènes présents et absents des CSMA :

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 multi-potente :**

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) Sites donneurs de de cellules souches mésenchymateuses :

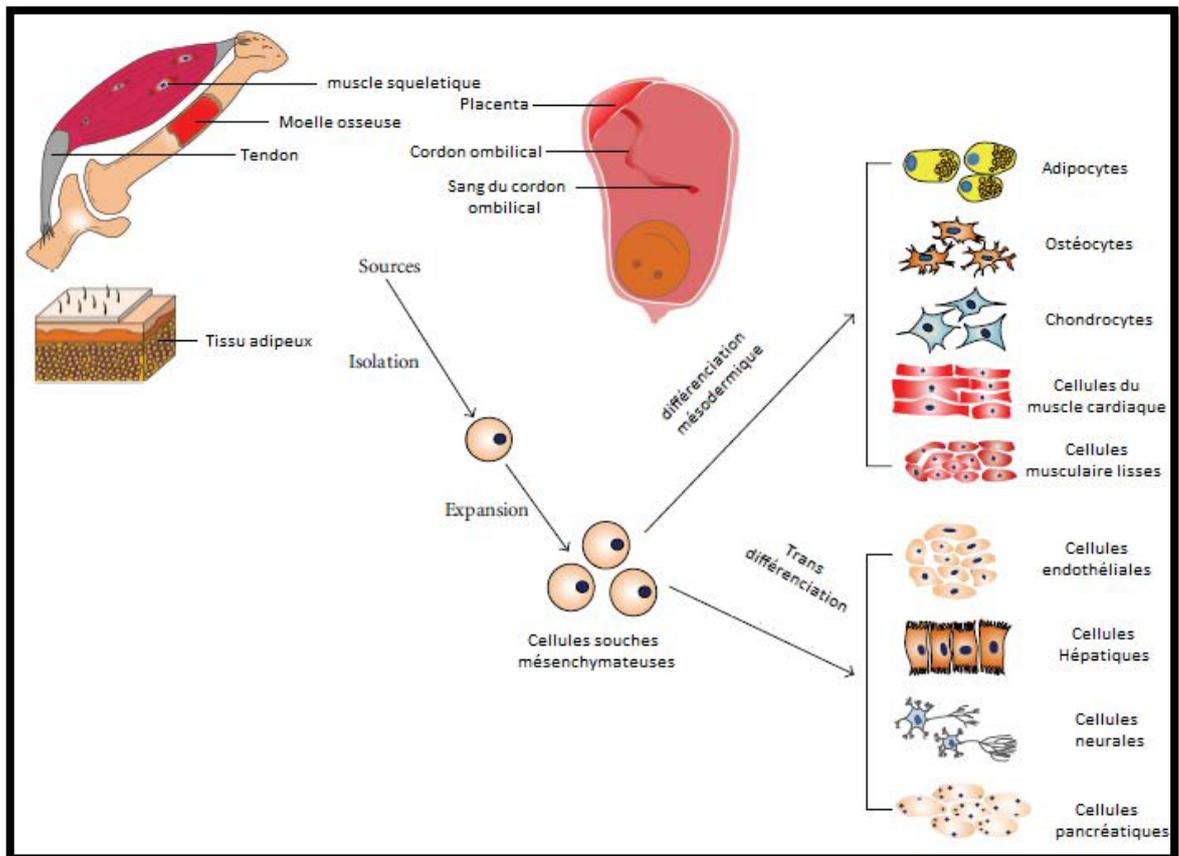


Figure 50 : Différenciation multipotente des cellules souches mésenchymateuses provenant de différentes sources [16].

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[12].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[17]) 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[18]. 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, [19] 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. [20]

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 [21][19].

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[22]. 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[23]. Ces CSM sont physiologiquement des cellules **quiescentes** avec un **faible taux de renouvellement** in vivo [24] et sont présentes en **très faible nombre** dans la moelle, soit 10 fois moins que les CSH[25].

ii. Le sang placentaire :

En 1974, S. Knudtzon[26] a montré la présence de cellules progénitrices hématopoïétiques dans le sang du cordon ombilical humain. Dix ans plus tard, M.Ogawa et collègues[27] rapportèrent la présence de cellules progénitrices 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 progénitrices. Sachant que le sang de cordon ombilical contenait des cellules capables de reproduire l'hématopoïèse in vitro et que ces cellules pouvaient être cryoconservées [26],[28][29] ;[30] , 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[31][32]. 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% [33] . La matrice extracellulaire du cordon appelée gelée de Wharton a attiré l'attention des chercheurs vu sa richesse en CS potentiellement utiles [34].

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 :

Au milieu des années 1990, Coleman [35][36] a commencé à observer que la graisse transplantée permet non seulement d'ajuster les proportions du visage et du corps, mais aussi d'améliorer les tissus environnants dans lesquels la graisse a été transplantée. Il a noté l'amélioration de la qualité de la peau vieillissante et des cicatrices ainsi qu'une amélioration remarquable d'affections telles que les lésions dues aux radiations, les ulcérations chroniques, la contracture capsulaire du sein.[37] Cette découverte a soulevé les questions sur le rôle des cellules souches dérivées de l'adipose dans la survie de la graisse. Mais ce n'est qu'en 2002[38] que les cellules souches isolées du tissu adipeux ont été décrites comme des cellules souches multipotentes.[39]

Au début du nouveau millénaire, une équipe de chirurgiens plasticiens et de chercheurs de Pittsburgh, coordonné par Bill Futrell, a fait une découverte cruciale. Ils ont démontré que le tissu adipeux est la plus grande source de cellules souches mésenchymateuses adultes et que les CSMA sont capable de se différencier en d'autres types de tissus.[40][39]. Ils ont également identifié la fraction vasculaire stromale (SVF), une source de CSMA, de cellules endothéliales (progénitrices), de lymphocytes T, de cellules B, de mastocytes et de macrophages du tissu adipeux avec un potentiel de réparation et de régénération, obtenue à partir des lipoaspirats, une fois que la partie adipeuse et fluide a été enlevée et traitée. Cela peut expliquer le rôle de la greffe de graisse dans l'accélération du processus de guérison et dans le remplacement des cellules endommagées ou manquantes.[41]

Gino Rigotti et ses collègues [42] ont géré avec succès les dommages tissulaires du rayonnement, avec une restitutio ad integrum complète des tissus traités, en utilisant les propriétés régénératrices des CSMA. Grâce aux facteurs angiogéniques libérés par les CSMA. Cela pourrait être considéré comme le premier exemple de thérapies régénératrices.[41]

Le tissu adipeux est abondant et peut être facilement prélevé chez un patient par une méthode simple et peu invasive, sans préoccupation d'ordre éthique ou des problèmes de rejet d'autogreffe. Ces cellules possèdent un taux de prolifération élevé lors de l'expansion in vitro avec une capacité de différenciation multiple[43] ;[44];[45]. Ces cellules sont équivalentes à des CSM qui se trouvent dans la moelle osseuse mais qui prennent le nom de cellules souches mésenchymateuses dérivées du tissu adipeux. Elles sont multipotentes et leur isolement se fait par adhérence au plastique en culture in vivo. Elles sont très facilement cultivables (1×10^5 cellules à partir d'une Souris et de 20 mL de lipoaspiration chez un Homme) [46]. Les marqueurs hématopoïétiques, leucocytaires et endothéliaux tels que CD31, CD34, CD45 et le complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) de classe II (HLA-DR) se sont révélés négatifs. Ces cellules sont aptes pour les procédures d'allogreffes [46][47]. Elles n'ont montré aucune différence

significative entre les différents passages, ce qui indique que ces cellules peuvent être amplifiées de façon stable in vitro pour plusieurs passages [48]. Elles peuvent se différencier en ostéoblastes, adipocytes et endothéliums qui sont typiques caractéristiques de cellules souches mésenchymateuses[49]. Elles semblent également avoir la capacité de se différencier en myocytes cardiaques, tout comme les cellules de la MO. De plus elles prolifèrent plus rapidement en culture que les cellules de la MO (multiplication par 10 en 1 semaine)[46] . Il semblerait également qu'elles soient capables de se différencier en neurones[50] .

3. Tissu adipeux : d'un tissu de comblement à une source de cellules souches mésenchymateuses

a) Répartition du tissu adipeux :

Sur le plan anatomique la graisse semble suivre le schéma architectural de tous les tissus de l'organisme : une structure polyédrique tridimensionnelle dans laquelle s'organisent de manière aléatoire les lobules graisseux, composés eux-mêmes d'adipocytes. En microscopie optique, les adipocytes sont des cellules dont la forme est variable, conditionnée en fait par les pressions externes.[51]

Les adipocytes blancs sont principalement regroupés pour former le tissu adipeux blanc, mais sont retrouvés également de façon isolée dans la moelle osseuse et dans les tissus conjonctifs.[7]

Le tissu adipeux blanc est localisé principalement dans :

- l'hypoderme, constituant le tissu adipeux sous cutané.
- les régions profondes, constituant le tissu adipeux viscéral au niveau du mésentère, de l'épiploon, et des régions rétro-péritonéales.

Le tissu adipeux sous-cutané parcourt tout le corps, mais il est disposé préférentiellement dans certaines régions, notamment au niveau abdominal, glutéal et fémoral. Ces dépôts sont

plus ou moins importants dans certaines régions selon le sexe, l'âge, l'environnement [51][52][7][53]



Figure 51 : Disposition du tissu adipeux dans l'organisme

b) **Les constituants du tissu adipeux :**

Histologiquement, il est composé d'**adipocytes**, cellules de grande taille riches en triglycérides, mais aussi de **fibroblastes**, de **macrophages**, de cellules sanguines et **endothéliales**. Ces autres cellules composent la «**fraction stromale vasculaire** » du tissu adipeux, qui peut représenter, en nombre, plus de la moitié de l'ensemble des cellules. Cette fraction stromal vasculaire contient également les **cellules souches mésenchymateuses d'origine adipeuse** (CSMA). Les cellules précurseurs de la lignée adipocytaire sont appelées **préadipocytes**, capables de former de nouveaux adipocytes, en fonction de l'état de la balance énergétique, et des conditions nutritionnelles et hormonales. L'ensemble de ces cellules contenues dans le tissu adipeux sont maintenues dans une structure tridimensionnelle créée par la matrice extracellulaire formée de fibres de collagène. [52]

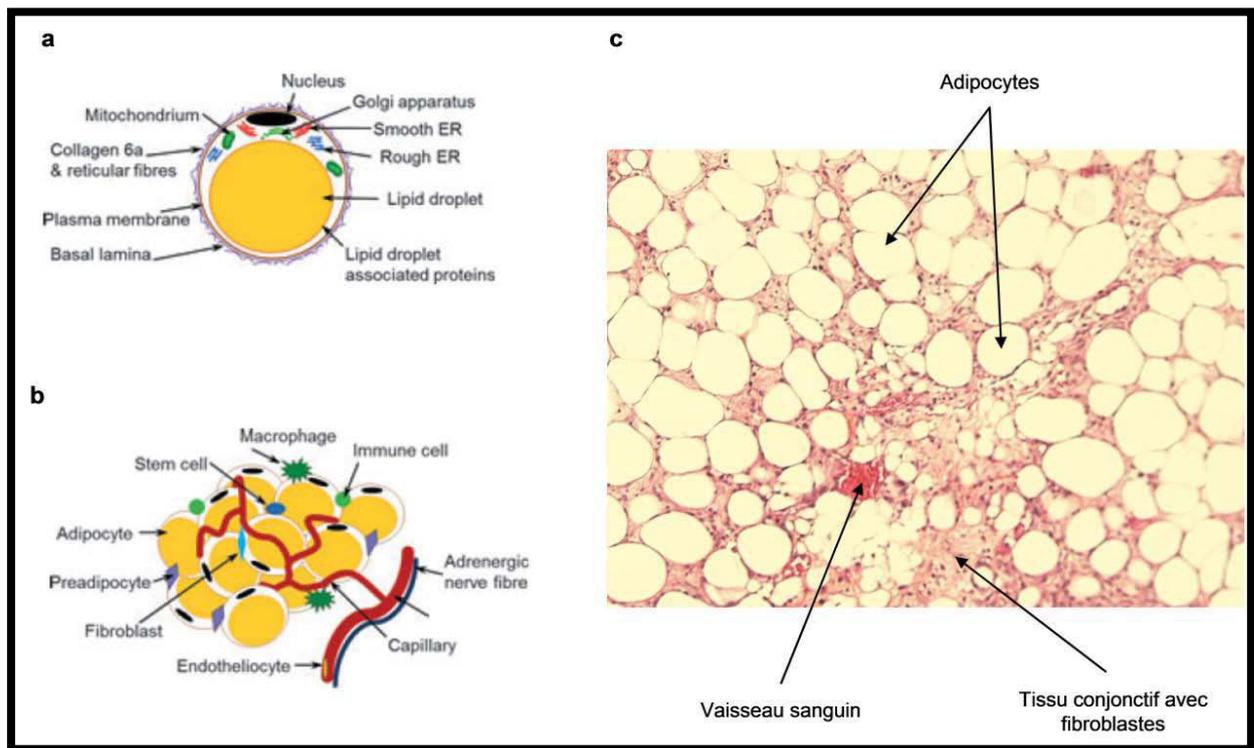


Figure 52 : constituants du tissu adipeux [7]

c) **Lestypes du tissu adipeux :**

Différents types de tissu adipeux existent, et diffèrent par leur morphologie et leur fonction. On distingue le tissu adipeux blanc, et le tissu adipeux brun.

- **Tissu adipeux blanc :**

Sa principale fonction est le stockage d'énergie. Chez l'homme, le tissu adipeux blanc est largement majoritaire et c'est lui qui est évoqué lorsque le terme « tissu adipeux » sans autre précision est utilisé. [7]

C'est au tissu adipeux blanc sous cutanée que s'intéressent la chirurgie plastique et réparatrices, et la thérapie cellulaire.

- **Tissu adipeux brun :**

Chez l'homme, le tissu adipeux brun est bien développé chez le nouveau-né, son rôle serait de protéger ce dernier de l'agression thermique qu'il subirait à sa naissance. Le tissu adipeux brun disparaît ensuite assez rapidement. Chez l'adulte, le tissu adipeux brun en tant que tel n'existe plus, mais des adipocytes bruns (ou de phénotype proche) peu fréquents pourraient persister dispersés au sein du tissu adipeux blanc[52]. Il se trouve essentiellement dans les régions para-vertébrales et surrénales ainsi qu'au niveau du cou et de la face antérieure du thorax.[7]

c) Tissu adipeux : d'un produit de comblement à une source de cellules souches mésenchymateuses :

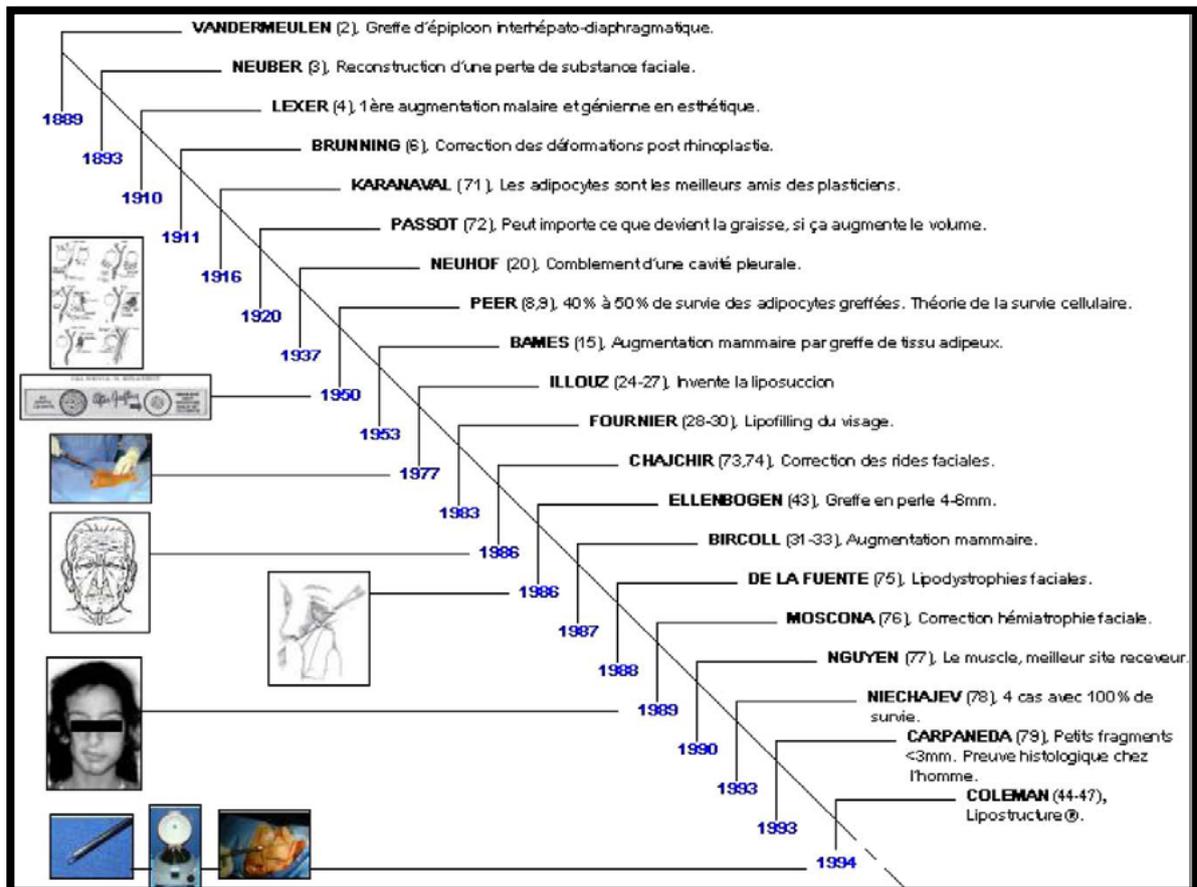


Figure 53 : Représentation de l'histoire de la greffe du tissu adipeux autologue jusqu'au développement de la lipostructure [54]

d) Les cellules souches mésenchymateuse d'origine adipeuse :

i. Définition :

Les CSMA font partie de la fraction vasculaire stromale (FVS) du tissu adipeux, en même temps qu'une population hétérogène de nombreux autres types de cellules, notamment des préadipocytes, des cellules endothéliales, des péricytes, des cellules de la lignée hématopoïétique et des fibroblastes [55]. Différents noms ont été utilisés pour décrire la

population de cellules adhérentes qui peut être développée à partir de lipoaspirats, par exemple **lipoblaste, péricytes, préadipocytes, cellules de lipoaspirats traités (PLA)**, et bien d'autres. Plusieurs travaux ont démontré la plasticité des cellules souches et leur capacité à se différencier en cellules d'origine mésodermique, comme le mésoderme, comme les adipocytes, les ostéocytes, les chondrocytes et les myocytes. Pour clarifier la nomenclature, la Société internationale de technologie appliquée aux graisses (IFATS) a proposé de nommer de : **adipose derived stem cells (ASC)** (ou cellules souches dérivé du tissu adipeux en français) la population de cellules multipotentes isolées, adhérentes au multipotentes obtenues à partir de tissus adipeux par différentes méthodes.[56]

Quant à leur avantage, les CSMAAs peuvent être récoltées relativement facilement, en plus grande quantité, et avec moins d'inconfort et moins de dommages au niveau du site du donneur [57]. Il a également été signalé que les CSMAAs ont une sénescence plus tard que les cellules souches mésenchymateuses de la moelle osseuse [58]; et ont une capacité de prolifération plus élevée que les cellules souches mésenchymateuses de la moelle osseuse [6]

ii. **Principes thérapeutiques :**

Les CSMAAs sécrètent différents facteurs de croissance dans leur microenvironnement et d'autres protéines connues pour induire une différenciation cellulaire spécifique, à savoir GDF11 (Growth Differentiation Factor 11), GDF15 (Growth Differentiation Factor 15), G-CSF (Granulocyte-Colony Stimulating Factor), GM-CSF (Granulocyte Monocyte-Colony Stimulating Factor), EGF (facteur de croissance endothélial), VEGF (facteur de croissance endothélial vasculaire), IGF (facteur de croissance de l'insuline), b-FGF (facteur de croissance basique des fibroblastes), PDGF (facteur de croissance dérivé des plaquettes), NGF (facteur de croissance des nerfs), CCL-2 (ligand 2 de la chimiokine C-C Motif), PEDF (facteur dérivé de l'épithélium pigmentaire), KGF (facteur de croissance des kératinocytes). (Figure 54)

Cellules souches mésenchymateuses adipocytaires: isolement et indications en chirurgie plastique.

