

**UNIVERSITÉ TOULOUSE III – PAUL SABATIER
FACULTÉ DE CHIRURGIE DENTAIRE**

Année 2016

N° 2016-TOU3-3023

THÈSE

POUR LE DIPLÔME D'ÉTAT DE DOCTEUR EN CHIRURGIE DENTAIRE
Présentée et soutenue publiquement
Par

Stéphan Fabre

Le 04/04/2016

**REGENERATION PARODONTALE PAR CELLULES
STROMALES MESENCHYMATEUSES DU TISSU ADIPEUX :
FACTEURS LIES AU DONNEUR**

Directeur de thèse : Dr Paul Monsarrat

JURY

Président :

1^{er} assesseur :

2^{ème} assesseur :

3^{ème} assesseur :

4^{ème} assesseur :

Professeur Philippe KEMOUN

Professeur Michel SIXOU

Docteur Jean-Noël VERGNES

Docteur Paul MONSARRAT

Docteur Mathieu LEMAITRE





Faculté de Chirurgie Dentaire



➔ DIRECTION

DOYEN

Mr Philippe POMAR

ASSESEUR DU DOYEN

Mme Sabine JONNIOT

CHARGÉS DE MISSION

Mr Karim NASR

Mme Emmanuelle NOIRRIT-ESCLASSAN

PRÉSIDENTE DU COMITÉ SCIENTIFIQUE

Mme Anne-Marie GRIMOUD

RESPONSABLE ADMINISTRATIF

Mme Marie-Christine MORICE

➔ HONORARIAT

DOYENS HONORAIRES

Mr Jean LAGARRIGUE +

Mr Jean-Philippe LODTER

Mr Gérard PALOUDIER

Mr Michel SIXOU

Mr Henri SOULET

➔ ÉMÉRITAT

Mme Geneviève GRÉGOIRE

Mr Gérard PALOUDIER

➔ PERSONNEL ENSEIGNANT

56.01 PÉDODONTIE

Chef de la sous-section :

Professeur d'Université :

Maîtres de Conférences :

Assistants :

Adjoints d'Enseignement :

Mme BAILLEUL-FORESTIER

Mme BAILLEUL-FORESTIER, Mr VAYSSE

Mme NOIRRIT-ESCLASSAN

Mme DARIES, Mr MARTY

Mr DOMINÉ

56.02 ORTHOPÉDIE DENTO-FACIALE

Chef de la sous-section :

Maîtres de Conférences :

Assistants :

Assistant Associé

Adjoints d'Enseignement :

Mr BARON

Mr BARON, Mme LODTER, Mme MARCHAL-SIXOU, Mr ROTENBERG,

Mme GABAY-FARUCH, Mme YAN-VERGNES

Mr TOURÉ

Mme MECHRAOUI, Mr MIQUEL

56.03 PRÉVENTION, ÉPIDÉMIOLOGIE, ÉCONOMIE DE LA SANTÉ, ODONTOLOGIE LÉGALE

Chef de la sous-section :

Professeur d'Université :

Maître de Conférences :

Assistant :

Adjoints d'Enseignement :

Mr HAMEL

Mme NABET, Mr PALOUDIER, Mr SIXOU

Mr HAMEL, Mr VERGNES

Mlle BARON

Mr DURAND, Mr PARAYRE

57.01 PARODONTOLOGIE**Chef de la sous-section :** **Mr BARTHET**

Maîtres de Conférences : Mr BARTHET, Mme DALICIEUX-LAURENCIN

Assistants : Mr RIMBERT, Mme VINEL

Adjoints d'Enseignement : Mr CALVO, Mr LAFFORGUE, Mr SANCIER

57.02 CHIRURGIE BUCCALE, PATHOLOGIE ET THÉRAPEUTIQUE, ANESTHÉSIOLOGIE ET RÉANIMATION**Chef de la sous-section :** **Mr COURTOIS**

Professeur d'Université : Mr DURAN

Maîtres de Conférences : Mr CAMPAN, Mr COURTOIS, Mme COUSTY

Assistants : Mme CROS, Mr EL KESRI, Mme GAROBY-SALOM

Adjoints d'Enseignement : Mr FAUXPOINT, Mr L'HOMME, Mme LABADIE

57.03 SCIENCES BIOLOGIQUES (BIOCHIMIE, IMMUNOLOGIE, HISTOLOGIE, EMBRYOLOGIE, GÉNÉTIQUE, ANATOMIE PATHOLOGIQUE, BACTÉRIOLOGIE, PHARMACOLOGIE**Chef de la sous-section :** **Mr POULET**