En dehors de leurs potentiels de différenciations les CSMAs présentent des effets immuno-modulateurs. Elles stimulent les macrophages, régulent et inhibent les cellules T et les cellules dendritiques, induisant l'angiogénèse, une diminution de l'apoptose et de la fibrose avec une augmentation du processus anti-inflammatoire. Interleukine -1α , 6, -10 , -13), TNF- α (facteur de nécrose tumorale- α), TGF- β (facteur de croissance tumorale- β), TLR2, TLR4 (Toll Like Receptor 2, 4), VEGF (facteur de croissance endothélial vasculaire), b-FGF (facteur de croissance basique des fibroblastes).[59](Figure 55)

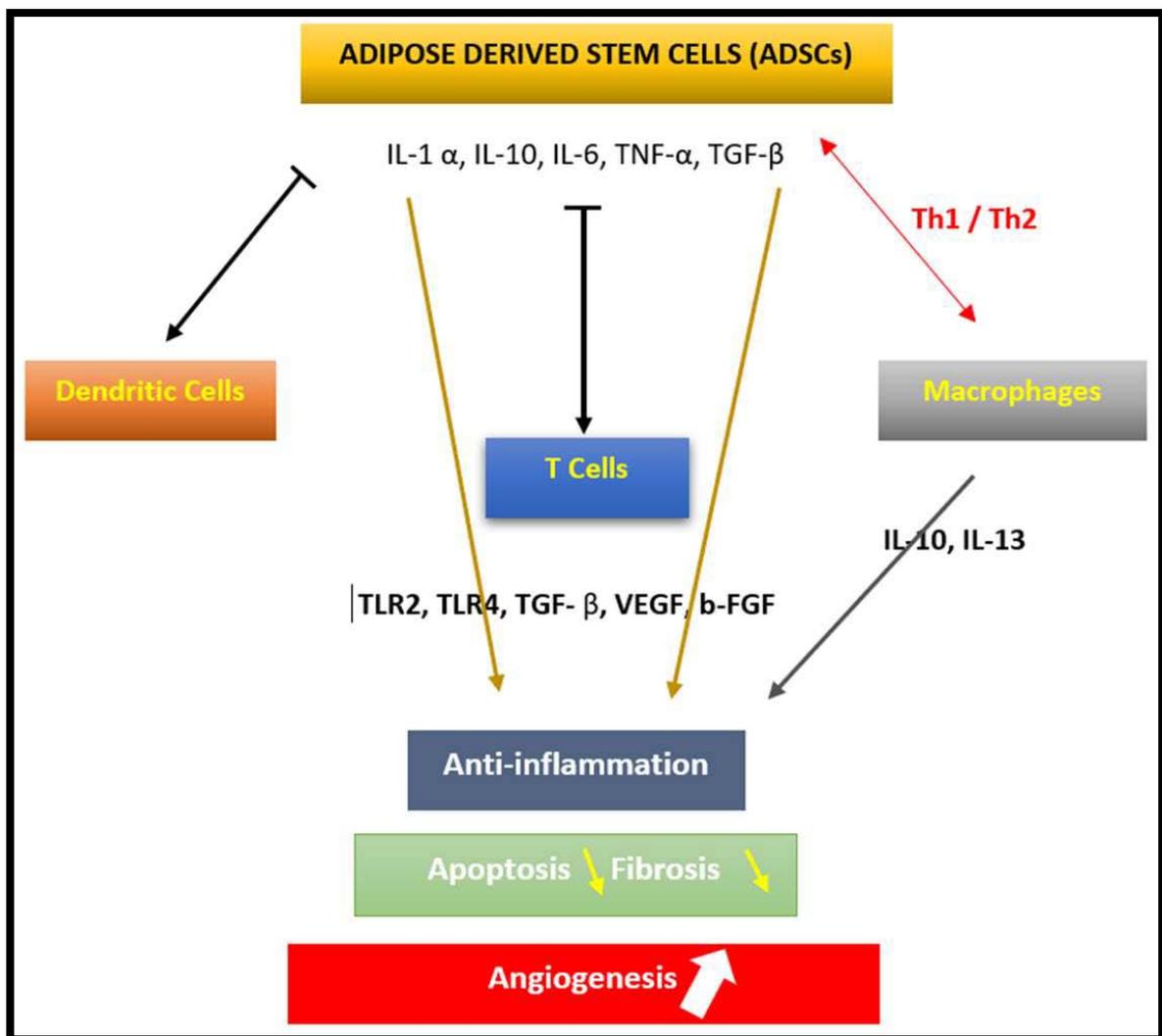


Figure 54 : Effets immuno-modulateurs des cellules souches mésenchymateuses d'origine adipeuse (CSMA).

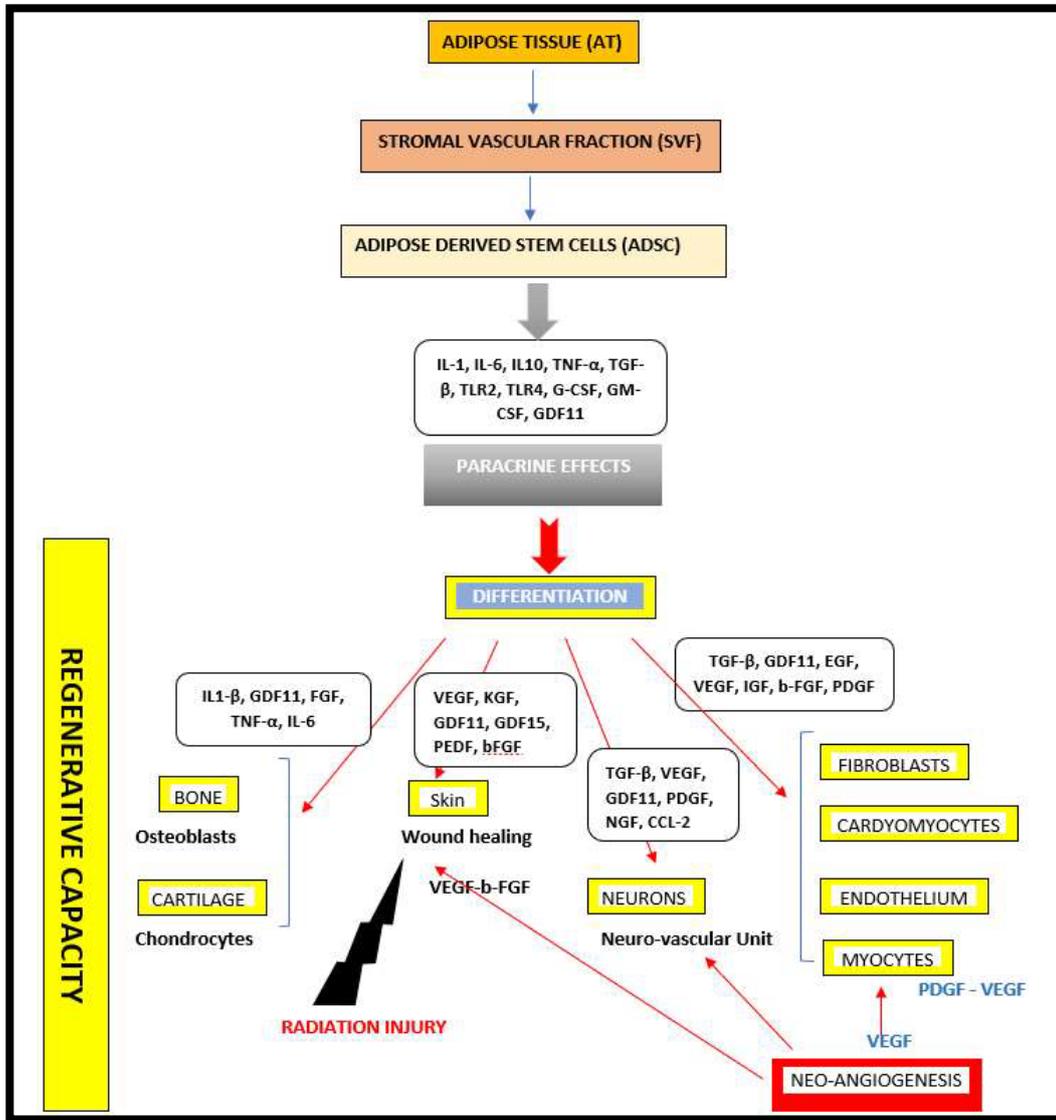


Figure 55 : Facteurs sécrétés par des cellules souches d'origine adipeuse (CSMA) qui sont impliquées dans les mécanismes liés à la réparation et à la régénération des tissus.

4. La cicatrisation cutanée : Rôle des cellules souches mésenchymateuses

La cicatrisation est le processus qui suit une blessure et qui conduit à la restauration de la barrière cutanée protectrice de l'organisme [60]. Ce processus englobe une cascade de signaux cellulaires organisée de manière complexe qui comprennent quatre phases principales qui se chevauchent : hémostase, inflammation, prolifération et remodelage[61]. (Figure 56)

Les plaies peuvent être classées selon différents critères. Le temps est un facteur important dans la gestion des blessures et la réparation des plaies. Ainsi, on distingue les plaies aiguës et chroniques en fonction de leur délai de guérison.

a) **Classification des plaies :**

✚ PLAIES AIGUËS

Les plaies qui se réparent en suivant un processus de de guérison rapide et ordonnée, avec pour résultat final une restauration à la fois fonctionnelle et anatomique, sont classées comme des plaies aiguës. La durée de la cicatrisation est généralement comprise entre 5 et 10 jours, ou dans les 30 jours.

✚ PLAIES CHRONIQUES

Les plaies chroniques sont celles dont le processus de cicatrisation est incomplet et perturbé par divers facteurs, qui prolongent une ou plusieurs étapes des phases de cicatrisation.

Ces facteurs comprennent l'infection, l'hypoxie tissulaire, la nécrose, l'exsudat et l'excès de cytokines inflammatoires. Comme la guérison se déroule alors de manière non coordonnée, les résultats fonctionnels et anatomiques et anatomiques sont médiocres et ces plaies récidivent. [62]

b) **Phases de cicatrisation :**

✚ ***PHASE D'HÉMOSTASE***

Immédiatement après la blessure, la coagulation et l'hémostase ont lieu dans la plaie.

Le but principal de ces mécanismes est d'empêcher l'exsanguination. Le deuxième objectif est un objectif à long terme, qui consiste à fournir une matrice pour les cellules envahissantes qui sont nécessaires dans les phases ultérieures de la guérison.

Un équilibre dynamique entre les cellules endothéliales, les thrombocytes, la coagulation et la fibrinolyse régule l'hémostase et détermine la quantité de fibrine déposée au site de la plaie, influençant ainsi l'évolution des processus de réparation.

✚ ***PHASE INFLAMMATOIRE***

La phase inflammatoire humorale et cellulaire suit, dans le but de d'établir une barrière immunitaire contre les micro-organismes envahissants. Elle est divisée en deux phases distinctes, une phase inflammatoire précoce et une phase inflammatoire tardive.

✚ ***PHASE PROLIFERATIVE***

Lorsque la blessure en cours a cessé, l'hémostase a été réalisée et une réponse immunitaire mise en place avec succès, la plaie aiguë évolue vers la réparation des tissus.

La phase de prolifération commence le troisième jour après la plaie et dure environ 2 semaines par la suite. Elle est caractérisée par la migration des fibroblastes et le dépôt de la matrice extracellulaire nouvellement synthétisée, agissant comme un remplacement du réseau provisoire composé de fibrine et de fibronectine (figure 57). Au niveau macroscopique, cette phase de la cicatrisation peut être vue comme une abondante formation de tissu de granulation.

[62]

Cellules souches mésenchymateuses adipocytaires: isolement et indications en chirurgie plastique.

Elle consiste en une migration des fibroblastes, synthèse de collagènes, angiogenèse et formation du tissu de granulation, protrusion, adhésion, traction et une épithélialisation.

✚ PHASE DE REMODELAGE

Phase finale de la cicatrisation, la phase de remodelage est responsable du développement de la formation du tissu cicatriciel. La synthèse de la matrice extracellulaire au cours des phases de prolifération et de remodelage est initiée simultanément avec le développement du tissu de granulation. Cette phase peut durer jusqu'à 1 ou 2 ans, ou parfois même plus longtemps.

Le remodelage est un maintien d'un équilibre délicat entre la dégradation et la synthèse, conduisant à une cicatrisation normale.

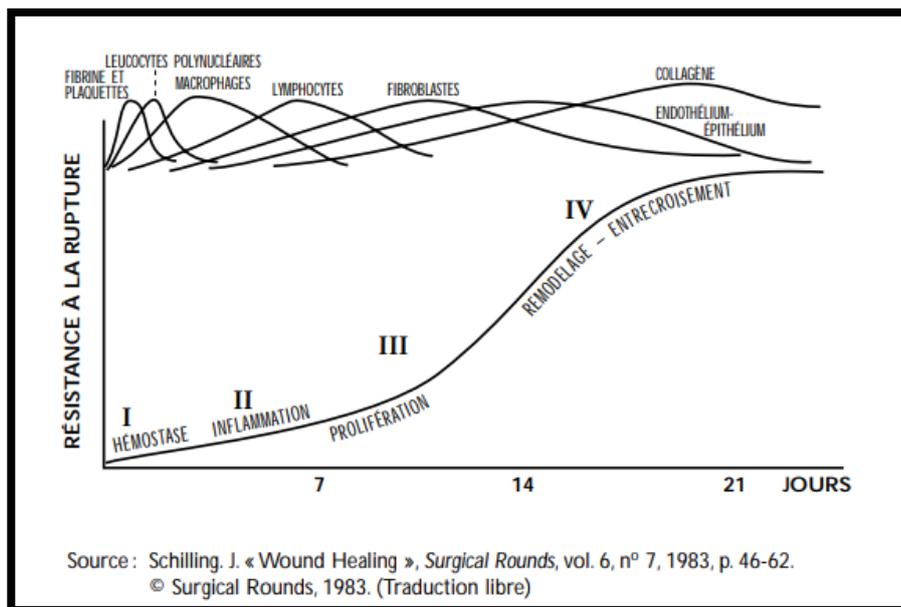


Figure 56 : Courbe de cicatrisation

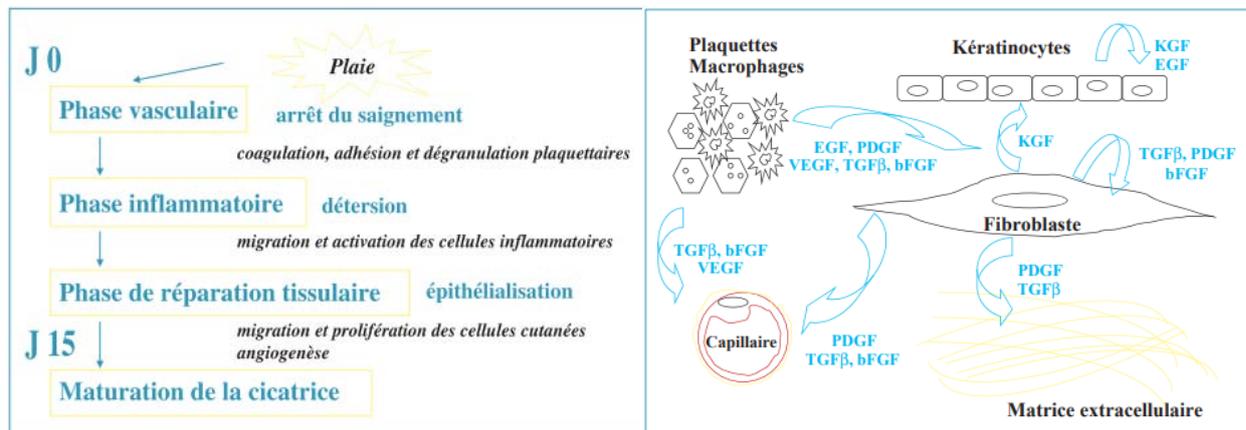


Figure 57: cascade de cicatrisation et médiateurs intervenants :

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

1. Prélèvement du tissu adipeux :

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 viables et fonctionnelles.

a) Le site de 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 CSMA's humaines qui examinaient le site du donneur en tant qu'influence potentielle sur le comportement des CSMA's. Sur les dix études portant sur des CSMA's 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's 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 Scarpa présente des caractéristiques de multi-potence 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.

Les disparités entre les sites donneurs peuvent être dû à la différence de la vascularisation et de la sensibilité aux facteurs neuroendocriniens qui régulent le processus de lipolyse.

Tableau VI : Évaluation de l'association entre le site de récolte et les CSMA humaines et la fonctionnalité des adipocytes classées par taille d'échantillon

Référence	Site d récolte	Résultats :cliniques	Résultats:rendement des CSMA	Résultats: potentiel dedifférentiation
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.2008[45]	Deux sites donneurs : l'abdomen et la hanche/cuisse.		Le rendement des CSMA 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

b) Liposuccion : matériels et méthodes :

Des études portant sur les différentes tailles des canules de lipoaspiration ont montré que l'utilisation d'une canule de plus grand diamètre améliore la viabilité cellulaire [71]. Erdim et al. ont démontré une meilleure viabilité des cellules isolées avec une canule de 6 mm, comparativement à une canule de 2 mm et de 4 mm [72].

En plus de la taille de la canule, les rapports comparant une canule multiperforée avec la canule d'aspiration Coleman de 3 mm n'ont montré aucune différence significative dans la viabilité cellulaire [73][74].

Dans notre série, des canules de 4 mm, ont été utilisées pour tous nos patients pour éviter les disparités qui peuvent être causées par différentes canules, toutefois ce calibre comme décrit par Erdim et al, entraîne moins de viabilité des CSMA.

Le tissu adipeux peut être prélevé par excision chirurgicale ou par lipoaspiration. La lipoaspiration peut être soit manuelle avec application d'une pression négative sur une seringue selon la technique de Coleman, soit assistée par hydropression ou par ultrasons. [75][52][76]. Les CSMA ont récemment été testées dans un certain nombre de modèles in vitro pour le traitement de maladies humaines [40][39]. Dans la plupart de ces études, les CSMA ont été isolées à partir de tissus adipeux obtenus par liposuction tumescente. Cependant, dans la pratique quotidienne, le tissu adipeux est prélevé par différentes procédures chirurgicales. De ce fait, MJ Oedayrajsingh-Varma et al[77] ont comparé le rendement et les caractéristiques de croissance des cellules souches mésenchymateuses d'origine adipeuse obtenues à partir des trois procédures les plus couramment utilisées: la résection, la liposuction tumescente ou liposuction conventionnelle et la liposuction assistée par ultrasons.

Pour la résection, Varma et al, ont découpé le matériel en bloc sous anesthésie générale. Pour la liposuction tumescente, une canule creuse à bout émoussé a été introduite dans l'espace sous-cutané à travers une petite incision. Une solution saline de NaCl à 0,65 %, complétée avec les agents de vasoconstriction épinéphrine CF, prilocaïne HCl et kenacort-A10, a été perfusé dans le compartiment adipeux afin de minimiser la perte de sang et la contamination des tissus par les cellules sanguines périphériques avant l'aspiration. Le tissu adipeux a été mécaniquement perturbé en déplaçant la canule dans le compartiment adipeux, et le matériel de liposuction a été aspiré par une légère aspiration. Dans le cas de la liposuction assistée par

Cellules souches mésenchymateuses adipocytaires: isolement et indications en chirurgie plastique.

ultrasons, le tissu adipeux sous-cutané est infiltré avec de l'eau à 0,5 % complétée par solution saline à 0,9 % complétée par 1 % de xylocaïne et 0,001 % d'adrénaline. La liposuction assistée par ultrasons a été réalisée à l'aide de l'appareil de système ultrasonique et une canule creuse.

Les résultats de cette étude ont démontré que les rendements et les capacités de croissance les plus faibles ont été observées avec le matériel de liposuction assisté par ultrasons qui a donné lieu à une fréquence plus basse de CSMA en prolifération, ainsi qu'un temps de doublement de la population de CSMA plus long que lors de la résection. Par conséquent la résection et la tumescence ont été supérieures par rapport à la liposuction assistée par ultrasons à des fins d'ingénierie tissulaire [77][78].

L'infiltration du tissu avec une solution aqueuse et l'irradiation par une énergie ultrasonore de haute intensité, comme cela est pratiquée dans la liposuction assistée par ultrasons, peut induire une production concomitante de radicaux et de réactifs oxydants associés à une variété de réactions chimiques à haute énergie, et la production de lumière, principalement dans le spectre UV [79]. La combinaison d'une température localisée et un stress mécanique, peut interagir avec les tissus selon un mécanisme complexe qui peut entraîner une destruction cellulaire immédiate et/ou l'apoptose [80]. Ces résultats fournissent une ligne directrice générale pour la technique chirurgicale optimale et anatomique optimale pour le prélèvement du tissu adipeux afin d'isoler les CSMA pour l'ingénierie tissulaire.

L'infiltration est l'étape préliminaire à la lipoaspiration tumescente. Elle a été initialement développée pour permettre de réaliser des procédures de lipoaspiration sous anesthésie locale. De nombreux avantages de l'utilisation de la solution tumescente ont été décrits, notamment une réduction de la douleur, une diminution du saignement et une facilité de retrait du tissu adipeux [81].

Le liquide d'infiltration consiste en un grand volume de sérum physiologique dans lequel peuvent être rajoutés un vasoconstricteur (adrénaline) et éventuellement un anesthésique local

fortement dilué. L'anesthésique local le plus couramment utilisé est la lidocaïne. Le tissu adipeux sous-cutané étant richement vascularisé, l'utilisation de vasoconstricteur permet d'éviter les saignements et d'accentuer les effets de la lidocaïne en diminuant la perfusion (6). Néanmoins, il existe des données contradictoires concernant l'effet de l'anesthésie locale sur la biologie des adipocytes. Certaines études ont décrit des effets cytotoxiques [82][83], tandis que d'autres n'ont pas observé de signes de dommages cellulaires [84].

En 2020, Felix Grambow et al. [85] se sont concentrés sur l'effet de la lidocaïne, appliquée pendant une anesthésie locale tumescence avant la liposuction, sur cellules du SVF.

Le tissu adipeux sous-cutané abdominal a été infiltré avec une anesthésie locale tumescence, contenant de la lidocaïne sur le côté gauche et sans lidocaïne sur le côté droit de l'abdomen et récolté par la suite. La lidocaïne n'a eu aucune influence sur la distribution relative, le nombre de cellules ou la viabilité des CSMA, des préadipocytes, des adipocytes matures ou des leucocytes dans la fraction stromale-vasculaire. La lidocaïne n'a influencé ni la distribution relative, ni le nombre absolu, ni le statut de vie ou de mort des CSMA.

En revanche, Keck et al.[82] ont montré un effet négatif de la lidocaïne sur la viabilité des CSMA après 30 min d'incubation in vitro, tout en utilisant une concentration de lidocaïne beaucoup plus élevée que celle utilisée habituellement pour l'anesthésie locale par tumescence (2 % contre 0,062 % pour la concentration thérapeutique).

Girard et al. [83] ont démontré une cytotoxicité significative de la lidocaïne sur les CSMA in vitro, en utilisant une concentration thérapeutique de 0,8 mg/mL. Cet effet n'est apparu qu'après 24 heures d'incubation. Cependant, cela pourrait ne pas refléter les conditions in vivo, car la demi-vie métabolique de la lidocaïne est d'environ 90 minutes chez l'homme.

Goldman et al. ont conclu que le retrait de la lidocaïne du tumescent réduisait significativement l'apoptose des CSMA dans le lipoaspirat. Cette étude [86] a décrit des effets

Cellules souches mésenchymateuses adipocytaires: isolement et indications en chirurgie plastique.

apoptotiques de la lidocaïne sur les CSMA et a donc recommandé l'utilisation de la liposuction tumescente sans lidocaïne et de réaliser le lipotransfert sous anesthésie générale.

Comme, la liposuction assistée par UV n'est manifestement pas une procédure appropriée pour le prélèvement de tissu adipeux lorsque les CSMA doivent être utilisés pour la thérapie cellulaire, on a adopté la technique de liposuction tumescente, en utilisant la solution de Klein, contenant 20 mL de Xylocaïne 2% par 500 mL de sérum salé. Cependant avec cette technique, on peut s'attendre à ce que les forces de cisaillement mécaniques résultant de la liposuction tumescente affectent la viabilité des CSMA.

En 2014, Luiz Charles-de-Sá et al [87] visaient à identifier la méthode idéale de prélèvement, ainsi que le régime de pression optimal pour l'aspiration de la graisse. L'objectif principal était d'évaluer le degré de mort des adipocytes et des cellules souches mésenchymateuses d'origine adipeuse en utilisant avec les différents dispositifs et niveaux de pression utilisés pour récolter la graisse.

Dans un premier temps, ils ont mesuré les différents degrés de pression générés dans chaque type de seringue (10 mL, 20 mL et 60 mL) couramment utilisée pour la liposuction, ainsi que différentes pressions (350 mmHg et 700 mmHg) sur des appareils utilisés pour la récolte de la graisse.

Leurs résultats démontrent que la quantité de pression négative utilisée pour le prélèvement de tissu adipeux par des seringues de 10 mL, 20 mL et 60 mL, et par des pressions de -350 mmHg et -700 mmHg n'affectent pas l'intégrité et la viabilité des adipocytes et des CSMA. Les différents embouts et le diamètre de l'extrémité des seringues n'ont pas endommagé les cellules.

Dans notre série, des seringues de 60mL ont été utilisées et le vide a été fait par le verrou autobloquant, pour tous les patients.

c) **Décantation :**

Les méthodes de purification des tissus récoltés sont devenues les thèmes les plus recherchés dans le domaine de la chirurgie plastique et d'autres spécialités, notamment avec la découverte du tissu adipeux comme une source riche de cellules souches mésenchymateuses.

Comme l'ont montré des collègues, Rose et al.[88], la décantation était la seule méthode permettant de maintenir l'intégrité et le nombre des cellules, tandis que le lavage réduit significativement le nombre de cellules nucléées intactes et la centrifugation en a détruit une grande majorité.

Une étude [89] a été menée chez 20 patientes adultes en bonne santé chez qui le matériel obtenu par liposuction de l'abdomen inférieur a été séparé et traité par 3 techniques différentes : décantation, lavage ou centrifugation afin de comparer les effets des trois techniques de traitement de la graisse les plus courantes utilisées en chirurgie plastique sur la viabilité et le nombre de composants cellulaires du tissu adipeux aspiré, afin de déterminer une méthode permettant d'obtenir des concentrations plus élevées d'adipocytes et de CSMAs viables.

Les résultats de cette étude ont démontré que la décantation était la méthode de traitement des graisses la moins agressive puisqu'elle préservait l'intégrité et le nombre de cellules; cependant, elle occasionne une grande quantité de cellules sanguines contaminants et moins de CSMAs, par rapport au culot recueilli au fond des échantillons centrifugés qui présentait la plus forte concentration de CSM.

2. 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 CSMAs. Plusieurs procédures expérimentales modifiées ont été proposées [90][91][92]. Cependant, il y a eu peu d'études comparant l'efficacité des différentes méthodes, mais aucune méthode standardisée n'a été définie. [93]

Cellules souches mésenchymateuses adipocytaires: isolement et indications en chirurgie plastique.

Selon cette méthode, [40] 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 cytométrie 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 cytométrie 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 en injectant les CSMA sur le fond et dans le bord des plaies.

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 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

Cellules souches mésenchymateuses adipocytaires: isolement et indications en chirurgie plastique.

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 $9,06 \times 10^5$ CSMA 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 CSMA 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 avéré plus efficace et a permis d'isoler un plus grand nombre de CSMA (25,9%) que la procédure MC (5%).

Concernant notre étude, l'isolement des CSMA a été réalisé après décantation, lavage et digestion enzymatique par collagénase type I et II et centrifugation, en se basant sur la méthode décrite Raposi et al, les échantillons ont été analysés, par Cytométrie en flux, et les principaux marqueurs ont été cherchés : CD90, CD105, CD73, détaillés en dessous.

Concernant la viabilité, les échantillons ont été incubés dans 7AAD, Les cellules mortes ont été exclus en éliminant les événements 7AAD-positifs.

CD90 :

Connu sous le nom de Thy1, est une protéine liée au glycosylphosphatidylinositol impliquée dans les interactions cellule-cellule et cellule-matrice[94] et que son expression dans les CSM selon Maleki et al., pourrait avoir un rôle dans la croissance et la différenciation des cellules souches.[95]

Bien que variable selon les espèces, l'expression de CD90 a été identifiée dans les cellules endothéliales, les cellules souches hématopoïétiques, les lymphocytes, les fibroblastes, et les neurones.

En plus de ce manque de spécificité cellulaire, une autre limitation potentielle du CD90 en tant que marqueur de MSC est que cette molécule ne semble pas être bien conservée au cours de l'évolution et que, par conséquent, les anticorps anti-CD90 couramment utilisés peuvent ne pas être en mesure de réagir avec les CSM de certaines espèces (Boxall et Jones, 2012). Ainsi, bien que recommandé comme un marqueur positif, le CD90 ne semble pas être un marqueur utile pour la détection des CSM in vivo.[94]

CD105 :

Egalement connu sous le nom d'endogline, est une glycoprotéine membranaire de type I qui fonctionne comme un récepteur accessoire pour les ligands de la superfamille du TGF-beta, qui est impliqué dans la prolifération, la différenciation et la migration des cellules [95] par la modulation des fonctions du TGF-beta via interaction avec TGF-beta RI et TGF-beta RII[96].

Comme son nom l'indique, l'endogline est fortement exprimée dans les cellules endothéliales vasculaires. Mais elle est également fortement exprimée dans les syncytiotrophoblastes (du placenta à terme) et de façon moins abondante dans les monocytes, les fibroblastes, chondrocytes, et les cellules progénitrices hématopoïétiques.[94]

Il est intéressant de noter que les CSM provenant du tissu adipeux expriment CD105 à de faibles niveaux lorsqu'elles sont fraîchement isolées, mais deviennent de plus en plus CD105+ lors des passages en culture[43][77].

Comme les CSM provenant d'autres tissus ne peuvent pas être isolées en quantité suffisante sans passer par des cultures, il est difficile de savoir si elles expriment le CD105 suffisamment sans passages en culture, on ne sait pas encore si elles expriment aussi CD105 à faible niveau fraîchement isolées sont actuellement inconnues. Quoiqu'il en soit, les données

concernant les CSM adipeuses suggèrent que la protéine CD105 pourrait ne pas être un marqueur utile pour la détection des CSM in vivo.[94]

Les CSM CD105+ sont capables de se différencier vers des lignées adipogènes, ostéogènes et chondrogènes [95].

CD73 :

Une ecto-5'-nucléotidase qui convertit l'adénosine monophosphate extracellulaire en adénosine. Il est exprimé dans une grande variété de types de cellules, y compris les lymphocytes, les cellules endothéliales, les cellules musculaires lisses, les cellules épithéliales et les fibroblastes. [94]

Bien qu'une étude antérieure[97]ait montré que deux anticorps monoclonaux, SH3 et SH4, qui ont été identifiés par la suite comme étant des anticorps anti-CD73, [98], avaient une spécificité pour les CSM (non réactifs avec les cellules hématopoïétiques et les ostéoblastes), cela aurait impliqué que les CSM expriment une molécule CD73 qui est différente des autres types de cellules (c'est-à-dire qu'elle possède les épitopes SH3 et SH4 uniques). Cependant, bien que plus de 20 ans se soient écoulés, rien ne prouve que ce soit le cas. En tout état de cause, jusqu'à ce jour, il n'existe aucune preuve vérifiable qu'un quelconque anticorps anti-CD73 peut détecter spécifiquement les CSM in vivo.[94]

3. Stockage et température :

Une étude en 2020 d'Eva Kubrova et al.[99] a évalué les propriétés biologiques des CSMA's après exposition à différentes températures afin de définir les conditions de stockage optimales avant l'administration thérapeutique des CSMA's.

Les CSMA's adhérentes et non adhérentes ont été incubées à de multiples températures (entre 4, 23 et 37°C) dans une solution de Ringer lactate (RL) dépourvue des ingrédients essentiels à la croissance cellulaire, ou dans un milieu de culture optimisé pour la croissance

cellulaire. Les cellules ont été évaluées soit après les changements de température (4 heures), soit après récupération (24 heures).

Cette étude a démontré que le stockage des CSM dans une solution de Ringer lacté (RL) pendant 4 heures diminue le nombre de cellules et l'activité métabolique. Le nombre de CSM viables a diminué de manière significative lors de la culture à température physiologique (37 °C) et en hypothermie sévère (4 °C), tandis que les cellules cultivées à température ambiante (23 °C) présentaient les effets les moins néfastes.

L'impact des changements de température après 4 heures d'exposition persiste après 24 heures d'exposition. Par conséquent, la température de stockage et les conditions doivent être optimisées pour améliorer l'efficacité des CSMA.

4. Terrain :

Identifier les caractéristiques des patients qui peuvent influencer la viabilité, le rendement et le comportement des CSMA est important pour mieux comprendre le bien-fondé de la procédure.

a) Le sexe :

Ogawa et al [100] ont montré dans une étude que les niveaux d'expression de PPAR-2 (marqueur d'adipogenèse étaient 2,89 fois plus élevés dans les CSMA prélevées sur des souris femelles que sur des souris mâles, ce qui soulève la possibilité d'un rôle important du sexe.

Aksu et al. [101] ont étudié des tissus d'abdominoplastie provenant de trois hommes et de trois femmes et ont rapporté que les CSMA des hommes mâles présentaient une différenciation ostéogénique plus efficace par rapport à celles des femmes.

Faustini et al. [65] ont étudié 37 hommes et 88 femmes et ont rapporté que le meilleur site donneur chez les hommes en termes de rendement était l'abdomen.

Des études sur les CSMA humaines n'ont cependant pas montré de différence dans le rendement et la prolifération des CSMA selon le sexe [65], [102], [103].

En contraste avec ces études, nos résultats ont démontré que le rendement des CSMA s viables s'est avéré 11 fois plus élevé chez les femmes avec une moyenne de $1,022 \times 10^6$, alors que les hommes ont une moyenne de rendement de $8,69 \times 10^4$. Cependant la population jeune était majorée par les femmes, au contraire de la population plus âgée composée principalement par les hommes. Donc l'âge est un paramètre qui peut influencer ces résultats et empêcher une conclusion pertinente à propos de l'influence du sexe sur le rendement cellulaire

b) L'âge :

16 études in vitro portant sur des CSMA s humaines et 3 études sur des animaux ont rapporté l'effet de l'âge sur la viabilité et la fonction des CSMA s (tableau VII) [63].

Douze de ces études n'ont pas identifié d'effet sur le rendement des cellulaires [104][105]. Cependant, des études plus récentes utilisant l'expression génique de la sénescence ont montré une diminution significative du rendement global des cellules nucléées avec l'augmentation de l'âge [106], [107] et une diminution significative des capacités de prolifération et de différenciation des CSMA s [43], [107], [106].

L'avancement en âge a réduit de manière significative le potentiel ostéogénique. Cette constatation est confirmée par d'autres études qui ont rapporté des diminutions similaires du potentiel ostéogénique des CSMA s [108]. Une telle dépendance de la capacité de différenciation par rapport à l'âge a également été observée chez les CSMA s de rat [109][110].

Madonna et al. [111] ont comparé les CSMA s entre des " jeunes " (40–54 ans) et " âgées " (66–92 ans) et ont rapporté des diminutions significatives du rendement des CSMA s et de la capacité angiogénique avec l'augmentation de l'âge. Tandis que Zhu et al [112] n'ont pas trouvé d'effet significatif sur le potentiel adipogène des CSMA s.

En raison du rendement élevé des CSMA s, en comparaison avec les cellules souches de la moelle osseuse BMSCs, la culture cellulaire n'était pas nécessaire et donc le potentiel de différenciation des différentes lignées n'était pas étudié. On s'est concentrée de ce fait sur le

Cellules souches mésenchymateuses adipocytaires: isolement et indications en chirurgie plastique.

rendement des CSMA et la viabilité, en analysant différentes tranches d'âges, afin de savoir si les thérapies cellulaires autologues seront affectées négativement par l'âge des donneurs.

Concernant notre série, les rendements les plus élevés ont été constatés chez les patients âgés de 19 à 30 ans (voir Figure 30). On pense que ces cellules chez les personnes âgées sont soumises à des changements liés à l'âge qui contribuent donc moins au rajeunissement des tissus, vu que le vieillissement de l'organisme est lié à une diminution de la réparation des organes due à une réduction de la capacité fonctionnelle des cellules souches résidant dans les tissus.

Tableau VII : Revue de la littérature : Evaluation de l'association entre l'âge et la fonctionnalité des CSMA et des adipocytes humains classés par taille d'échantillon

Référence	Âge (années ; moyenne \pm DS ou seulement moyenne)	Âge (années) (catégories de sous-ensembles)	Résultats : Rendement des CSMA	Résultats : Potentiel de différenciation
van Harmel et al. 2003 [103]	16-73	-	Pas de corrélation significative entre l'âge et les CSMA par gramme de tissu.	Pas de corrélation significative entre l'âge et la différenciation des CSMA.
Madonna et al. 2011 [111]	68 \pm 13	40-54 55-65 66-92	Corrélation négative significative entre l'âge et le rendement des CSMA (sous-ensemble apparié pour les comorbidités)	
Harris et al. 2010 [102]	59 \pm 16	<70 >70	Pas de corrélation significative entre l'âge et le rendement des CSMA	Pas de corrélation significative entre la différenciation des CSMA et l'âge.
Alt et al. 2012 [107]	15-71	<20 30-40 >50	Corrélation négative significative entre l'âge et le rendement des CSMA.	Corrélation négative significative entre l'âge et le taux de prolifération et de différenciation des CSMA.

Cellules souches mésenchymateuses adipocytaires: isolement et indications en chirurgie plastique.

Choudhery et al. 2014 [113]	24-67	<30 35-50 >60	Corrélation négative significative entre l'âge du donneur et le rendement en CSMA.	Corrélation négative significative entre l'âge et le taux de prolifération des CSMA. La différenciation adipogénique était indépendante de l'âge. Le potentiel ostéogénique et chondrogénique diminuait avec l'âge.
Hauner et al. 2004 [103]	20-83	-	Corrélation négative significative entre l'âge et le rendement des CSMA (chez les deux sexes).	Corrélation négative significative entre l'âge et la prolifération des CSMA (chez les deux sexes).
deGirolamo et al. 2009 [108]	21-68	<35 >45	Corrélation positive significative entre l'âge et le rendement des CSMA.	Taux de prolifération plus élevés chez les femmes plus jeunes, mais non statistiquement significatifs. Pas d'impact significatif de l'âge sur le potentiel de différenciation adipogénique. Corrélation négative significative de l'âge avec le potentiel ostéogénique.
Geissler et al. 2014 [104]	25-71	≤45 ≥46	Analyses stratifiées par site donneur : Abdomen : les femmes plus jeunes ont présenté un rendement significativement plus élevé. Flancs : les femmes plus âgées ont présenté un rendement en CSMA significativement plus élevé.	-
Schipper et al. 2008 [67]	25-60	25-30 40-45 55-60		Prolifération plus importante des CSMA et moindre sensibilité à l'apoptose dans le groupe des 20 ans (non statistiquement significatif).
Yoshimura et al. 2006 [43]	21-59	-	Pas de corrélation significative entre le rendement des CSMA et l'âge.	-

c) Diabète :

Une étude a comparé les profils d'expression génétique des CSMA chez des patients diabétiques à ceux de patients appariés par l'âge et l'IMC. Ils ont rapporté une diminution

significative de la capacité de différenciation des CSMA et une hausse des gènes impliqués dans l'inflammation et l'apoptose chez les patients diabétiques [114].