Professeurs d'Université : Mr KEMOUN

Maîtres de Conférences : Mme GRIMOUD, Mr POULET

Assistants : Mr BARRAGUÉ, Mme DUBOSC, Mr LEMAITRE,

Adjoints d'Enseignement : Mr BLASCO-BAQUE, Mr SIGNAT, Mme VALERA, Mr BARRE

58.01 ODONTOLOGIE CONSERVATRICE, ENDODONTIE**Chef de la sous-section :** **Mr DIEMER**

Professeurs d'Université : Mr DIEMER

Maîtres de Conférences : Mr GUIGNES, Mme GURGEL-GEORGELIN, Mme MARET-COMTESSE

Assistants : Mr BONIN, Mr BUORO, Mme DUEYMES, Mme. RAPP, Mr. MOURLAN

Assistant Associé : Mr HAMDAN

Adjoints d'Enseignement : Mr BALGUERIE, Mr ELBEZE, Mr MALLET

58.02 PROTHÈSES (PROTHÈSE CONJOINTE, PROTHÈSE ADJOINTE PARTIELLE, PROTHÈSE COMPLÈTE, PROTHÈSE MAXILLO-FACIALE)**Chef de la sous-section :** **Mr CHAMPION**

Professeurs d'Université : Mr ARMAND, Mr POMAR

Maîtres de Conférences : Mr BLANDIN, Mr CHAMPION, Mr ESCLASSAN, Mme VIGARIOS

Assistants : Mr. CHABRERON, Mr. GALIBOURG, Mr. KNAFO, Mme. SELVA, Mme. ROSCA

Adjoints d'Enseignement : Mr. BOGHANIM, Mr. .DESTRUHAUT, Mr. FLORENTIN, Mr. FOLCH, Mr. GHRENASSIA, Mme. LACOSTE-FERRE, Mr. POGÉANT, Mr. RAYNALDY, Mr. GINESTE

58.03 SCIENCES ANATOMIQUES ET PHYSIOLOGIQUES, OCCLUSODONTIQUES, BIOMATÉRIAUX, BIOPHYSIQUE, RADIOLOGIE**Chef de la sous-section :** **Mme JONJOT**

Professeur d'Université : Mme GRÉGOIRE

Maîtres de Conférences : Mme JONJOT, Mr NASR

Assistants : Mr CANIVET, Mme GARNIER, Mr MONSARRAT

Adjoints d'Enseignement : Mr AHMED, Mme BAYLE-DELANNÉE, Mr ETIENNE, Mme MAGNE, Mr TREIL, Mr VERGÉ

*L'université Paul Sabatier déclare n'être pas responsable des opinions émises par les candidats.
(Délibération en date du 12 Mai 1891).*

Mise à jour au 01 MARS 2016

A notre président du jury,

Monsieur le Professeur KEMOUN Philippe

*Professeur des Universités, Praticien Hospitalier en Odontologie,
Lauréat de l'Université Paul Sabatier.*

*Vous nous avez fait l'honneur d'accepter la présidence du jury
de cette thèse. Je vous remercie de l'intérêt que vous avez
porté à ce travail. Soyez assuré de mon profond respect et de
ma sincère reconnaissance.*

A notre jury de thèse,

Monsieur le Professeur Michel SIXOU

*Professeur des Universités, Praticien Hospitalier d'Odontologie,
Doyen honoraire de la Faculté de Chirurgie Dentaire de Toulouse,
Docteur en Chirurgie Dentaire,
Docteur de l'Université Paul Sabatier,
Habilitation à Diriger des Recherches (H.D.R.),
Ancien Vice-Président Délégué à l'Université Paul Sabatier,
Lauréat de l'Université Paul Sabatier.*

Vous nous faites l'honneur de votre présence dans ce jury de thèse. Nous vous remercions de l'intérêt que vous avez porté à ce travail. Soyez assuré de notre profond respect et de notre gratitude.

A notre jury de thèse,

Monsieur le Docteur Jean-Noël VERGNES

*Maître de Conférences des Universités, Praticien Hospitalier d'Odontologie,
Docteur en Epidémiologie,
Docteur en Chirurgie Dentaire,
Professeur associé, Oral Health and Society Division, Université McGill -
Montréal, Québec – Canada,
Maîtrise de Sciences Biologiques et Médicales,
Master2 Recherche – Epidémiologie clinique,
Diplôme d'Université de Recherche Clinique Odontologique,
Lauréat de l'Université Paul Sabatier.*

*Nous vous remercions d'avoir accepté de siéger à notre jury de
thèse. Nous vous remercions pour votre disponibilité et la
pédagogie dont vous faites preuve en clinique. Soyez assuré
de ma reconnaissance.*

A notre directeur de thèse,

Monsieur le Docteur Paul MONSARRAT

*Assistant Hospitalo-Universitaire d'Odontologie,
Docteur en Chirurgie Dentaire,
Master 1 Recherche : Biosanté,
Master 1 Recherche : Méthodes d'Analyse et de Gestion en Santé Publique,
Master 2 Recherche : mention : Biologie, santé ; spécialité : Physiopathologie,
Lauréat de la faculté de Médecine Ranguel et de Chirurgie-Dentaire de
l'Université Paul Sabatier,
Diplôme Universitaire d'Imagerie 3D maxillo-faciale.*

Vous nous avez fait l'honneur de diriger cette thèse. Je vous remercie de m'avoir initié à la recherche, de votre disponibilité, votre bonne humeur, et pour toute l'aide apporté dans la rédaction de ce travail. Soyez assuré de mon profond respect et de ma reconnaissance.

A notre jury de thèse,

Monsieur le Docteur Mathieu LEMAITRE

*Assistant Hospitalo-Universitaire d'Odontologie,
Docteur en Chirurgie Dentaire,
Master 1 Recherche : Biosanté,
Master 2 Recherche : mention : Biologie, santé ; spécialité : Physiopathologie.*

*Vous nous faites l'honneur de prendre part au jury de cette
thèse. Nous vous remercions pour l'intérêt que vous avez porté
à ce travail.*

Table des matières

Introduction.....	11
I – CSM et régénération	13
<i>I.1 Médecine régénérative et biothérapies.....</i>	<i>13</i>
<i>I.2 Les « cellules souches ».....</i>	<i>16</i>
<i>I.3 « Cellules souches » et essais cliniques</i>	<i>18</i>
<i>I.4 Utilisation des CSM issues du tissu adipeux, les ASC</i>	<i>20</i>
II - La régénération parodontale.....	25
<i>II. 1 Définitions</i>	<i>25</i>
<i>II.2 Le parodonte profond pathologique.....</i>	<i>27</i>
<i>II.3 Limites des traitements parodontaux.....</i>	<i>29</i>
<i>II.4 Thérapie parodontale : l'apport des CSM/ASC.....</i>	<i>30</i>
III - Analyse de la littérature.....	33
III.1 Matériels et méthodes	33
III.2 Résultats et discussion.....	33
<i>III.2.1 Moyens d'obtention, de production, de conservation et d'optimisation</i>	<i>33</i>
<i>III.2.2 Utilisation</i>	<i>41</i>
<i>III.2.3 Influences du donneur sur les ASC</i>	<i>45</i>
Conclusion.....	53
Bibliographie.....	56

Introduction

Cette dernière décennie a connu un intérêt grandissant pour les cellules « souches », qui sont en train de nous faire entrer dans une nouvelle ère – celle de la médecine régénérative.

Cette dernière propose de nouveaux traitements lorsque les thérapeutiques classiques ne permettent pas une prise en charge efficiente du patient.

Les domaines d'applications sont multiples que ce soit en cardiologie, endocrinologie, neurologie ; mais aussi en odontologie où les traitements permettraient de régénérer le système pulpaire, de traiter les conséquences de la maladie parodontale, ou même d'être employés en reconstructions osseuses pré-implantaires. Alors que les cellules embryonnaires posent de nombreuses questions éthiques, scientifiques et techniques, les cellules stromales mésenchymateuses (CSM) représentent une alternative pleine de promesses. Bien que ces cellules soient capables de se différencier en plusieurs types cellulaires, leur potentiel thérapeutique réside essentiellement en leur activité de sécrétion de facteurs trophiques.