Robert C Rennert et al [115] ont examiné l'impact du diabète sur la niche CSMA murine ainsi que sur le potentiel des cellules isolées à promouvoir la néo-vascularisation in vitro et in vivo. Les résultats démontrent que le diabète modifie la niche des CSMA in situ et que les CSMA diabétiques sont compromises dans leur capacité à établir un réseau vasculaire à la fois in vitro et in vivo. De plus, ces cellules diabétiques sont inefficaces pour promouvoir la néovascularisation des tissus mous et la cicatrisation des plaies. L'analyse transcriptionnelle unicellulaire a identifié une sous-population de cellules qui était diminuée dans les modèles de diabète de type 1 et de type 2. Ces cellules étaient caractérisées par l'expression élevée de gènes connus pour être importants pour la croissance de nouveaux vaisseaux sanguins. Les perturbations de sous-populations cellulaires spécifiques, visibles uniquement à l'échelle d'une seule cellule, représentent un mécanisme de dysfonctionnement des CSMA diabétiques qui n'avait pas encore été signalé. Ces données suggèrent que l'utilité des autologues pour les thérapies cellulaires chez les patients diabétiques peut être limitée et que des interventions visant à améliorer la fonction cellulaire avant l'application sont justifiées.

Ferrer-Lorente et al. [116] ont utilisé une approche où ils ont analysé l'expression génique dans le tissu adipeux sous-cutané de rats gras diabétiques et de leurs congénères non diabétiques. Le tissu adipeux sous-cutané des rats diabétiques présentait une baisse généralisée des marqueurs de caractère souche et de différenciation et de potentiel angiogénique. [63]

Harris et al. [117] ont rapporté une tendance de rendement plus faible des CSMA chez les diabétiques (n = 18) qui n'est pas statistiquement significative.

Concernant l'influence du diabète, dans notre série, l'évaluation s'est basée sur l'évolution clinique, qui n'était pas impactée par rapport aux patients non diabétiques. Cependant, la

comparaison du rendement et la viabilité des CSMA chez les patients diabétiques et non diabétiques aurait pu révéler des détails supplémentaires.

d) Tabagisme

Le tabagisme est l'un des facteurs les plus impliqués dans un large éventail de maladies [118][119]. D'après l'analyse de l'Organisation mondiale de la santé, environ 1,1 milliard de personnes sont des fumeurs. Bien que l'efficacité des CSMA provenant de donneurs sains comme agents thérapeutiques a été démontrée dans de multiples modèles animaux de pathologies humaines et est maintenant soutenue par des essais cliniques[120][121], très peu d'études ont été réalisées pour l'effet du tabagisme sur la bioactivité des CSMA.

Les premières études abordant cette question ont été limitée à l'évaluation de l'impact des préparations d'extraits des cigarettes sur la migration et la différenciation des CSMA, ainsi que sur la sécrétion de IL-6 et IL-8, qui ont toutes été réduites [122]. L'étude de Wahl et al. n'a impliqué qu'une simulation in vitro de l'exposition à la fumée des cigarettes, ce qui ne récapitule pas les processus associés à l'inhalation réelle de cette fumée.

Une étude [123] menée par Daria Barwinska et al. a évalué si l'injection des CSMA améliorerait le flux sanguin dans un modèle d'ischémie chronique des membres lorsqu'il est administré aux souris 32 jours après l'excision de l'artère fémorale. Ils ont observé que les cellules souches provenant des sujets non tabagiques, améliorerait efficacement le flux sanguin aussi bien dans un modèle d'ischémie aiguë que chronique. L'inflammation étant moins importante dans le modèle chronique, ils supposaient que l'effet bénéfique de l'CSMA peut être attribués à la modulation de l'angiogénicité plutôt qu'à des activités cellulaires anti-apoptotiques ou anti-inflammatoires.

Par contre, les cellules souches provenant des sujets tabagiques, étaient inefficaces dans les deux modèles aigus et chroniques, suggérant ainsi que les cellules souches provenant des sujets tabagiques ont perdu leurs activités anti-inflammatoires et pro-angiogéniques.

En raison des disparités de rendements chez les patients tabagiques, dans notre étude, l'influence du tabagisme n'a pas pu être démontrée. Cela peut être due à d'autres facteurs, à savoir les terrains différents des patients, le nombre de médecins préleveurs, et de techniciens manipulant l'échantillon.

e) **Indice de masse corporelle :**

Quant aux CSMAs, l'âge, le site d'extraction du tissu adipeux et le sexe peuvent potentiellement modifier la fonctionnalité et la qualité des CSMAs[111][112]. Cependant, l'effet de l'obésité sur les CSMAs est inconnu. Blanca Oñate et al. ont émis l'hypothèse que les CSMAs humaines provenant de patients obèses atteints du syndrome métabolique pourraient avoir des capacités réduites de réparation tissulaire spontanée ou thérapeutique. Ils rapportent que les CSMAs provenant du tissu adipeux blanc de patients souffrant d'obésité et du syndrome métabolique ont un potentiel prolifératif et angiogénique inférieur à celui des CSMAs provenant du tissu adipeux des individus métaboliquement non obèses. Leurs observations indiquent que les stratégies thérapeutiques basées sur l'implantation des CSMAs autologues seraient entravées chez les patients souffrant d'obésité et de syndrome métabolique.[124]

14 études ont examiné l'effet de l'IMC sur la viabilité des adipocytes. 8 études ont démontré l'effet de l'augmentation de l'IMC sur la viabilité et la fonction des adipocytes [103], [125]-[126].

Dans l'étude la plus importante à ce jour (n = 189), 30 femmes appartenant à la catégorie (IMC >30 kg/m²), van Harmelan et al. [103] ont signalé une réduction significative du nombre d'adipocytes matures viables par gramme de tissu adipeux et de la capacité de différenciation des CSMAs avec l'augmentation de l'indice de masse corporelle.

Cette constatation est confirmée par 5 autres études in vitro qui ont également montré une diminution des capacités de différenciation et de prolifération des adipocytes avec l'augmentation de l'IMC [103], [125], [127],[128] (tableau).

Frazier et al. ont signalé que les CSMA s provenant d'individus obèses présentaient des déficiences au stade précoce de différenciation adipogène et ostéogène, ce qui a été corrélé avec leur potentiel de différenciation in vitro, qui était inversement proportionnel à l'IMC de l'individu.

Outre la réduction de la capacité de différenciation et de migration ainsi que les capacités angiogéniques et prolifératives des CSMA s provenant d'humains obèses [129],[126] ,[130], Perez et al. [128] ont également noté des modifications de l'activité de la télomérase et de la longueur des télomères de l'ADN, suggérant une diminution de la capacité d'auto-renouvellement et une apoptose précoce.

Isakson et al. [127] et Tang et al. [131] ont montré que la réduction de la différenciation des CSMA s hypertrophiées peut être liée à une augmentation de l'activité de l'expression de la protéine 4 kinase activée par des agents mitogènes (MAP4K4), qui inhibe l'activation du récepteur activé par le proliférateur de peroxyosomes (PPAR)- γ et donc l'adipogenèse. Il a été rapporté qu'après une perte de poids massive, le tissu adipeux sous-cutané revient à un état non inflammatoire avec une diminution significative des cytokines [132]

Mitterberger a comparé des CSMA s provenant de patients " anciennement obèses " qui avaient subi des procédures bariatriques à des individus " obèses " et " de poids normal ". Ils ont montré que la chirurgie bariatrique et la restriction calorique à long terme induite par un régime alimentaire reprogrammaient considérablement les CSMA s, avec une réduction des dommages à l'ADN, une meilleure viabilité et une réplification prolongée[133]. Les CSMA s isolées de patients ex-obèses ont atteint un phénotype adipocytaire mature plus rapidement que celles obtenues auprès de patients non obèses [134], ce qui suggère un enrichissement de cellules dans la population d'CSMA s qui sont " mieux préparées " pour la différenciation adipogénique.

Cellules souches mésenchymateuses adipocytaires: isolement et indications en chirurgie plastique.

En harmonie avec Frazier et al. Les rendements les plus faibles dans notre série ont été observés pour les valeurs élevées d'IMC au-delà de 30 kg/m².

Il est intéressant de noter que 6 études des 14 études précédemment décrites, n'ont rapporté aucune différence avec l'augmentation de l'IMC [104], [65], [135], [64], [43],[136].

Mojallal et al. ont examiné dans le cadre d'une étude prospective 42 femmes ayant un IMC variable. Après avoir divisé les patientes en deux groupes (IMC ≤25 ou >25 kg/m²), ils n'ont pas trouvé de corrélation statistiquement significative entre l'IMC et la prolifération [135]

De même, Faustini et al. [137] ont analysé les données de 125 sujets stratifiés par sexe et n'ont pas vu d'association entre l'IMC du donneur et le rendement ou la fonction des CSMAs[63].

Tableau VIII :Evaluation de l'association entre l'IMC et la fonctionnalité des CSMAs et des adipocytes humains classées par taille d'échantillon ; (Revue de la littérature)

Référence	IMC(kg/m ²)	IMC : catégories de sous-ensembles (n)	Résultat : Rendement en CSMAs	Résultat : potentiel de différenciation
Van Harmelanet al.2003[114]	19.7-39.7	<25kg/m ² (57)2 5-29.9kg/m ² (96)>30kg/m ² (35)	Corrélation positive significative entre l'IMC et le nombre de CSMAs par corps Corrélation négative significative entre l'IMC et les CSMAs par gramme de tissu adipeux	Corrélation négative significative entre l'IMC et le potentiel de différenciation des CSMAs.
Faustinieta l.2010[137]	25.33±3.44(M) 26.68 ±5.4(F)	-	Pas de corrélation significative entre le rendement en CSMAs et l'IMC, tant chez les hommes que chez les femmes.	-
Isakson et al.2009[127]	19.3-54.8(28.8±2.2)	-	-	Corrélation négative significative entre l'IMC et le potentiel de différenciation adipogène.
Mojallal et al. 2011 [135]	20-35.6 (26.3)	≤25 kg/m ² (15) > 25 kg/m ² (27)	Pas de corrélation significative entre l'IMC et le rendement des CSMAs.	Tendance à une corrélation négative entre l'IMC et le taux de prolifération (non statistiquement significative)

Cellules souches mésenchymateuses adipocytaires: isolement et indications en chirurgie plastique.

Roldan et al. 2011 [126]	-	≤25 kg/m ² 40-55 ≥ 55	-	Corrélation négative significative entre l'IMC et la prolifération des CSMAs Corrélation positive entre l'IMC, la sénescence prématurée et la sécrétion de cytokines
Frazier et al. 2013 [125]	22.2 ± 1.79	≤25 kg/m ² (6) > 25 kg/m ² (6)	-	Corrélation négative significative entre l'IMC, la prolifération des CSMAs et le potentiel de différenciation ostéogénique.
Perez et al. 2013 [129]	20.0 ± 2.1 (<25 kg/m ²) 34.0 ± 3.1(>30 kg/m ²)	<25 kg/m ² (5) > 30 kg/m ² (5)	-	Corrélation négative significative entre l'IMC et les capacités de différenciation et de migration des CSMAs.
Perez et al. 2015 [128]	-	<22kg/m ² (5)>30kg/m ² (5)	Corrélation négative significative entre l'IMC et le rendement des CSMAs	Corrélation négative significative entre l'IMC et la prolifération des CSMAs. Des changements significatifs ont été observés dans l'activité de la télomérase et la longueur des télomères de l'ADN, entraînant une réduction de la capacité d'auto-renouvellement.

III. Apport des cellules souches mésenchymateuses d'origine adipeuse en chirurgie plastique :

Il a été démontré que les CSMA sont une ressource cellulaire utile pour la régénération des tissus. Le rôle majeur de la médecine régénératrice dans ce siècle est basé sur la thérapie cellulaire dans laquelle les CSMA occupent une position clé. Des recherches actives sur ce nouveau type de cellules souches adultes ont maintenant plusieurs indications cliniques dans toutes les disciplines médicales. La chirurgie réparatrice et esthétique en est une. [138]

La chirurgie réparatrice ou reconstructrice vise à reconstruire ce que la nature, la maladie ou un traumatisme a détruit, alors que la chirurgie esthétique, quant à elle, est définie comme l'ensemble des actes chirurgicaux tendant à modifier l'apparence corporelle d'une personne, à sa demande, sans visée thérapeutique ou reconstructrice nécessairement.

La résolution des difficultés de cicatrisation, le remodelage des cicatrices, la récupération après ischémie des tissus locaux et l'amélioration de la préparation des tissus pour la greffe dans le cas de pertes de substances chroniques, sont les principales indications soulignées dans cette étude.

1. La cicatrisation des plaies :

La capacité du corps humain à se régénérer est limitée et elle aboutit souvent à la formation d'une cicatrice fibreuse sur le site de la lésion pendant le processus reconnu comme la réparation [60].

Bien que la formation d'une cicatrice permette de restaurer la principale fonctionnalité de la peau : barrière contre la perte d'eau et les agents pathogènes, elle présente des inconvénients. Outre un aspect esthétique peu attrayant, la formation de cicatrice accompagnée d'une fibrose tissulaire entraîne aussi une réduction de l'élasticité de la peau [139]. Dans les cas extrêmes, tels

Cellules souches mésenchymateuses adipocytaires: isolement et indications en chirurgie plastique.

que les brûlures étendues, le développement du tissu cicatriciel resserre les bords de la plaie, ce qui entraîne une contracture de la peau[3]

Le besoin pressant d'une thérapie fonctionnelle pour la cicatrisation des plaies a mis la médecine régénérative en lumière, notamment les cellules souches, et en particulier les CSMA.

La CSMA est un candidat idéal pour être utilisé dans la cicatrisation des plaies en raison de son abondance, de sa facilité d'accès et de la pléthore d'adipokines qu'elle contient, telles que le bFGF, le VEGF, l'insulinlikegrowth factor-1 (IGF-1) et le facteur de croissance (TGF).

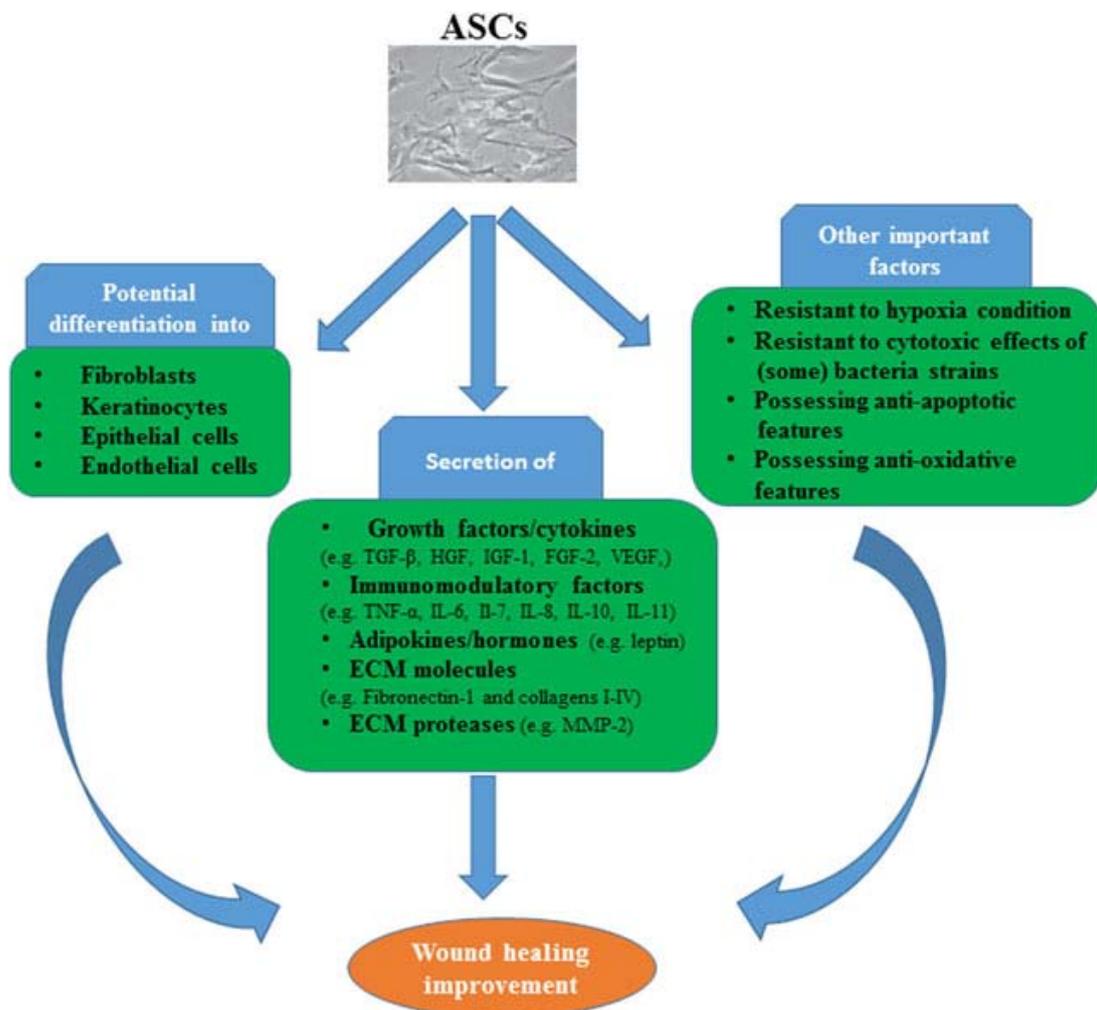


Figure 58 : Mécanismes ou capacités régénératrices potentielles des CSMA pour accélérer le processus de cicatrisation des plaies.

Les CSMAAs peuvent améliorer le processus de cicatrisation des plaies de plusieurs manières : En se différenciant en différents types de cellules après la greffe et grâce à leurs profils de sécrétion par lesquels différents processus biologiques peuvent être modulés, y compris la prolifération cellulaire, la différenciation cellulaire, l'angiogenèse et l'inflammation et en possédant diverses caractéristiques cellulaires et moléculaires telles que la résistance à (certaines) toxines dérivées de bactéries, aux conditions hypoxiques, à l'apoptose et au stress oxydatif.

Les séquelles de brûlures :

Les cicatrices post-brûlures entraînent souvent de graves déficiences fonctionnelles et esthétiques au cours des périodes de restitution et de réhabilitation de la brûlure. Malgré des recherches approfondies ces dernières décennies. Le développement des cicatrices post-brûlures est influencé par de multiples facteurs tels que la profondeur initiale de la brûlure, les méthodes de traitement des brûlures, la durée de la plaie ouverte jusqu'à sa fermeture définitive, l'infection de la plaie de brûlure, la prédisposition génétique, et bien d'autres encore, tant en phase aiguë qu'en phase de réhabilitation.[140]

Après la découverte de cellules souches mésenchymateuses dans le tissu adipeux [54], on a assisté à une augmentation du nombre d'essais cliniques utilisant les CSMA pour traiter différents modèles de cicatrisation, y compris les brûlures.[141]

Les CSMAAs ont été activement étudiées pour traiter les cicatrices hypertrophiques après une brûlure. Yun et ses collègues[142] ont montré que l'application locale de CSMAAs réduit la taille et la flexibilité de la cicatrice normale dans le porc.

Dans un autre modèle de brûlure, Yun et al. [142] ont injecté des CSMAAs dans la plaie 50 jours après la brûlure et après que la cicatrice ait commencé à se former.

Cellules souches mésenchymateuses adipocytaires: isolement et indications en chirurgie plastique.

Les CSMA ont été injectés trois fois à 10 jours d'intervalle et les cicatrices ont été examinées tous les 10 jours jusqu'à 100 jours après la chirurgie. Les cicatrices traitées avec des CSMA avaient une couleur et une souplesse améliorées, une diminution de la surface et une réduction du nombre total de mastocytes. Les CSMA ont favorisé un arrangement plus mature du collagène dans ce modèle.

Ces données suggèrent que les CSMA accélèrent la réparation tissulaire et réduisent la cicatrisation hypertrophique par le biais d'une régulation autocrine ou paracrine des différentes phases de la cicatrisation ou par la suppression des voies liées à la fibrose.

Une étude faite par Peter Zahorec[143] et al. a essayé de mettre en évidence la polyvalence de la mise en œuvre de cette méthode en ce qui concerne différents types de cicatrices (cicatrices atrophiques, hypertrophiques, chéloïdes). Des CSMA autologues dérivées du tissu adipeux ont été appliquées sur des cicatrices post-brûlures chez les 8 patients ayant subi une reconstruction chirurgicale de cicatrices. Les procédures utilisées pour les reconstructions de cicatrices comprenaient la dermabrasion, l'excision de cicatrices, la correction de contractures et des plasties locales combinées à une **lipogreffe d'un lipoaspirat** contenant des adipocytes parenchymateux et **une fraction vasculaire stromale comprenant des CSMA**, ou **l'application de CSMA autologues séparées isolées à partir de lipoaspirats ou cultivés**. Des CSMA autologues isolées ou cultivées avec une révision de la cicatrice chirurgicale ont été appliquées chez 3 patients. En fonction du résultat souhaité, l'une de ces méthodes d'application des CSMA a été choisie en fonction des caractéristiques de la cicatrice reconstruite et du volume requis de graisse transférée.

Les cicatrices post-brûlures ont fait l'objet d'une évaluation clinique selon l'échelle des cicatrices de Vancouver (VSS) avant la chirurgie, y compris la documentation photographique, et réévaluées après 6 mois suivant l'application des CSM.

Comme l'ont montré les résultats, le score moyen de l'échelle VSS avant traitement était de 7,88 points, allant de 4 à 11 points. Le VSS moyen 6 mois après l'intervention chirurgicale et l'application de CSM était de 2,34 points, allant de 1 à 4 points. D'après les résultats obtenus, l'effet favorable de l'application de CSMA sur le remodelage de la cicatrice après une reconstruction chirurgicale de cicatrices post-brûlure était prometteur.

2. La récupération après ischémie des tissus locaux :

✚ Ulcère diabétique

Dans une étude portant sur 54 patients souffrant d'ulcères du pied diabétique, Il a été démontré que la thérapie par SVF améliore le processus de cicatrisation des plaies, une cicatrisation complète a été observée chez tous les patients qui ont subi un traitement par SVF autologue.[2]

✚ Amélioration des lésions dues aux radiations

La littérature est riche en termes d'applications cliniques des CSMA pour soigner les lésions dues aux radiations. On constate une augmentation des lésions dues aux radiations sur les plaies et autres organes avec l'utilisation généralisée de la radiothérapie, procédures radiologiques interventionnelles. Les plaies chroniques dues aux rayonnements ne peuvent généralement pas être traitées par des méthodes conventionnelles, telles que la chirurgie par lambeau ou la greffe de peau, en raison de l'ischémie et de la fibrose des tissus. L'ischémie est due à une vascularisation inadéquate et à des vaisseaux incompetents dans les tissus irradiés. La peau irradiée présente un érythème et une pigmentation anormale.

Une fois la plaie d'irradiation est présente, elle se complique de nécrose, d'infection et de fibrose dans divers organes. Ces lésions chroniques dues aux radiations pourraient être améliorées par un apport suffisant de sang aux tissus, la thérapie par CSMA est prometteuse dans le traitement des blessures chroniques dues aux radiations.

Dans une étude de Rigotti et al.[42] l'efficacité de la transplantation de tissu adipeux sur des plaies sévères et irréversibles induites par irradiation avec ulcération, atrophie, rétraction et fibrose, a été examinée. Une augmentation de la néovascularisation des tissus endommagés dans les premiers traitements par transplantation, et une amélioration de la structure des tissus chez 19 des 20 patients. Cette étude a conclu que les CSMA améliorent la cicatrisation des blessures induites par l'irradiation, et cela en grande partie est due aux caractéristiques pro-angiogènes des CSMA.

Dans une autre étude, Akita, Akino, Hirano, Ohtsuru et Yamashita[144] ont cherché à déterminer la puissance des CSMA autologues dans l'amélioration de la cicatrisation des plaies chez une femme de 89 ans qui présentait un ulcère d'irradiation sacro-coccygien chronique intraitable, et ont rapporté la guérison sans incident de l'ulcère radique après 82 jours d'une transplantation autologue de CSMA.

Dans une étude de suivi, Akita, Yoshimoto, Ohtsuru, Hirano, et Yamashita en 2012[145] ont appliqué la même procédure dans quatre autres cas, avec des résultats montrant une fermeture complète de la plaie, sans récurrence.

3. Amélioration de la survie des tissus

Des études utilisant des CSMA ou des SVF expansés ont montré que ces populations cellulaires sont sûres et efficaces pour être utilisées pour la cicatrisation des plaies cliniques[146]. L'une des applications cliniques largement utilisée est de compléter les lipoaspirats par des SVF ou d'CSMA pour améliorer la survie des tissus, la revascularisation et les résultats chirurgicaux [58]. Cette technique a gagné la satisfaction des chirurgiens et des patients, 12 mois après l'opération chez 55 patients ayant reçu un lipotransfert associé à des cellules[141].

En dehors des indications de notre étude, les CSMA ont été appliquées pour :

- ✚ **L'amélioration de survie des greffes de graisse :**

La survie accrue de la graisse aspirée en réponse à l'ajout des CSMA dans un processus connu sous le nom de cell-assisted lipotransfer (CAL) a été démontré. Une étude in vivo d'Eto et al. [138] a montré que la plupart des adipocytes du greffon commencent à mourir le jour de la greffe et que seuls quelques adipocytes situés à moins de 300 µm du bord du tissu survivent.

À l'intérieur de cette région de survie, une petite zone de régénération existe dans laquelle tous les adipocytes meurent et seuls les CSMA survivent. Il s'agit d'une preuve convaincante de l'importance des CSMA dans la survie du tissu adipeux après la greffe.

Il a également été prouvé que les CSMA favorisent l'angiogenèse pendant la phase aiguë de la transplantation de graisse et forment des microtubules dans les 24 heures suivant l'ischémie.

Bien qu'il y ait encore des questions concernant l'efficacité de la technique CAL pour les greffes de graisse cliniques, il est généralement admis par les chirurgiens plasticiens que le risque de nécrose graisseuse peut être réduit et que la survie de la greffe de graisse est améliorée en utilisant la technique CAL. Ce type de lipotransfert enrichi en cellules est devenu populaire dans les pays d'Asie de l'Est comme la Corée et le Japon. Des rapports sur l'application clinique efficace de la technique CAL pour le remplacement du volume des tissus mous du visage à des fins esthétiques et la reconstruction de défauts dus à la lipoatrophie faciale ont été publiés. De plus, le transfert de graisse de grand volume pour l'augmentation mammaire, dans lequel une meilleure survie du greffon est essentielle, a été rapporté.

4. Parry-Romberg syndrome

Le syndrome de Parry-Romberg (SRP)[147] est une maladie acquise peu fréquente, caractérisée par héli-atrophie progressive de la peau et, dans certains cas, entraîne une atrophie muscles, du cartilage et des structures osseuses sous-jacentes.

Les CSMA ont été utilisées avec succès dans le traitement du syndrome de Parry-Romberg, [148].

5. Rajeunissement cutané :

Les cellules souches mésenchymateuses d'origine adipeuse et leurs facteurs sécrétoires peuvent stimuler la synthèse du collagène et la migration des fibroblastes pendant le processus de cicatrisation. Les traitements conventionnels du vieillissement cutané, tels que les lasers et les traitements topiques, induisent une nouvelle synthèse de collagène via l'activation des fibroblastes dermiques ou des facteurs de croissance. Des études récentes ont démontré que les CSMA peuvent également être utilisées pour le traitement du vieillissement cutané.

✚ Effet antirides :

Une étude[149] faite par Won-Serk Kim et al. a démontré l'effet antirides des CSMA avec une réduction des rides induites par les ultraviolets B (UVB) par l'CSMA.

Les rides ont été induites par une irradiation UVB de huit semaines, et ont été significativement améliorées par l'injection sous-cutanée de CSMA chez des souris glabres. Dans une analyse de réplique, les paramètres concernant les rides ont été améliorés avec des doses moyennes et élevées de CSMA.

L'épaisseur du derme et le contenu en collagène du derme ont également été augmentés dans les groupes ayant reçu l'injection des CSMA.

Dans une analyse du cycle cellulaire, un milieu conditionné de CSMA(ADSC-CM) a diminué la mort cellulaire apoptotique induite par les UVB. De plus, l'ADSC-CM a augmenté la protéine du collagène de type I et a diminué le niveau protéique de la métalloprotéinase 1, ce qui peut expliquer l'augmentation du contenu en collagène dans le derme.

Au total, ces résultats indiquent que la CSMA et ses facteurs sécrétoires sont efficaces pour les rides induites par les UVB et l'effet antirides est principalement médié par la réduction de l'apoptose induite par les UVB et la stimulation de la synthèse du collagène.

✚ Eclaircissement de la peau :

Une étude [149] de Won-Serk KIM et al. a examiné l'action pharmacologique des cellules souches dérivées du tissu adipeux concernant les effets de l'éclaircissement . Un milieu conditionné de CSMA(ADSC-CM) a été récolté et l'effet dépigmentant de l'ADSC-CM a été étudié sur des cellules de mélanome B16. Le traitement par l'ADSC-CM a inhibé la synthèse de la mélanine et l'activité de la tyrosinase de manière dose-dépendante.

Les résultats indiquent que les sécrétions des CSMA inhibent la synthèse de mélanine en régulant à la baisse l'expression de la tyrosinase et de TRP1, qui sont principalement médiées par le TGF- β 1.

✚ Effet antioxydant

Une étude [149] de Won-Serk Kim a examiné l'effet protecteur des CSMA sur les fibroblastes dermiques humains (HDF) par le biais de l'anti-oxydation dans un modèle de lésion oxydative induite par l'hydroperoxyde de tert-butyle (tbOOH).

Le milieu conditionné des CSMA (ADSC-CM) a été récolté et testé pour son action antioxydante. L'ADSC-CM avait un effet antioxydant aussi puissant que 100 μ M d'acide ascorbique et diverses protéines antioxydantes ont été détectées dans l'-CM par analyse protéomique. Les changements morphologiques et le test de survie cellulaire ont révélé que l'incubation avec l'ADSC-CM a aidé les HDF à résister aux radicaux libres induits par le tbOOH. En outre, l'hypothèse de l'étude selon laquelle les CSMA protègent les HDF par une action

antioxydante a été confirmé. Dans une analyse du cycle cellulaire, le traitement par ADSC-CM a inversé la mort cellulaire apoptotique induite par le tBOOH.

Ces résultats suggèrent que les CSMAs ont une puissante activité antioxydante et protègent les HDFs des lésions oxydatives en diminuant les cellules apoptotiques. Par conséquent, les CSMAs et l'ADSC-CM sont de bons candidats pour le contrôle et la prévention des dommages cutanés causés par les radicaux libres dans diverses conditions cutanées.

6. Alopécie :

Fukuoka et Suga [150] ont réalisé une étude prospective de six mois sur 32 patients atteints d'alopécie androgénique de types masculin et féminin, avec des injections mensuelles dans le cuir chevelu avec un ADSC-CM commercialisé. Chez 10 patients, les injections n'ont été appliquées que sur un côté du cuir chevelu. Après examen avec trichogramme au début et à la fin de la période de six mois, les auteurs ont signalé une augmentation statistiquement significative d'une moyenne de 29 poils/cm² pour les hommes et de 15,6 poils /cm² pour les femmes. Dans cette étude de comparaison, l'augmentation du nombre de cheveux entre les zones traitées et non traitées du cuir chevelu a également été jugée significative.

IV. Sécurité d'utilisation des cellules souches mésenchymateuses d'origine adipeuse :

Phuc Van ham et al. [151] ont évalué la sécurité et l'efficacité de la transplantation de SVF combinée au PRP dans le traitement des lésions cartilagineuses dans le modèle de souris, en cherchant l'expression des gènes liés au cancer. En particulier, deux gènes Oct-3/4 et Nanog ont été évalués par la méthode de RT-PCR en temps réel et SSEA-3, et SSEA-1 ont été évalués par cytométrie de flux. Les résultats ont montré que l'expression d'Oct-3/4, Nanog, SSEA-3 et SSEA-1 beaucoup plus faible que celle des cellules souches embryonnaires. Ces résultats ont démontré que le SVF possède une faible tumorigénicité. Le SVF et PRP sous la peau de souris n'ont pas pu

former de tératomes. Avec ces expériences, ces auteurs ont conclu que le SVF plus PRP est une thérapie prometteuse avec une sécurité élevée pour des expériences de transplantation.

V. Axes d'amélioration et Perspectives

A l'issue de notre étude, nous proposons des suggestions/recommandations qui méritent d'être souligner afin d'améliorer l'aspect pratique de la réalisation d'un tel travail de recherche.

1. Organisation du travail :

a. Communication inter-équipe :

En général, la communication a été bonne entre les équipes de la chirurgie plastique et celle de la médecine régénérative. Toutefois, quelques recommandations peuvent-être intéressantes pour améliorer la communication inter-équipe :

- ✚ L'adoption d'une fiche médicale commune ; (voir annexe 4)
- ✚ L'organisation d'un staff commun pour la discussion des patients avant programmation et pour le suivi des résultats après traitement ;

b. Extraction du tissu adipeux :

Le nombre de médecins préleveurs : Trois opérateurs ont été chargés du prélèvement du tissu adipeux, bien que la technique et le matériel sont les mêmes, les résultats hétérogènes obtenus peuvent être expliqués par le nombre de médecins préleveurs, nous recommandons donc que l'opérateur soit le même.

Prise de photo et Incidence : Bien que la prise de photo est été faite de manière similaire, utilisant un appareil photo numérique dernière génération NIKON, certains éléments peuvent

Cellules souches mésenchymateuses adipocytaires: isolement et indications en chirurgie plastique.

induire en erreur lors de l'évaluation des résultats. Nous recommandons l'utilisation de logiciels spécialement dédiés à la cicatrisation et aux pertes de substance chronique (Ekare.Inc) qui permet d'avoir un panorama global de la plaie avec ses différents paramètres ainsi qu'une luminosité et qualité d'image optimal.

Taille de l'échantillon patients : Le nombre limité de patients intégrés dans l'étude constitue un frein à l'interprétation des résultats cliniques et biologiques de nos patients. Ainsi, une population plus large permettra de tirer de meilleures conclusions.

Acheminement de la graisse au Centre de Médecine Régénérative : Les conditions de transport constituent un paramètre capital de notre étude pouvant retentir sur la viabilité des CSM extraites. Dans notre étude, la graisse extraite par lipoaspiration est mise dans une seringue de 60 cc, fermée par un bouchon spécialement dédié et stockée dans une boîte d'instrument stérile spécialement dédiée aux CSM. Néanmoins, le contrôle de la température de la boîte et le temps d'acheminement peuvent jouer un rôle important sur la qualité du prélèvement. Nous recommandons l'utilisation d'une boîte isotherme stérile et le respect d'une limite de temps de transport de 10 mn, afin de conserver au maximum la fonction et la viabilité cellulaire, ou au mieux équiper le CMR d'une salle de petite chirurgie consacré à la lipoaspiration.

c. L'isolement et caractérisation des cellules souches mésenchymateuses d'origine adipeuse :

La répétition des lavages augmente le temps de traitement de la graisse entraînant ainsi une apoptose cellulaire, par conséquent nous recommandons l'obtention d'un prélèvement initial le plus pur possible, peu sanglant, participera à la limitation des cycles de lavage.

Un temps de digestion enzymatique réduit, ne dépassant pas 40 mn permet la préservation de la viabilité et la fonction des CSMA.

Pour maintenir des CSMA viables et fonctionnels, il est recommandé d'analyser des échantillons (en cytomètre) immédiatement après l'échantillon, afin de diminuer les biais.

Culture et enrichissement cellulaire, permettra d'apprécier le potentiel de différenciation vers chaque lignée. Toutefois, cette option présente quelques inconvénients :

- ✚ Un processus de prélèvement – injection en 2 temps pour le patient avec une manipulation de plusieurs jours au laboratoire ;
- ✚ Une augmentation de la charge de travail au laboratoire ;
- ✚ Une augmentation du prix de la technique (nécessaire de culture cellulaire) ;
- ✚ Le risque accru de contamination infectieuse des cellules ;

Pour des raisons techniques, le rendement cellulaire a été obtenu que pour 55% des patients. Ainsi, la corrélation entre rendement cellulaire et les différents paramètres liés au terrain des patients n'a pu être interpréter de façon homogène pour tous les patients.

d. Résultats et évolution :

L'engagement des patients est important pour le suivi et la documentation de leurs évolutions d'une part, et l'augmentation du nombre d'injections d'autre part, permettant de connaître le dosage et le nombre d'injections nécessaire pour chaque indication.

L'analyse statistique est plus significative avec de grands échantillons, ce qui permet de calculer la corrélation entre chaque paramètre et le nombre de CSMA.

La variabilité de paramètres de chaque patient : Compte tenu des variabilités intra individuelle du profil épidémiologique et du terrain nous suggérons l'évaluation d'un seul paramètre à la fois.

e. Personnels :

▪ Une équipe de travail dédiée à l'isolement des CSMA : Dans notre étude, les Médecins préleveurs était accompagner par une équipe d'aide-soignants et d'infirmiers hospitaliers. Ce paramètre pourra interférer avec la méthode de prélèvement. Nous recommandons ainsi le travail avec une cellule constituée de personnel spécialement dédié au CSMA.

2. Développement de la recherche :

a. Comparaison des cellules souches mésenchymateuses d'origine adipeuse et les cellules souches mésenchymateuses de la moelle osseuse :

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 [36][152].

Une étude[153] a été conçue pour élucider l'effet des cellules souches dérivées de la moelle osseuse et les cellules souches d'origine adipeuse dans la cicatrisation des plaies. Cette étude a révélé que les groupes traités par lesCSMAs ont montré une amélioration statistiquement significative de l'inflammation, de la réorganisation du tissu de granulation et du dépôt de collagène par rapport à leurs homologues traités par la moelle osseuse.

Les CSMAs 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 CSMA s 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 sans nécessiter d'expansion en culture [90][156].

b. Les dérivés des CSMA s 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 s (ADSC-CM), les exosomes des CSMA s (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 s (ADSC-CM) et les exosomes des CSMA s (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 s, telles que des cytokines, des exosomes, de l'ADN et de l'ARN, peut favoriser la réparation des tissus et réguler l'immunité [13].

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 [14]. 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.

Comparaison de 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 exovésicules 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 [87], favorisant ainsi la réparation de des 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 tumorigénèse.

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.

c. Voie d'administrations des CSMA :

En termes d'administration de cellules souches, l'injection intraveineuse peut être une nouvelle alternative ayant une valeur clinique.

Le cell assisted lipotransfer (CAL), une technique impliquant la greffe de graisse associée à des cellules souches d'origine adipeuse, l'une des indications de l'utilisation des CSMA, a été étudié en analysant les modifications histologiques et micro-environnementales dans la graisse greffée lorsque des cellules souches dérivées de l'adipose ont été injectées par voie intraveineuse en même temps que la greffe. Dans cette étude, Hong et al.[158] ont injecté par voie intraveineuse des CSMA en même temps que la greffe de graisse et ont identifié les CSMA recrutées dans la greffe. L'administration systémique de ces cellules a permis d'augmenter de manière significative l'expression des gènes de l'adipogenèse, une rétention du volume du greffon et densité vasculaire du greffon.

Les auteurs ont identifié le recrutement de cellules stromales d'origine adipeuse à l'intérieur du greffon après leur injection en même temps que la greffe. Le traçage réalisé jusqu'à la semaine 8 postopératoire a révélé que les cellules stromales dérivées du tissu adipeux injectées par voie intraveineuse ont principalement induit l'angiogenèse et l'adipogenèse par une action paracrine plutôt que par une différenciation directe.