Parmi ces CSM, les cellules originaires du tissu adipeux (ASC) ont particulièrement retenu notre attention du fait de l'ergonomie associée à leur prélèvement, par rapport aux cellules de la moelle osseuse. Alors que ces cellules ont déjà fait l'objet d'essais cliniques randomisés chez l'Homme, de nombreuses questions subsistent. Parmi elles, nous pouvons citer l'influence des paramètres physiopathologiques sur les caractéristiques des ASC, l'utilisation autologue ou allogénique, la cryopréservation...

De premières données chez la souris où les lésions parodontales ont été générées par gavage oral de bactéries parodonto-pathogènes (modèle physiopathologiquement plus proche de l'Homme que les modèles habituellement utilisés dans la littérature), nous encourageons fortement à effectuer une translation en clinique. Cet aspect translationnel implique donc de connaître les paramètres qui pourraient influencer sur le devenir et le comportement des ASCs in situ.

Après avoir mis en exergue des éléments sur la médecine régénérative et les ASC, puis sur la régénération parodontale, nous exposerons les résultats d'une évaluation systématique de la littérature réalisée sur résumés à partir de Pubmed. Cette évaluation avait pour objectif de déterminer les facteurs qui pourraient influencer la réponse régénérative lors d'une thérapeutique parodontale par ASC, en considérant les facteurs venant du donneur.

I – CSM et régénération

I.1 Médecine régénérative et biothérapies

La médecine régénérative est en plein essor grâce aux progrès effectués dans le domaine des biothérapies. Les biothérapies représentent l'ensemble des thérapies cellulaires, tissulaires ou géniques qui utilisent soit des organismes vivants (cellulaire, tissulaire, génique) soit des substances prélevées à partir d'organismes vivants. On distingue les préparations de thérapie cellulaire, des médicaments de thérapie innovante (MTI) et des médicaments de thérapie innovante préparés ponctuellement (MTI-PP). Chaque stratégie thérapeutique relève d'un cadre réglementaire spécifique au niveau national ou Européen (1,2).

Les préparations de thérapie cellulaire sont des produits cellulaires ou tissulaires à finalité thérapeutique et soumis à des modifications non substantielles (c'est-à-dire qui ne modifient pas les propriétés biologiques, ou lorsque l'utilisation n'est pas différente de la fonction initiale). Les MTI représentent l'ensemble des médicaments de thérapie génique, de thérapie cellulaire somatique issu de l'ingénierie cellulaire et tissulaire, et les médicaments combinés de thérapies innovantes (qui associent un MTI avec un dispositif médical). Les cellules y subissent des modifications substantielles. Les MTI-PP sont préparés ponctuellement au sein d'un même établissement pour un patient donné. Dans ce contexte, les CSM utilisées pour la régénération sont considérés comme des MTI si leur utilisation est allogène, pour une application à grande échelle, ou comme des MTI-PP pour une utilisation autologue (1,2).

La médecine régénérative est une discipline qui combine différents aspects de la médecine : la biologie cellulaire, la biologie moléculaire, les biomatériaux et la bio-ingénierie dans le but de régénérer, réparer ou remplacer des tissus (3). L'ingénierie tissulaire a pour objet de développer *in vitro* des substituts biologiques permettant, par l'utilisation d'une source cellulaire adaptée, d'un biomatériau porteur et de molécules bioactives, de restaurer,

maintenir ou améliorer les fonctions des tissus endommagés (4). Afin de créer un tissu équivalent, le plus proche possible du tissu originel, les cellules sont isolées et amplifiées *in vitro*, parfois préalablement différenciées. Elles sont introduites dans un biomatériau support, avec addition possible de facteurs biochimiques et/ou biologique. Enfin ce substitut est greffé chez le patient (Figure 1). Les biomatériaux sont d'origines variées, peuvent être par exemple à base d'alginate, de collagène ou de phosphates de calcium. Enfin, les facteurs de croissance peuvent être ajoutés en fonction de l'objectif thérapeutique, comme la *bone morphogenetic protein-2* lorsque le but est de synthétiser de l'os (5). Mais ces facteurs de croissance posent problème en termes de justification pour les autorités réglementaires, surtout dans le cas des pathologies à faible mortalité/morbidité.