Une autre étude[159] a été menée sur sept sujets atteints de psoriasis modéré à sévère. Les patients ont reçu des injections intraveineuses des CSMA ($0,5 \times 10^6$ cellules/kg) tous les mois pendant 12 semaines. Le paramètre primaire était la sécurité du patient évaluée par l'incidence des événements indésirables (EI). Les paramètres secondaires comprenaient les changements dans l'indice de surface et de gravité du psoriasis (PASI), l'indice de qualité de vie en dermatologie (DLQI), la surface corporelle (BSA) et les scores de prurit sur l'échelle visuelle analogique (VAS).

Un total de 7 patients ont été enrôlés dans cette étude. Quatre patients ont terminé l'essai et deux participants ont terminé le suivi d'un an. Les auteurs ont enregistré 16 effets

Cellules souches mésenchymateuses adipo-cytaires: isolement et indications en chirurgie plastique.

indésirables (dont 1 de grade 2 et 15 de grade 1) pendant la période de traitement et 1 effet indésirable grave (EIG) pendant la période de suivi. Les EI les plus fréquents étaient des fièvres passagères (5/16) qui étaient probablement liées aux perfusions, suivies par des pharyngites (3/16) et des maux de tête (2/16). La procédure a été jugée sûre, et aucun EIG lié aux CSMA n'a été observé. Deux patients ont atteint et maintenu un PASI-50, indiquant une amélioration de 50 % du score PASI, après un an sans aucun traitement.

Ces résultats suggèrent que l'injection intraveineuse des CSMA est sûre et peut être une option thérapeutique pour le traitement des patients atteints de psoriasis.



CONCLUSION



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 chirurgie plastique et reconstructive.

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.



RÉSUMÉS



Résumé

Objectif : L'objectif de notre étude est d'évaluer l'apport quantitatif des CSMA's chez nos patients, évoquer quelques indications d'utilisation des CSMA's en chirurgie réparatrice et esthétique et établir des recommandations, afin d'optimiser les techniques d'extraction du tissu adipeux, d'acheminement et d'isolement et d'injection des CSMA's.

Patients et méthodes : Il s'agit d'une étude rétrospective et prospective portant sur 20 patients ayant bénéficié d'une extraction du tissu adipeux, isolement des cellules souches mésenchymateuses d'origine adipeuse et une injection unique et locale des CSMA's en association avec du Plasma riche en plaquettes, durant une période de 22 mois, s'étalant du Janvier 2020 au Octobre 2021, en collaboration de service de chirurgie plastique, réparatrice, esthétique et brûlés et centre de médecine régénérative du CHU Mohammed VI de Marrakech.

Résultats :

- 20 lipoaspirations ont été réalisées chez un total de 20 patients.
- L'âge moyen de nos patients était de 39,40 ans avec des extrêmes allant de 15 ans à 75 ans.
- Une nette prédominance féminine a été notée (60%) avec un sexe ratio H/F de 0,66.
- L'indication principale était les cicatrisations pathologiques avec un taux de 70%, et les indications à visée esthétique 30%.
- Toutes les interventions ont été réalisées par liposuction tumescence.
- Le site de récolte a été la paroi abdominale sous ombilical et flancs pour tous nos patients. Le volume de graisse prélevé moyen était de 68,75 mL, avec des extrêmes allant de 30ml à 120 ml.
- Le volume des prélèvements du Plasma riche en plaquettes a été 48 mL pour tous les patients.
- L'isolement des cellules mésenchymateuses a été réalisé par digestion enzymatique.

Cellules souches mésenchymateuses adipocytaires: isolement et indications en chirurgie plastique.

- Le comptage et le phénotypage des cellules ont été fait chez 11 patients.
- Les cellules isolées ont été caractérisées par un test de Cytométrie de flux, les marqueurs CD90+/CD105+/CD73+ ont été cherchés dans la population de cellules.
- La moyenne de rendement de CSMA à partir d'un mL de tissu adipeux récolté, a été régulièrement $6,82 \times 10^5$
- Le rendement cellulaire par mL de tissu de liposuction a été analysé en fonction de la quantité de graisse prélevé et les terrains des patients.
- Multiplication du rendement cellulaire par 5, à partir de 60 mL de graisse.
- La moyenne de rendement en CSMA chez les femmes était $1,022 \times 10^6$, et chez les hommes était $8,69 \times 10^4$. Le rendement cellulaire chez les femmes est 11 fois supérieur que chez les hommes.
- Les rendements cellulaires les plus élevés en fonction de l'âge ont été constatés chez les patients âgés de 19 à 30 ans
- Les rendements les plus faibles dans notre série ont été observés pour les valeurs élevées d'IMC au-delà de 30 kg/m^2 .

Conclusion : La facilité de récolte et d'isolement, l'abondance des CSMA, leur potentiel de différenciation en multiples lignées, ainsi que leurs effets immuno-modulateurs, mettent les CSMA en première ligne en terme de thérapie cellulaire et de régénération tissulaire.

Abstract

Aim: The aim of our study is to evaluate the quantitative contribution of ADSCs in our patients, to mention some indications of use of ADSCs in reconstructive and aesthetic surgery and to establish recommendations, in order to optimize the techniques of extraction of adipose tissue, routing and isolation and injection of ADSCs.

Patients and methods: This is a retrospective and prospective study of 20 patients who have undergone an extraction of adipose tissue, isolation of adipose derived mesenchymal stem cells and a single and local injection of ADSCs in association with platelet-rich plasma, during a period of 22 months, from January 2020 to October 2021, in collaboration with the department of plastic, reconstructive, aesthetic and burned surgery and the center of regenerative medicine of the Mohammed VI University Hospital of Marrakech.

Results:

- 20 liposuction procedures were performed in a total of 20 patients.
- The average age of our patients was 39.40 years with extremes ranging from 15 to 75 years.
- A clear female predominance was noted (60%) with a M/F sex ratio of 0.66.
- The main indication was pathological scarring with a rate of 70%, and indications for aesthetic purposes 30%.
- All procedures were performed by tumescent liposuction.
- The harvesting site was the abdominal region under the umbilical and flanks for all our patients. The average volume of fat harvested was 68.75 mL, with extremes ranging from 30 mL to 120 mL.
- The volume of platelet-rich plasma samples was 48 mL for all patients.
- Isolation of mesenchymal cells was performed by enzymatic digestion.

Cellules souches mésenchymateuses adipocytaires: isolement et indications en chirurgie plastique.

- Cell counting and phenotyping were performed in 11 patients.
- Isolated cells were characterized by flow cytometry assay, CD90+/CD105+/CD73+ markers were searched in the cell population.
- The average yield of ADSCs from one mL of harvested adipose tissue was consistently 6.82×10^5
- The cell yield per mL of liposuction tissue was analyzed according of the amount of fat harvested and the patient's parameters.
- Cell yield was increased ,5 times, from 60 mL of fat.
- The average ADSCs yield in women was 1.022×10^6 , and in men was 8.69×10^4 . The cell yield in females was 11 times higher than in males.
- The highest cell yields according to age were found in patients aged between 19–30 years
- –The lowest yields according to BMI in our series were observed for high BMI values above 30 kg/m^2 .

Conclusion: The ease of harvesting and isolation, the abundance of ADSCs, their potential to differentiate into multiple lineages, as well as their immunomodulatory effects, put ADSCs in the forefront of cell therapy and tissue regeneration.

ملخص

الهدف: تهدف دراستنا إلى تقييم المساهمة الكمية للخلايا الجذعية المستخلصة من الدهون لذمراضانا، وذكر بعض استخداماتها في جراحة الترميم والتجميل ووضع توصيات، من أجل تحسين تقنيات استخراج الأنسجة الدهنية ونقل و استخلاص وحقن الخلايا الجذعية المستخلصة من الدهون **المرضى والطرق:** اطروحتنا عبارة عن دراسة رجعية ومستقبلية وصفية تحليلية لـ 20 مريض خضعوا لاستخراج الأنسجة الدهنية، عزل الخلايا الجذعية المشتقة من الدهون وحقنة واحدة ومحلية من هذه الخلايا بالإضافة إلى البلازما الغنية بالصفائح الدموية، خلال فترة 22 شهرا، من يناير 2020 إلى أكتوبر 2021 بالتعاون مع قسم الجراحة التجميلية والترميمية، ومركز الطب التجديدي بمستشفى جامعة محمد السادس بمراكش.

النتائج :

- تم إجراء 20 عملية شفط دهون فيما مجموعه 20 مريضا .
- متوسط عمر مرضانا كان 39.40 سنة بين 15 إلى 75 سنة .
- لوحظ وجود أغلبية واضحة للإناث (60 في المائة)
- ثم أخذ العينات من منطقة البطن لجميع مرضانا. وبلغ متوسط حجم الدهون التي تم استخلاصها 68.75 مل، مع درجات قصوى تتراوح بين 30 مل و 120 مل .
- كان حجم عينات البلازما الغنية بالصفائح الدموية 48 مل لجميع المرضى.
- اجري شفط الدهون تحت تخدير موضعي
- تم عزل الخلايا بواسطة الهضم الانزيمي.
- أجريت عملية عد الخلايا لـ 11 مريضا بواسطة جهاز التدفق الخلوي.
- CD90 تم البحث عن +/CD73 +/CD105 في الخلايا.
- بلغ متوسط حصيلة الخلايا الجذعية المستخلصة من الدهون من واحد مل من النسيج الدهني 6.82×10^5
- تحليل نتاج الخلايا الجذعية المستخلصة من الدهون لكل مل من أنسجة الدهون وفقا لكمية الدهون المحصودة وخلفية المريض.
- نتاج هذه الخلايا تضاعف ب، 5 مرات، انطلاقا من 60 مل من الدهون.
- بلغ متوسط العائد من هذه الخلايا للنساء 1.022×10^6 ، و لذي الرجال 8.69×10^4 وكان عائد الخلايا في الإناث أعلى 11 مرة منه في الذكور.
- وقد وجدت أعلى غلة للخلايا حسب العمر في المرضى الذين تتراوح أعمارهم بين 19 و 30 سنة.
- لوحظت أدنى حصيلة حسب مؤشر كتلة الجسم في سلسلتنا بالنسبة لقيم مؤشر كتلة الجسم العالية التي تزيد عن 30 كيلو غراما/م².

الاستنتاج: إن سهولة العزل، ووفرة هذه الخلايا، وإمكانية تمييزها إلى سلالات متعددة، تضعها في طليعة العلاج بالخلايا وتجديد الأنسجة.



Annexe 1 :

- **Critères d'éligibilité :**

Nous avons colligé dans notre étude les patients présentant des pertes de substances chroniques, des séquelles de brûlures, des alopecies, des indications de rajeunissement faciales et un pannicule adipeux permettant le prélèvement et l'isolement des CSM adipeuses.

- **Critères d'exclusion :**

Nous avons exclu tous les patients qui n'entraient pas dans les conditions d'éligibilité de l'étude comme suit :

- Absence de Consentement éclairé signé
- Grossesse / allaitement
- Maladie sévère incontrôlée (insuffisance rénale chronique, pulmonaire)
- Antécédent de pathologie cancéreuse ou psychiatrique ou d'addiction
- Antécédent d'une chirurgie majeure ou traumatisme sérieux dans les 6 semaines
- Cachexie / malnutrition / impossibilité de collecte d'au moins 30 g de graisse
- Immunodépression congénitale ou acquise ou patient sous traitement immunosuppresseur
- Sérologie positive HIV - Hépatite B - Hépatite C
- Patient greffé ou sur liste d'attente de greffe d'organe
- Expectations infondées du patient par rapport à l'opinion du médecin traitant
- Antécédent d'effets secondaires à l'anesthésie locale

Annexe 2 :

Fiche médical du patient

1. Identité

- *Nom / Prénom :*
- *Date de naissance :* / Numéro du dossier :
- *Sexe :* Homme Femme
- *Statut marital :* Célibataire Marié(e) Divorcé(e) Veuf(ve)
- *Profession :*
- *Sécurité sociale :* RAMED CNOPS CNSS
Payant
- *Ville :* / *Tel :*

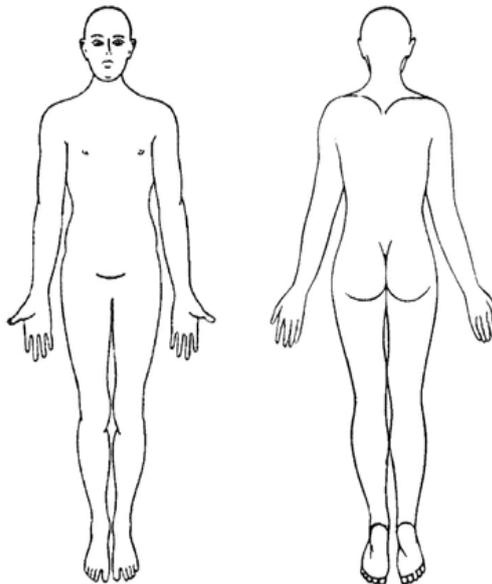
2. Antécédents

- *Médicaux :*
- *Chirurgicaux :*
- *Familiaux :*
- *Habitudes toxiques :*

3. Examen Clinique

- Examen général :

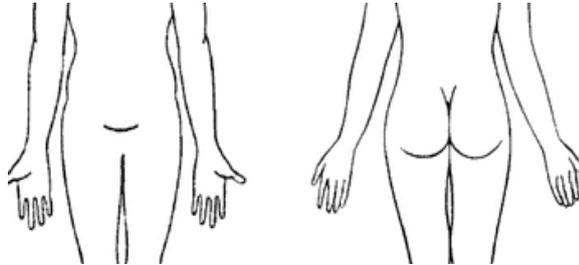
T° : FC : FR : TA :
Taille : Poids : IMC :



- Examen local :
 - Ancienneté :
 - Localisation :
 - Etendue de la lésion (cm) :
 - Profondeur / Epaisseur (cm) :
- Indication :

4. Paraclinique

- Biologie :
- Bactériologie :
- Autres :



5. Zone donneuse :

- Site de prélèvement :
- Quantité de graisse prélevée :

6. Résultats de Centre de médecine régénérative :

- Volume de CSMA's acheminé :
- Associé au PRP :
- Rendement en CSMA's viables/mL
- Culture des CSMA's et potentiel de différenciation :

7. Procédure & Surveillance :

- J0 (1ere séance) :
- 1 mois :
- 3 mois :
- 6 mois :

8. Evolution :

Mauvaise

Aucune

Bonne

Excellente

Annexe 3 :

FORMULAIRE DE CONSENTEMENT ECLAIRE DU PATIENT

Suite aux informations que j'ai reçues et aux réponses qui ont été apportées à mes éventuelles questions, j'accepte, après réflexion, l'intervention mentionnée ci-dessus. J'ai été informé(e) de la nature et le but de l'intervention proposée. Le médecin m'a aussi informé(e) des bénéfices, risques et possible complications, de même que des possibles alternatifs au traitement proposé.

Date : _____

Patient (signature) : _____

En cas d'incapacité de discernement

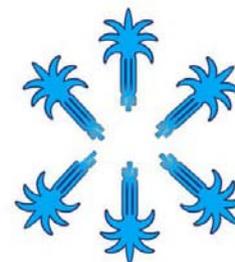
Représentant légal ou thérapeutique* _____

Nom, prénom (majuscule) : _____

Je, soussigné, Dr _____, certifie que j'ai expliqué la nature, le but, les bénéfices, les risques et les alternatives à l'intervention ci-dessus. Je certifie également avoir offert au patient la possibilité de poser toutes les questions qu'il souhaite et que j'ai pleinement répondu à ces dernières. Je crois que le patient/représentant légal ou thérapeutique a bien compris ce que j'ai expliqué. Dans le cas où je ne serais pas présent lors de la signature de ce formulaire par le patient, je comprends qu'il n'a qu'une valeur de documentation, bien que le processus du consentement éclairé ait pris place. Je reste responsable de l'information au patient ainsi que d'obtenir son consentement éclairé.



Annexe 4 :



DOSSIER MEDICAL DU PATIENT

Date :

Médecin préleveur :

Identité

- *Nom / Prénom :*
- *Date de naissance :* / Numéro du dossier :
- *Sexe :* Homme Femme
- *Statut marital :* Célibataire Marié(e) Divorcé(e) Veuf(ve)
- *Profession :*
- *Sécurité sociale :* RAMED CNOPS CNSS
Payant
- *Ville :* / Tel :

Antécédents

- *Médicaux :*
- *Chirurgicaux :*
- *Familiaux :*
- *Habitudes toxiques :*

Examen Clinique

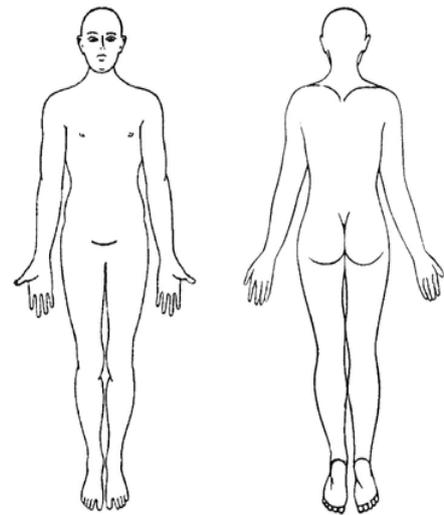
- Examen général :

Cellules souches mésenchymateuses adipocytaires: isolement et indications en chirurgie plastique.

T° : FC : FR : TA :
Taille : Poids : IMC :

- Examen local :
 - Ancienneté :
 - Localisation :
 - Etendue de la lésion (cm) :
 - Profondeur / Epaisseur (cm) :

- Indication :



Paraclinique

- Biologie :
- Bactériologie :
- Autres :

Zone donneuse :

- Site de prélèvement :

- Quantité de graisse prélevée :



Techniques de liposuccion utilisés :

- Canule d'infiltration: Calibre:
- Solution d'infiltration: Klein: Autre
- Canule de liposuccion: Calibre:
- Pression negative:

Centre de médecine régénérative :

a) Pré-analytique :

- Heure : du prélèvement ... , de réception...

- Prélèvement conforme : Oui Non

Fiche remplie :

Etiqueté :

Boite stérile :

- CSMA : Quantité prélevée ... mL
Nombre de seringues : ...

Hématique : oui non

- PRP : oui non

b) Manipulation :

- Volume finale :
- Association au PRP : oui non

c) Contrôle de qualité :

- NFS : GB
PQ
PNN
- CMF : Nombre total de cellules viables
- Phénotype :

	CD 105+	CD90+	CD73+	CD105+/CD73+	CD105+/CD90+	CD90+/CD73+
% cellules						
Count/mL						

d) Récupération :

- Heure :
- Condition de transport :

Injection des CSMAs et Suivi :

- Site d'injection :
- J0 (1ere séance) :
- 1 mois :
- 3 mois :
- 6 mois :

Evolution :

Mauvaise Aucune Bonne Excellente



BIBLIOGRAPHIE



1. **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.
2. **Hassanshahi A, Hassanshahi M, Khabbazi S, Hosseini-Khah Z, Peymanfar Y, Ghalamkari S, Su Y, Xian CJ.**
Adipose-derived stem cells for wound healing. *J Cell Physiol.* 2019 Jun;234(6):7903-14.
3. **McCarthy ME, Brown TA, Bukowska J, Bunnell BA, Frazier T, Wu X, Gimble JM.**
Therapeutic Applications for Adipose-Derived Stem Cells in Wound Healing and Tissue Engineering. *Curr Stem Cell Rep.* 2018 Jun;4(2):127-37.
4. **Klar AS, Zimoch J, Biedermann T.**
Skin Tissue Engineering: Application of Adipose-Derived Stem Cells. *BioMed Res Int.* 2017;2017:1-12.
5. **Bourin P, Bunnell BA, Casteilla L, Dominici M, Katz AJ, March KL, Redl H, Rubin JP, Yoshimura K, Gimble JM.**
Stromal cells from the adipose tissue-derived stromal vascular fraction and culture expanded adipose tissue-derived stromal/stem cells: a joint statement of the International Federation for Adipose Therapeutics and Science (IFATS) and the International Society for Cellular Therapy (ISCT). *Cytotherapy.* 2013 Jun;15(6):641-8.
6. **Bacakova L, Zarubova J, Travnickova M, Musilkova J, Pajorova J, Slepicka P, Kasalkova NS, Svorcik V, Kolska Z, Motarjemi H, Molitor M.**
Stem cells: their source, potency and use in regenerative therapies with focus on adipose-derived stem cells - a review. *Biotechnol Adv.* 2018 Jul;36(4):1111-26.
7. **Girard A-C.**
Thérapies à partir du tissu adipeux: de la chirurgie esthétique et reconstructrice à la thérapie cellulaire. Application à la régénération des tendons chez les chevaux. :249.
8. **Park M. Geron bails out of stem cells.** :2.
9. **Takahashi K, Yamanaka S.**
Induction of Pluripotent Stem Cells from Mouse Embryonic and Adult Fibroblast Cultures by Defined Factors. *Cell.* 2006 Aug;126(4):663-76.
10. **Yu J, Vodyanik MA, Smuga-Otto K, Antosiewicz-Bourget J, Frane JL, Tian S, Nie J, Jonsdottir GA, Ruotti V, Stewart R, Slukvin II, Thomson JA.**
Induced Pluripotent Stem Cell Lines Derived from Human Somatic Cells. *Science.* 2007 Dec 21;318(5858):1917-20.
11. **Kieffer E, Kuntz S, Viville S.**
Tour d'horizon des lignées de cellules souches pluripotentes. *médecine/sciences.* 2010 Oct;26(10):848-54.
12. **Margossian T.**
Caractérisation des cellules souches mésenchymateuses du sang placentaire et de la gelée de Wharton. :181.