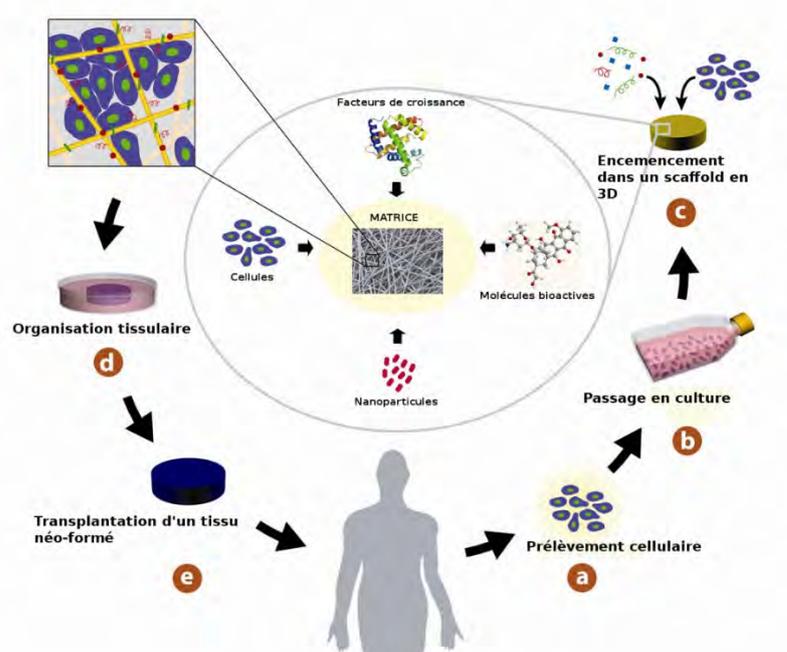


Figure 1 : un modèle de néoformation tissulaire par ingénierie tissulaire.

La constituante cellulaire, qui nous intéresse particulièrement dans le cadre de ce travail, peut provenir de plusieurs origines : autologue, allogène, ou xénogène (1,2). Les avantages et les inconvénients sont exposés dans la figure suivante (Figure 2).

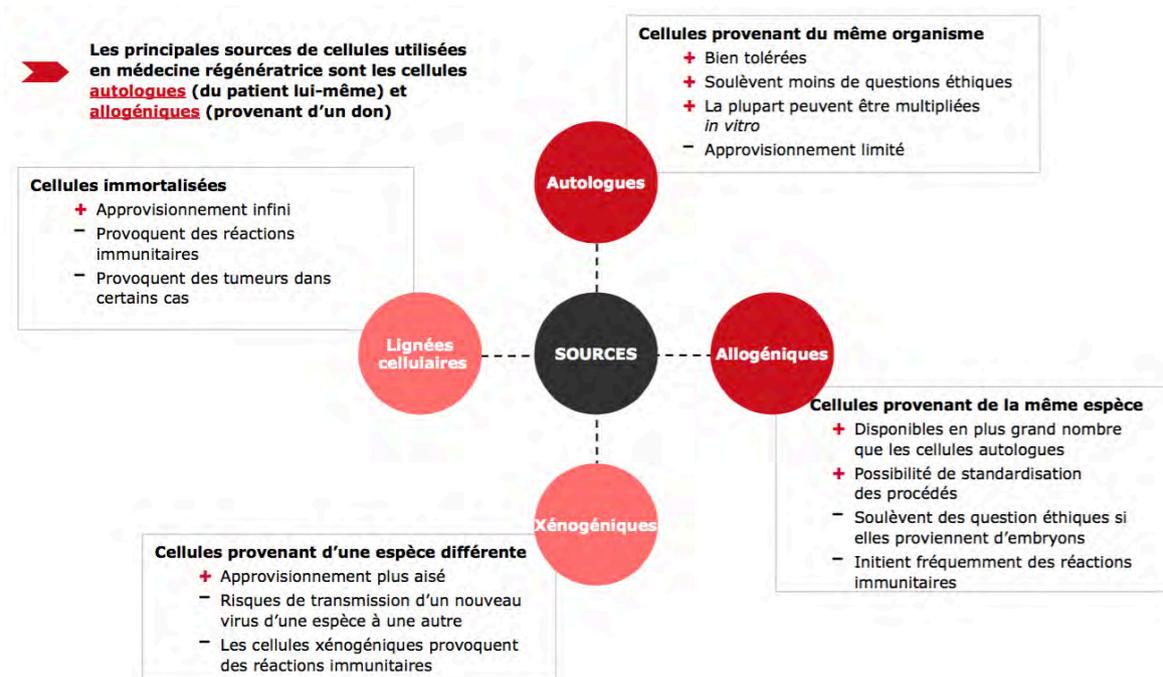


Figure 2 : les principales sources cellulaires en médecine régénératrice (6).

La médecine régénératrice trouve son application dans toutes les spécialités médicales. Des perspectives de traitement émergent, entre autre, en cancérologie (pour les cancers du sein, du poumon, de la prostate, etc.), en cardiologie (pour l'infarctus du myocarde, pour l'insuffisance cardiaque), en neurologie (pour Alzheimer, pour Parkinson, ainsi que pour d'autres pathologies neurodégénératives), en ophtalmologie (pour la dégénérescence maculaire, pour le glaucome, etc.), pour les maladies auto-immunes (diabète, lupus, polyarthrite rhumatoïde, etc.) et pour les troubles musculo-squelettiques (arthrose, dystrophies musculaires, etc.) (7). Avec le vieillissement de la population et l'augmentation des pathologies chroniques, les dépenses de santé pèsent lourd sur nos budgets (Figure 3). Le développement de ces nouvelles thérapies permettrait d'optimiser l'action des thérapeutiques actuelles et le maintien des résultats sur un plus long terme. Des économies directes et surtout indirectes sont à attendre bien que les « coûts préliminaires » de ces thérapeutiques puissent paraître élevés. Selon l'Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale, le coût d'un médicament de thérapie cellulaire est estimé entre 10000 et 20000 euros (8) .

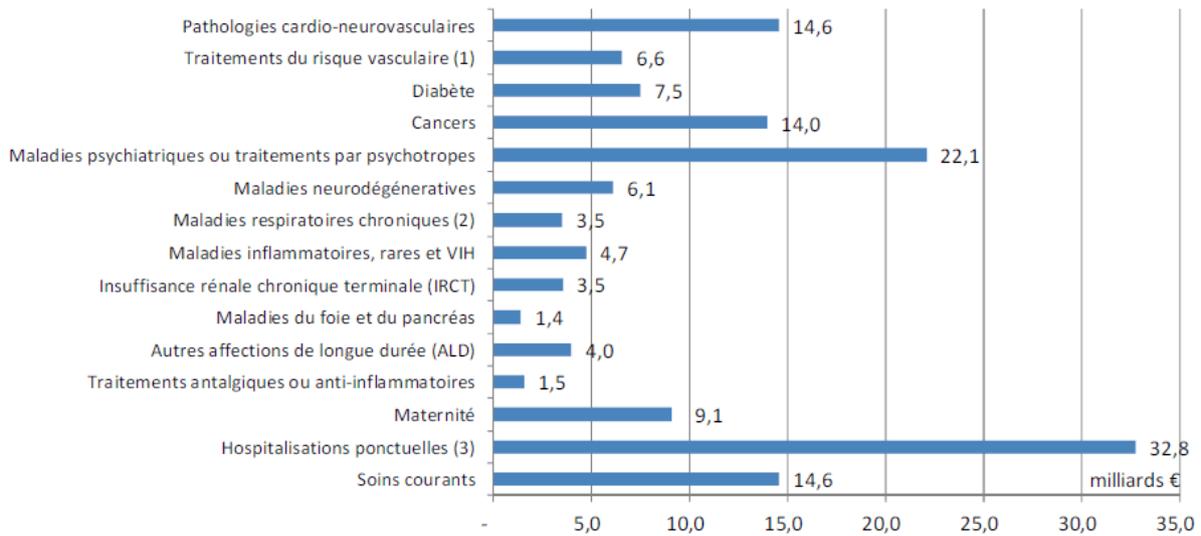


Figure 3 : Impact des coûts sur la santé, par catégorie de dépense (9).

I.2 Les « cellules souches »

Le terme de « cellules souches » regroupe de nombreuses cellules aux propriétés et phénotypes bien différents. On oppose généralement les cellules souches embryonnaires ou fœtales, à celles des dérivés placentaires (amniotique ou chorionique) et enfin à celles de l'adulte.

Toutes ces cellules présentent plusieurs stades de différenciation.