- 13. Andrzejewska A, Lukomska B, Janowski M.**
Concise Review: Mesenchymal Stem Cells: From Roots to Boost. *STEM CELLS*. 2019 Jul;37(7):855–64.
- 14. Horwitz EM, Le Blanc K, Dominici M, Mueller I, Slaper-Cortenbach I, Marini FC, Deans RJ, Krause DS, Keating A.**
Clarification of the nomenclature for MSC: The International Society for Cellular Therapy position statement. *Cytotherapy*. 2005;7(5):393–5.
- 15. Dominici M, Le Blanc K, Mueller I, Slaper-Cortenbach I, Marini FC, Krause DS, Deans RJ, Keating A, Prockop DJ, Horwitz EM.**
Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy position statement. *Cytotherapy*. 2006;8(4):315–7.
- 16. Hwang NS, Zhang C, Hwang Y, Varghese S.**
Mesenchymal stem cell differentiation and roles in regenerative medicine. *Wiley Interdiscip Rev Syst Biol Med*. 2009 Jul;1(1):97–106.
- 17. Caplan AL.**
Mesenchymal stem cells. *J Orthop Res*. 1991 Sep;9(5):641–50.
- 18. Tavassoli M, Crosby WH.**
Transplantation of Marrow to Extramedullary Sites. *Science* [Internet]. 1968 Jul 5 [cited 2022 Jan 18]; Available from: <https://www.science.org/doi/abs/10.1126/science.161.3836.54>
- 19. Friedenstein AJ, Chailakhyan RK, Latsinik NV, Panasyuk AF, Keiliss-Borok IV.**
STROMAL CELLS RESPONSIBLE FOR TRANSFERRING THE MICROENVIRONMENT OF THE HEMOPOIETIC TISSUES: Cloning In Vitro and Replantation In Vivo. *Transplantation*. 1974 Apr;17(4):331–40.
- 20. Bianco P, Robey PG, Simmons PJ.**
Mesenchymal Stem Cells: Revisiting History, Concepts, and Assays. *Cell Stem Cell*. 2008 Apr;2(4):313–9.
- 21. Friedenstein AJ, Chailakhjan RK, Lalykina KS.**
THE DEVELOPMENT OF FIBROBLAST COLONIES IN MONOLAYER CULTURES OF GUINEA-PIG BONE MARROW AND SPLEEN CELLS. *Cell Prolif*. 1970 Oct;3(4):393–403.
- 22. Mimeault M, Batra SK.**
Concise Review: Recent Advances on the Significance of Stem Cells in Tissue Regeneration and Cancer Therapies. *STEM CELLS*. 2006 Nov;24(11):2319–45.
- 23. Herzog EL, Chai L,**
Krause DS. Plasticity of marrow-derived stem cells. *Blood*. 2003 Nov 15;102(10):3483–93.
- 24. Asahara T, Kalka C, Isner J.**
Stem cell therapy and gene transfer for regeneration. *Gene Ther*. :7.

- 25. Shi M, Li J, Liao L, Chen B, Li B, Chen L, Jia H, Zhao RC.**
Regulation of CXCR4 expression in human mesenchymal stem cells by cytokine treatment: role in homing efficiency in NOD/SCID mice. *Haematologica*. 2007 Jul 1;92(7):897-904.
- 26. Søren Knudtzon.**
In Vitro Growth of Granulocytic Colonies From Circulating Cells in Human Cord Blood – ScienceDirect [Internet]. [cited 2022 Feb 7]. Available from:
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0006497120735639>
- 27. Nakahata T, Ogawa M.**
Hemopoietic colony-forming cells in umbilical cord blood with extensive capability to generate mono- and multipotential hemopoietic progenitors. *J Clin Invest*. 1982 Dec 1;70(6):1324-8.
- 28. Fauser AA, Messner HA.**
Colonies in Human Blood, and Cord Blood. :6.
- 29. Prindull G, Prindull B, Meulen N v. d.**
HAEMATOPOIETIC STEM CELLS (CFUc) IN HUMAN CORD BLOOD. *Acta Paediatr*. 1978 Jul;67(4):413-6.
- 30. Broxmeyer HE, Douglas GW, Hangoc G, Cooper S, Bard J, English D, Arny M, Thomas L, Boyse EA.**
Human umbilical cord blood as a potential source of transplantable hematopoietic stem/progenitor cells. *Proc Natl Acad Sci*. 1989 May 1;86(10):3828-32.
- 31. Lataillade J-J, Clay D, Bourin P.**
Stromal cell-derived factor 1 regulates primitive hematopoiesis by suppressing apoptosis and by promoting G0/G1 transition in CD34⁺ cells: evidence for an autocrine/paracrine mechanism. 2002;99(4):14.
- 32. Liao W, Zhong J, Yu J, Xie J, Liu Y, Du L, Yang S, Liu P, Xu J, Wang J, Han Z, Han ZC.**
Therapeutic Benefit of Human Umbilical Cord Derived Mesenchymal Stromal Cells in Intracerebral Hemorrhage Rat: Implications of Anti-inflammation and Angiogenesis. *Cell Physiol Biochem*. 2009;24(3-4):307-16.
- 33. Bieback K, Kern S, Klüter H, Eichler H.**
Critical Parameters for the Isolation of Mesenchymal Stem Cells from Umbilical Cord Blood. *Stem Cells*. 2004 Jul 1;22(4):625-34.
- 34. Weiss ML, Mitchell KE, Hix JE, Medicetty S, El-Zarkouny SZ, Grieger D, Troyer DL.**
Transplantation of porcine umbilical cord matrix cells into the rat brain. *Exp Neurol*. 2003 Aug;182(2):288-99.
- 35. Karda R, Delhove JMKM, Buckley SMK, Rahim AA, Rocha-Ferreira E, Perocheau DPB, Ng J, McKay TR, Hagberg HH, Waddington SN, Johnson MR.**
Generation of Light-Emitting Somatic-Transgenic Mice for Disease Modelling of Hypoxic Ischaemic Encephalopathy. *Mol Ther*. 2015 May;23:S55.

- 36. Coleman SR.**
Structural Fat Grafting: More Than a Permanent Filler: *Plast Reconstr Surg.* 2006 Sep;118(Suppl):108S–120S.
- 37. Bellini E, Grieco MP, Raposio E.**
The science behind autologous fat grafting. *Ann Med Surg.* 2017 Dec;24:65–73.
- 38. Nae S, Bordeianu I, St AT, Antohi N.**
Human adipose-derived stem cells: definition, isolation, tissue-engineering applications. *Eng Appl.* :6.
- 39. Zuk PA, Zhu M, Ashjian P, Ugarte DAD, Huang JI, Mizuno H, Alfonso ZC, Fraser JK, Benhaim P, Hedrick MH.**
Human Adipose Tissue Is a Source of Multipotent Stem Cells□D. *Mol Biol Cell.* 2002;13:17.
- 40. Zuk PA, Zhu M, Mizuno H, Huang J, Futrell JW, Katz AJ, Benhaim P, Lorenz HP, Hedrick MH.**
Multilineage Cells from Human Adipose Tissue: Implications for Cell-Based Therapies. *Tissue Eng.* 2001 Apr;7(2):211–28.
- 41. Mazzola RF, Mazzola IC.**
History of Fat Grafting. *Clin Plast Surg.* 2015 Apr;42(2):147–53.
- 42. Rigotti G, Marchi A, Gali, M, Baroni G, Benati D, Krampera M, Pasini A, Sbarbati A.**
Clinical Treatment of Radiotherapy Tissue Damage by Lipoaspirate Transplant: A Healing Process Mediated by Adipose-Derived Adult Stem Cells: *Plast Reconstr Surg.* 2007 Apr;119(5):1409–22.
- 43. Yoshimura K, Shigeura T, Matsumoto D, Sato T, Takaki Y, Aiba-Kojima E, Sato K, Inoue K, Nagase T, Koshima I, Gonda K.**
Characterization of freshly isolated and cultured cells derived from the fatty and fluid portions of liposuction aspirates. *J Cell Physiol.* 2006 Jul;208(1):64–76.
- 44. Bunnell B, Flaatt M, Gagliardi C, Patel B, Ripoll C.**
Adipose-derived stem cells: Isolation, expansion and differentiation☆. *Methods.* 2008 Jun;45(2):115–20.
- 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. Nakagami H, Morishita R, Maeda K, Kikuchi Y, Ogihara T, Kaneda Y.**
Adipose Tissue-Derived Stromal Cells as a Novel Option for Regenerative Cell Therapy. *J Atheroscler Thromb.* 2006;13(2):77–81.
- 47. Aust L, Devlin B, Foster SJ, Halvorsen YDC, Hicok K, du Laney T, Sen A, Willingham GD, Gimble JM.**
Yield of human adipose-derived adult stem cells from liposuction aspirates. *Cytotherapy.* 2004 Jan;6(1):7–14.

- 48. Akino K, Mineta T, Fukui M, Fujii T, Akita S.**
Bone morphogenetic protein-2 regulates proliferation of human mesenchymal stem cells. *Wound Repair Regen.* 2003 Sep;11(5):354-60.
- 49. Yang F, Yang D, Tu J, Zheng Q, Cai L, Wang L.**
Strontium Enhances Osteogenic Differentiation of Mesenchymal Stem Cells and In Vivo Bone Formation by Activating Wnt/Catenin Signaling. *Stem Cells.* 2011 Jun 1;29(6):981-91.
- 50. Taupin P.**
Adult neural stem cells, neurogenic niches, and cellular therapy. *Stem Cell Rev.* 2006 Sep;2(3):213-9.
- 51. Dardour J-C.**
Nouvelle approche anatomoclinique du tissu adipeux. *Ann Chir Plast Esthét.* 2012 Oct;57(5):454-64.
- 52. Mojallal A, Boucher F, Breton P, Braye F.**
Tissu adipeux et ses applications en chirurgie plastique. *EMC – Tech Chir – Chir Plast Reconstr Esthét.* 2011 Jan;6(2):1-16.
- 53. Ryan TJ, Curri SB.**
The structure of fat. *Clin Dermatol.* 1989 Oct;7(4):37-47.
- 54. Mojallal A, Foyatier J-L.**
Historique de l'utilisation du tissu adipeux comme produit de comblement en chirurgie plastique. *Ann Chir Plast Esthét.* 2004 Oct;49(5):419-25.
- 55. Simonacci F, Bertozzi N, Grieco MP, Grignaffini E, Raposio E.**
Autologous fat transplantation for breast reconstruction: A literature review. *Ann Med Surg.* 2016 Dec;12:94-100.
- 56. 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.
- 57. 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.
- 58. 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.
- 59. 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.
- 60. Takeo M, Lee W, Ito M.**
Wound Healing and Skin Regeneration. *Cold Spring Harb Perspect Med.* 2015 Jan 1;5(1):a023267-a023267.

- 61. Singer AJ.**
Cutaneous Wound Healing. *N Engl J Med.* 1999;9.
- 62. Velnar T, Bailey T, Smrkolj V.**
The Wound Healing Process: An Overview of the Cellular and Molecular Mechanisms. *J Int Med Res.* 2009 Oct;37(5):1528-42.
- 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, Klinger 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. Small K, Choi M, Petruolo O, Lee C, Karp N.**
Is There an Ideal Donor Site of Fat for Secondary Breast Reconstruction? *Aesthet Surg J.* :6.
- 70. Rohrich RJ, Sorokin ES, Brown SA.**
In Search of Improved Fat Transfer Viability: A Quantitative Analysis of the Role of Centrifugation and Harvest Site: *Plast Reconstr Surg.* 2004 Jan;113(1):391-5.
- 71. Ozsoy Z, Kul Z, Bilir A.**
The role of cannula diameter in improved adipocyte viability: A quantitative analysis. *Aesthet Surg J.* 2006 May;26(3):287-9.

- 72. Erdim M, Tezel E, Numanoglu A, Sav A.**
The effects of the size of liposuction cannula on adipocyte survival and the optimum temperature for fat graft storage: an experimental study. *J Plast Reconstr Aesthet Surg.* 2009 Sep;62(9):1210-4.
- 73. Nguyen PSA, Desouches C, Gay AM, Hautier A, Magalon G.**
Development of micro-injection as an innovative autologous fat graft technique: The use of adipose tissue as dermal filler. *J Plast Reconstr Aesthet Surg.* 2012 Dec;65(12):1692-9.
- 74. Alharbi Z, Opländer C, Almakadi S, Fritz A, Vogt M, Pallua N.**
Conventional vs. micro-fat harvesting: How fat harvesting technique affects tissue-engineering approaches using adipose tissue-derived stem/stromal cells. *J Plast Reconstr Aesthet Surg.* 2013 Sep;66(9):1271-8.
- 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. Lee JH, Kirkham JC, McCormack MC, Nicholls AM, Randolph MA, Austen WG.**
The Effect of Pressure and Shear on Autologous Fat Grafting: *Plast Reconstr Surg.* 2013 May;131(5):1125-36.
- 77. Oedayrajsingh-Varma MJ, van Ham SM, Knippenberg M, Helder MN, Klein-Nulend J, Schouten TE, Ritt MJPF, van Milligen FJ.**
Adipose tissue-derived mesenchymal stem cell yield and growth characteristics are affected by the tissue-harvesting procedure. *Cytotherapy.* 2006;8(2):166-77.
- 78. Christopher B. et al.**
Adipose tissue-derived mesenchymal stem cell.
- 79. Miller DL, Thomas RM, Frazier ME.**
Ultrasonic cavitation indirectly induces single strand breaks in DNA of viable cells in vitro by the action of residual hydrogen peroxide. *Ultrasound Med Biol.* 1991 Jan;17(7):729-35.
- 80. Ashush H, Rozenszajn LA, Blass M, Barda-Saad M, Azimov D, Radnay J, Zipori D, Rosenschein U.**
Apoptosis Induction of Human Myeloid Leukemic Cells by Ultrasound Exposure. *Cancer Res.* 2000 Feb 15;60(4):1014-20.
- 81. Strong AL, Cederna PS, Rubin JP, Coleman SR, Levi B.**
The Current State of Fat Grafting: A Review of Harvesting, Processing, and Injection Techniques. *Plast Reconstr Surg.* 2015 Oct;136(4):897-912.
- 82. Keck M, Zeyda M, Gollinger K, Burjak S, Kamolz L-P, Frey M, Stulnig TM.**
Local Anesthetics Have a Major Impact on Viability of Preadipocytes and Their Differentiation into Adipocytes: *Plast Reconstr Surg.* 2010 Nov;126(5):1500-5.

- 83. Girard A-C, Atlan M, Bencharif K, Gunasekaran MK, Delarue P, Hulard O, Lefebvre-d'Hellencourt C, Roche R, Hoareau L, Festy F.**
New Insights into Lidocaine and Adrenaline Effects on Human Adipose Stem Cells. *Aesthetic Plast Surg.* 2013 Feb;37(1):144-52.
- 84. Livaoglu M, Buruk CK, Uraloglu M, Ersöz S, Livaoglu A, Sözen E, Agdogan Ö.**
Effects of Lidocaine Plus Epinephrine and Prilocaine on Autologous Fat Graft Survival. *J Craniofac Surg.* 2012 Jul;23(4):1015-8.
- 85. Grambow F, Rutkowski R, Podmelle F, Schmoeckel K, Siegerist F, Domanski G, Schuster MW, Domanska G.**
The Impact of Lidocaine on Adipose-Derived Stem Cells in Human Adipose Tissue Harvested by Liposuction and Used for Lipotransfer. *Int J Mol Sci.* 2020 Apr 20;21(8):2869.
- 86. Goldman JJ, Wang WZ, Fang X-H, Williams SJ, Baynosa RC.**
Tumescent Liposuction without Lidocaine: *Plast Reconstr Surg - Glob Open.* 2016 Aug;4(8):e829.
- 87. Charles-de-Sá L, Gontijo de Amorim NF, Dantas D, Han JV, Amable P, Teixeira MVT, de Araújo PL, Link W, Borojevich R, Rigotti G.**
Influence of Negative Pressure on the Viability of Adipocytes and Mesenchymal Stem Cell, Considering the Device Method Used to Harvest Fat Tissue. *Aesthet Surg J.* 2015 Mar 1;35(3):334-44.
- 88. Rose JG, Lucarelli MJ, Lemke BN, Dortzbach RK, Boxrud CA, Obagi S, Patel S.**
Histologic Comparison of Autologous Fat Processing Methods. *Ophthal Plast Reconstr Surg.* 2006 May;22(3):195-200.
- 89. Condé-Green A, Gontijo de Amorim NF, Pitanguy I.**
Influence of decantation, washing and centrifugation on adipocyte and mesenchymal stem cell content of aspirated adipose tissue: A comparative study. *J Plast Reconstr Aesthet Surg.* 2010 Aug;63(8):1375-81.
- 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. PAOLA PALUMBO, GIANFRANCA MICONI, BENEDETTA CINQUE, CRISTINA LA TORRE, _FRANCESCA LOMBARDI, GIOVANNI ZOCCALI, GINO ORSINI, PIETRO LEOCATA.**
In Vitro Evaluation of different methods of handling Human liposuction aspirate and their effect on adipocytes and adipose derived stem cells. *JOURNAL OF CELLULAR PHYSIOLOGY*

- 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. Lin C-S, Xin Z-C, Dai J, Lue TF, Francisco S.**
Commonly Used Mesenchymal Stem Cell Markers and Tracking Labels: Limitations and Challenges. 2013;11.
- 95. Maleki M, Ghanbarvand F, Behvarz MR, Ejtemaei M, Ghadirkhomi E.**
Comparison of Mesenchymal Stem Cell Markers in Multiple Human Adult Stem Cells. *Int J Stem Cells.* 2014 Nov 30;7(2):118-26.
- 96. Schachtele S.**
Markers and Methods to Verify Mesenchymal Stem Cell Identity, Potency, and Quality. :13.
- 97. Haynesworth SE, Barer MA, Caplan AI.**
Cell surface antigens on human marrow-derived mesenchymal cells are detected by monoclonal antibodies. *Bone.* 1992 Jan 1;13(1):69-80.
- 98. Barry F, Boynton R, Murphy M, Zaia J.**
The SH-3 and SH-4 Antibodies Recognize Distinct Epitopes on CD73 from Human Mesenchymal Stem Cells. *Biochem Biophys Res Commun.* 2001 Nov 30;289(2):519-24.
- 99. Kubrova E, Qu W, Galvan ML, Paradise CR, Yang J, Dietz AB, Dudakovic A, Smith J, van Wijnen AJ.**
Hypothermia and nutrient deprivation alter viability of human adipose-derived mesenchymal stem cells. *Gene.* 2020 Jan;722:144058.
- 100. Ogawa R, Mizuno H, Hyakusoku H, Watanabe A, Migita M, Shimada T.**
Chondrogenic and Osteogenic Differentiation of Adipose-derived Stem Cells Isolated from GFP Transgenic Mice. *J Nippon Med Sch.* 2004;71(4):240-1.
- 101. Aksu AE, Rubin JP, Dudas JR, Marra KG.**
Role of Gender and Anatomical Region on Induction of Osteogenic Differentiation of Human Adipose-derived Stem Cells. *Ann Plast Surg.* 2008 Mar;60(3):306-22.
- 102. Harris LJ, Zhang P, Abdollahi H, Tarola NA, DiMatteo C, McIlhenny SE, Tulenko TN, DiMuzio PJ.**
Availability of Adipose-Derived Stem Cells in Patients Undergoing Vascular Surgical Procedures. *J Surg Res.* 2010 Oct;163(2):e105-12.
- 103. van Harmelen V, Röhrig K, Hauner H.**
Comparison of proliferation and differentiation capacity of human adipocyte precursor cells from the omental and subcutaneous adipose tissue depot of obese subjects. *Metabolism.* 2004 May;53(5):632-7.
- 104. Geissler PJ, Davis K, Roostaeian J, Unger J, Huang J, Rohrich RJ.**
Improving Fat Transfer Viability: The Role of Aging, Body Mass Index, and Harvest Site. *Plast Reconstr Surg.* 2014 Aug;134(2):227-32.

105. Yu G, Wu X, Dietrich MA, Polk P, Scott LK, Ptitsyn AA, Gimble JM. Yield and characterization of subcutaneous human adipose-derived stem cells by flow cytometric and adipogenic mRNA analyzes. *Cytotherapy*. 2010 Jul;12(4):538-46.
106. Moseley TA, Zhu M, Hedrick MH.
Adipose-Derived Stem and Progenitor Cells as Fillers in Plastic and Reconstructive Surgery: *Plast Reconstr Surg*. 2006 Sep;118(Suppl):121S-128S.
107. Alt EU, Senst C, Murthy SN, Slakey DP, Dupin CL, Chaffin AE, Kadowitz PJ, Izadpanah R. Aging alters tissue resident mesenchymal stem cell properties. *Stem Cell Res*. 2012 Mar;8(2):215-25.
108. Girolamo L de, Lopa S, Arrigoni E, Sartori MF, Baruffaldi Preis FW, Brini AT.
Human adipose-derived stem cells isolated from young and elderly women: their differentiation potential and scaffold interaction during in vitro osteoblastic differentiation. *Cytotherapy*. 2009 Jan;11(6):793-803.
109. Björntorp P, Karlsson M, Pettersson P, Sypniewska G.
Differentiation and function of rat adipocyte precursor cells in primary culture. *J Lipid Res*. 1980 Aug;21(6):714-23.
110. Djian P, Roncari AK, Hollenberg CH. I
Influence of anatomic site and age on the replication and differentiation of rat adipocyte precursors in culture. *J Clin Invest*. 1983 Oct 1;72(4):1200-8.
111. Madonna R, Renna FV, Cellini C, Cotellese R, Picardi N, Francomano F, Innocenti P, De Caterina R.
Age-dependent impairment of number and angiogenic potential of adipose tissue-derived progenitor cells: AGEING AND ADIPOSE TISSUE-DERIVED PROGENITOR CELLS. *Eur J Clin Invest*. 2011 Feb;41(2):126-33.
112. Zhu M, Kohan E, Bradley J, Hedrick M, Benhaim P, Zuk P.
The effect of age on osteogenic, adipogenic and proliferative potential of female adipose-derived stem cells. *J Tissue Eng Regen Med*. 2009 Jun;3(4):290-301.
113. Choudhery MS, Badowski M, Muise A, Pierce J, Harris DT.
Donor age negatively impacts adipose tissue-derived mesenchymal stem cell expansion and differentiation. *J Transl Med*. 2014 Dec;12(1):8.
114. van Tienen FHJ, van der Kallen CJH, Lindsey PJ, Wanders RJ, van Greevenbroek MM, Smeets HJM.
Preadipocytes of type 2 diabetes subjects display an intrinsic gene expression profile of decreased differentiation capacity. *Int J Obes*. 2011 Sep;35(9):1154-64.
115. Rennert, Robert C, Michael Sorkin, Michael Januszyk, Dominik Duscher, Revanth Kosaraju, Michael T Chung, James Lennon, et al.
« Diabetes Impairs the Angiogenic Potential of Adipose-Derived Stem Cells by Selectively Depleting Cellular Subpopulations ». *Stem Cell Research & Therapy* 5, n° 3 (septembre 2014): 79. <https://doi.org/10.1186/scrt468>.

- 116. Ferrer-Lorente R, Bejar MT, Tous M, Vilahur G, Badimon L.**
Systems biology approach to identify alterations in the stem cell reservoir of subcutaneous adipose tissue in a rat model of diabetes: effects on differentiation potential and function. *Diabetologia*. 2014 Jan;57(1):246-56.
- 117. Harris LJ, Zhang P, Abdollahi H, Tarola NA, DiMatteo C, McIlhenny SE, Tulenko TN, DiMuzio PJ.**
Availability of Adipose-Derived Stem Cells in Patients Undergoing Vascular Surgical Procedures. *J Surg Res*. 2010 Oct;163(2):e105-12.
- 118. Hussain MA, Al-Omran M, Mamdani M, Eisenberg N, Premji A, Saldanha L, Wang X, Verma S, Lindsay TF.**
Efficacy of a Guideline-Recommended Risk-Reduction Program to Improve Cardiovascular and Limb Outcomes in Patients With Peripheral Arterial Disease. *JAMA Surg*. 2016 Aug 1;151(8):742.
- 119. Al-Arifi MN, Maayah ZH, AlShamrani AA, Korashy HM.**
Impact of cigarette smoke exposure on the expression of cardiac hypertrophic genes, cytochrome P450 enzymes, and oxidative stress markers in rats. *J Toxicol Sci*. 2012;37(5):1083-90.
- 120. Ikegame Y, Yamashita K, Hayashi S-I, Mizuno H, Tawada M, You F, Yamada K, Tanaka Y, Egashira Y, Nakashima S, Yoshimura S-I, Iwama T.**
Comparison of mesenchymal stem cells from adipose tissue and bone marrow for ischemic stroke therapy. *Cytotherapy*. 2011 Jul;13(6):675-85.
- 121. Madonna R, Delli Pizzi S, Di Donato L, Mariotti A, Di Carlo L, D'Ugo E, Anna Teberino M, Merla A, Tartaro A, De Caterina R.**
Non-Invasive In Vivo Detection of Peripheral Limb Ischemia Improvement in the Rat After Adipose Tissue-Derived Stromal Cell Transplantation. *Circ J*. 2012;76(6):1517-25.
- 122. Wahl EA, Schenck TL, Machens H-G, Egaña JT.**
Acute stimulation of mesenchymal stem cells with cigarette smoke extract affects their migration, differentiation, and paracrine potential. *Sci Rep*. 2016 Mar 15;6:22957.
- 123. Barwinska D, Traktuev DO, Merfeld-Clauss S, Cook TG, Lu H, Petrache I, March KL.**
Cigarette Smoking Impairs Adipose Stromal Cell Vasculogenic Activity and Abrogates Potency to Ameliorate Ischemia. *Stem Cells*. 2018 Jun 1;36(6):856-67.
- 124. Oñate B, Vilahur G, Ferrer-Lorente R, Ybarra J, Díez-Caballero A, Ballesta-López C, Moscattiello F, Herrero J, Badimon L.**
The subcutaneous adipose tissue reservoir of functionally active stem cells is reduced in obese patients. *FASEB J*. 2012 Oct;26(10):4327-36.
- 125. Frazier TP, Gimble JM, Devay JW, Tucker HA, Chiu ES, Rowan BG.**
Body mass index affects proliferation and osteogenic differentiation of human subcutaneous adipose tissue-derived stem cells. *BMC Cell Biol*. 2013 Dec;14(1):34.

126. **Roldan M, Macias-Gonzalez M, Garcia R, Tinahones FJ, Martin M.**
Obesity short-circuits stemness gene network in human adipose multipotent stem cells. *FASEB J.* 2011 Dec;25(12):4111–26.
127. **Isakson P, Hammarstedt A, Gustafson B, Smith U.**
Impaired Preadipocyte Differentiation in Human Abdominal Obesity. *Diabetes.* 2009 Jul 1;58(7):1550–7.
128. **Pérez LM, Bernal A, de Lucas B, San Martin N, Mastrangelo A, García A, Barbas C, Gálvez BG.**
Altered Metabolic and Stemness Capacity of Adipose Tissue–Derived Stem Cells from Obese Mouse and Human. Engler AJ, editor. *PLOS ONE.* 2015 Apr 13;10(4):e0123397.
129. **Pérez LM, Bernal A, San Martín N, Gálvez BG.**
Obese–derived ASCs show impaired migration and angiogenesis properties. *Arch Physiol Biochem.* 2013 Dec;119(5):195–201.
130. **Pérez LM, Bernal A, San Martín N, Lorenzo M, Fernández–Veledo S, Gálvez BG.**
Metabolic Rescue of Obese Adipose–Derived Stem Cells by Lin28/ *Let7* Pathway. *Diabetes.* 2013 Jul 1;62(7):2368–79.
131. **Tang X, Guilherme A, Chakladar A, Powelka AM, Konda S, Virbasius JV, Nicoloso SMC, Straubhaar J, Czech MP.**
An RNA interference–based screen identifies MAP4K4/NIK as a negative regulator of PPAR α , adipogenesis, and insulin–responsive hexose transport. :6.
132. **Moschen AR, Molnar C, Geiger S, Graziadei I, Ebenbichler CF, Weiss H, Kaser S, Kaser A, Tilg H.**
Anti–inflammatory effects of excessive weight loss: potent suppression of adipose interleukin 6 and tumour necrosis factor expression. *Gut.* 2010 Sep 1;59(9):1259–64.
133. **Mitterberger MC, Mattesich M, Zwerschke W.**
Bariatric surgery and diet–induced long–term caloric restriction protect subcutaneous adipose–derived stromal/progenitor cells and prolong their life span in formerly obese humans. *Exp Gerontol.* 2014 Aug;56:106–13.
134. **Baptista LS, da Silva KR, da Pedrosa CSG, Claudio–da–Silva C, Carneiro JRI, Aniceto M, de Mello–Coelho V, Takiya CM, Rossi MID, Borojevic R.**
Adipose Tissue of Control and Ex–Obese Patients Exhibit Differences in Blood Vessel Content and Resident Mesenchymal Stem Cell Population. *Obes Surg.* 2009 Sep;19(9):1304–12.
135. **Mojallal A, Lequeux C, Shipkov C, Duclos A, Braye F, Rohrich R, Brown S, Damour O.**
Influence of Age and Body Mass Index on the Yield and Proliferation Capacity of Adipose–Derived Stem Cells. *Aesthetic Plast Surg.* 2011 Dec;35(6):1097–105.
136. **Yu G, Wu X, Dietrich MA, Polk P, Scott LK, Ptitsyn AA, Gimble JM.**
Yield and characterization of subcutaneous human adipose–derived stem cells by flow cytometric and adipogenic mRNA analyzes. *Cytherapy.* 2010 Jul;12(4):538–46.

- 137. Faustini M, Bucco M, Chlapanidas T, Lucconi G, Marazzi M, Tosca MC, Gaetani P, Klinger 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.
- 138. Kim Y-J, Jeong J-H.**
Clinical Application of Adipose Stem Cells in Plastic Surgery. *J Korean Med Sci*. 2014;29(4):462.
- 139. Jessica F. Almine, Steven G. Wise, Anthony S. Weiss.**
Elastin signaling in wound repair – Almine – 2012 – *Birth Defects Research Part C: Embryo Today: Reviews* – Wiley Online Library ». Consulté le 4 février 2022.
<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/bdrc.21016>.
- 140. Zahorec P, Sarkozyova N, Ferancikova N, Bukovcan P, Danisovic L, Bohac M, Tomas M, Koller J.**
Autologous mesenchymal stem cells application in post-burn scars treatment: a preliminary study. *Cell Tissue Bank*. 2021 Mar;22(1):39-46.
- 141. Duscher D, Shiffman MA, editors.**
Regenerative Medicine and Plastic Surgery: Skin and Soft Tissue, Bone, Cartilage, Muscle, Tendon and Nerves [Internet]. Cham: Springer International Publishing; 2019 [cited 2022 Jan 29]. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/978-3-030-19962-3>
- 142. In Sik Yun, Yeo Reum Jeon, Won Jai Lee ,**
Effect of Human Adipose Derived Stem Cells on Scar Formation and Remodeling in a Pig Model: A Pilot Study – Yun – 2012 – *Dermatologic Surgery* – Wiley Online Library [Internet]. [cited 2022 Feb 7]. Available from:
<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1524-4725.2012.02495.x>
- 143. Zahorec P, Sarkozyova N, Ferancikova N, Bukovcan P, Danisovic L, Bohac M, Tomas M, Koller J.**
Autologous mesenchymal stem cells application in post-burn scars treatment: a preliminary study. *Cell Tissue Bank*. 2021 Mar;22(1):39-46.
- 144. Sadanori Akita, Kozo Akino, Akiyoshi Hirano, Akira Ohtsuru,**
and Shunichi Yamashita. Noncultured Autologous Adipose-Derived Stem Cells Therapy for Chronic Radiation Injury [Internet]. [cited 2022 Feb 7]. Available from:
<https://www.hindawi.com/journals/sci/2010/532704/>
- 145. S. Akita, H. Yoshimoto, A. Ohtsuru, A. Hirano, S. Yamashita.**
Autologous adipose-derived regenerative cells are effective for chronic intractable radiation injuries | *Radiation Protection Dosimetry* | Oxford Academic [Internet]. [cited 2022 Feb 7]. Available from: <https://academic.oup.com/rpd/article-abstract/151/4/656/1628606>

146. **Kølle S-FT, Fischer-Nielsen A, Mathiasen AB, Elberg JJ, Oliveri RS, Glovinski PV, Kastrup J, Kirchhoff M, Rasmussen BS, Talman M-LM, Thomsen C, Dickmeiss E, Drzewiecki KT.**
Enrichment of autologous fat grafts with ex-vivo expanded adipose tissue-derived stem cells for graft survival: a randomised placebo-controlled trial. *The Lancet*. 2013 Sep 28;382(9898):1113-20.
147. **Koh KS, Oh TS, Kim H, Chung IW, Lee KW, Lee HB, Park EJ, Jung JS, Shin IS, Ra JC, Choi JW.**
Clinical Application of Human Adipose Tissue-Derived Mesenchymal Stem Cells in Progressive Hemifacial Atrophy (Parry-Romberg Disease) With Microfat Grafting Techniques Using 3-Dimensional Computed Tomography and 3-Dimensional Camera. *Ann Plast Surg*. 2012 Sep;69(3):331-7.
148. **Sterodimas A, de Faria J, Nicaretta B, Pitanguy I.**
Tissue engineering with adipose-derived stem cells (ADSCs): Current and future applications. *J Plast Reconstr Aesthet Surg*. 2010 Nov;63(11):1886-92.
149. **Park B-S, Jang KA, Sung J-H, Park J-S, Kwon YH, Kim KJ, Kim W-S.**
Adipose-Derived Stem Cells and Their Secretory Factors as a Promising Therapy for Skin Aging: ADIPOSE-DERIVED STEM CELLS AND THEIR SECRETORY FACTORS. *Dermatol Surg*. 2008 Jul 4;34(10):1323-6.
150. **Fukuoka H, Narita K, Suga H.**
Hair Regeneration Therapy: Application of Adipose-Derived Stem Cells. *Curr Stem Cell Res Ther* [Internet]. 2017 Sep 19 [cited 2022 Jan 26];12(7). Available from: <http://www.eurekaselect.com/152619/article>
151. **Van Pham P, Hong-Thien Bui K, Quoc Ngo D, Tan Khuat L, Kim Phan N.**
Transplantation of Nonexpanded Adipose Stromal Vascular Fraction and Platelet-Rich Plasma for Articular Cartilage Injury Treatment in Mice Model. *J Med Eng*. 2013 Jan 16;2013:1-7.
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. **Aboulhoda BE, Abd el Fattah S.**
Bone marrow-derived versus adipose-derived stem cells in wound healing: value and route of administration. *Cell Tissue Res*. 2018 Nov;374(2):285-302.
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. Cai Y, Li J, Jia C, He Y, Deng C.**
Therapeutic applications of adipose cell-free derivatives: a review. *Stem Cell Res Ther.* 2020 Dec;11(1):312.
- 158. Hong KY, Kim I-K, Park SO, Jin US, Chang H.**
Systemic Administration of Adipose-Derived Stromal Cells Concurrent with Fat Grafting: *Plast Reconstr Surg.* 2019 May;143(5):973e-82e.
- 159. Yao D, Ye S, He Z, Huang Y, Deng J, Wen Z, Chen X, Li H, Han Q, Deng H, Zhao RC, Lu C.**
Adipose-derived mesenchymal stem cells (AD-MSCs) in the treatment for psoriasis: results of a single-arm pilot trial. *Ann Transl Med.* 2021 Nov;9(22):1653.

أَقْسِمُ بِاللَّهِ الْعَظِيمِ

أُنَارُ اقْبَالَ لَهْفِي هُنْتِي.

وَأُنَا صُونُ حَيَاةِ الْإِنْسَانِ فِي كَأْفَةِ أَطْوَارِهَا فِي كِلَالِ الظَّرُوفِ
وَالْأَحْوَالِ الْبَاذِلَةِ وَسُعُيفِيَانِ قَذَاهَا مِنْ الْهَلَاكِ وَالْمَرَضِ

وَالْأَمْوَالِ الْقَلْقِ.

وَأَنَا حَفْظُ النَّاسِ كَرَامَتِهِمْ، وَأَسْتُرُ عَوْرَتَهُمْ، وَأَكْتَمُ سِرَّهُمْ.

وَأَنَا كَوْنُ عَلِيٍّ دَوَامِنُ سَائِلِ رَحْمَةِ اللَّهِ، بِإِذْنِهِ

رِعَايَتِي الطَّبِيبِيَّةَ لِلْقَرِيبِ وَالْبَعِيدِ، لِلصَّالِحِ وَالطَّالِحِ، وَالصَّدِيقِ وَالْعَدُوِّ.

وَأَنَا ثَابِرٌ عَلَى طَلِبِ الْعِلْمِ، وَأَسْخَرُ هُنْفَعِي الْإِنْسَانَ لِأَذَاهِ.

وَأَنَا وَقَرٌّ مَنْعَلَمَنِي، وَأُعَلِّمُ نِيصُغْرَنِي، وَأَكُونُ أَخْتَا

لِكُلِّ مِثْلِي فِي الْمِهْنَةِ الطَّبَّيَّةِ مُتَعَاوِنِينَ عَلَيَّ بِالْبِرِّ وَالتَّقْوَى.

وَأَنْتَ كَوْنُ حَيَاتِي مِصْدَقًا يَمَانِي فَيَسِّرِي وَيُعَلِّمُنِي، نَقِيَّةً مِمَّا يُشِينُهَا تَجَاهَ

اللَّهُورِ سَوْلِهِوَالْمُؤْمِنِينَ.

وَاللَّهُ عَلِيمًا أَقْوَلَ شَهِيدًا

الخلايا الجذعية المستخلصة من الدهون: العزل و الدواعي الاستشفائية في جراحة التجميل

الأطروحة

قدمت ونوقشت علانية يوم 2022/02/14

من طرف

السيدة خولة البزي

المزودة في 22 دجنبر 1994 باسفي

لنيل شهادة الدكتوراه في الطب

الكلمات الأساسية:

الخلايا الجذعية - الدهون - عزل - تجديد الانسجة

اللجنة

الرئيس

س.أمال

السيد

استاذ في طب أمراض الجلد

المشرف

ي.بنشمخة

السيد

استاذ في جراحة التجميل والترميم

أ.بلبشير

السيد

أستاذ في التشريح المرضي

الحكام

م. ا. العمراني

السيد

أستاذ في التشريح

أ.بنهيمه

السيد

أستاذ في جراحة العظام