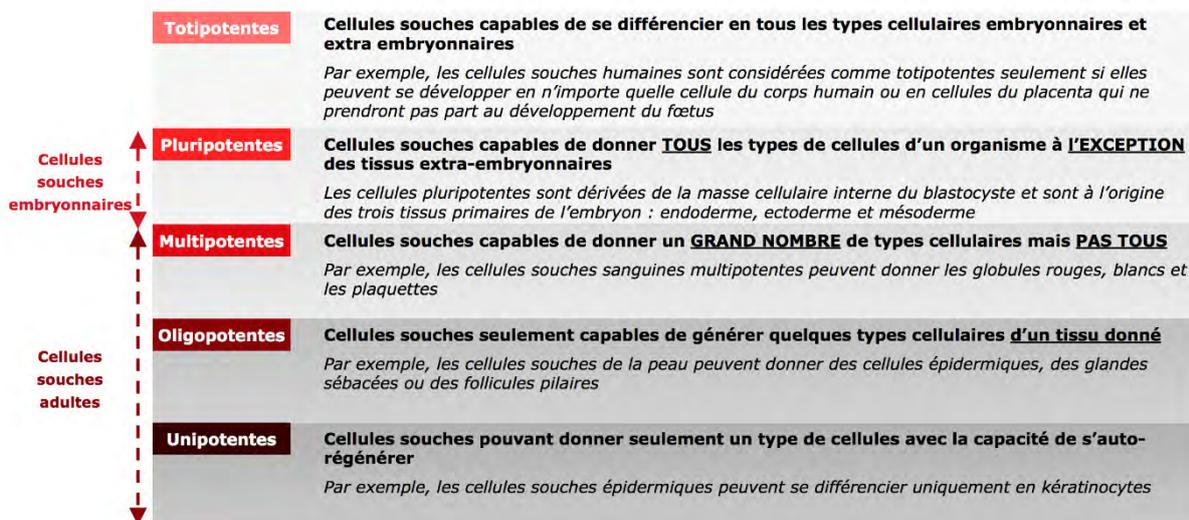


Figure 4 : les différents stades de différenciation des cellules souches (6).

Les cellules embryonnaires et fœtales

Les cellules souches embryonnaires sont présentes dès les premiers stades du développement et dérivent de la masse interne du blastocyste (de 16 à 64 cellules). Elles sont totipotentes, c'est-à-dire capables de donner toutes les structures des tissus embryonnaires et extra-embryonnaires. Ces cellules vont se spécialiser afin de constituer les trois feuillets embryonnaires : l'ectoderme, le mésoderme et l'endoderme (10). A partir de ce stade, les cellules deviennent pluripotentes, elles se différencient en conservant le type cellulaire du feuillet duquel elles sont issues. Ces dernières sont présentes chez l'embryon jusqu'au deuxième mois et chez le fœtus du quatrième jusqu'au neuvième mois (8,10,11) .

L'usage de ces cellules embryonnaires est controversé pour des raisons éthiques et/ou religieuses. Leur utilisation pour la recherche clinique en France est soumise à de nombreuses réglementations (12). Les iPS, cellules souches pluripotentes issues de la dédifférenciation de cellules différenciées, peuvent être également citées car elles offrent des opportunités incroyables dans l'obtention de modèles cellulaires de pathologies rares (13).

Les cellules souches adultes

Avec le développement de l'embryon, les cellules souches embryonnaires pluripotentes laissent place à des cellules aux capacités de plus en plus restreintes qui donneront naissance aux différents tissus et organes. Une fois l'organogénèse terminée, ces derniers ont recours à un mécanisme permettant de maintenir leur homéostasie. C'est le rôle des cellules souches adultes. Elles sont dans tous les tissus, sont capables de s'auto-renouveler et de se différencier en plusieurs types cellulaires assurant ainsi le renouvellement du pool cellulaire et la cicatrisation tout au long de la vie de l'individu (14).

Ces cellules sont multipotentes *in vivo* et peuvent se différencier en différents phénotypes provenant du même feuillet embryonnaire. Au cours de leur différenciation, elles perdent leur

potentiel (15). Les cellules progénitrices sont en cours de différenciation pour atteindre le rôle de cellules spécialisées et d'assurer leurs fonctions au sein des organismes. On dénombre plus de deux cents types de cellules spécialisées (16).

Parmi les cellules souches adultes, les cellules souches hématopoïétiques sont les premières à avoir été identifiées par McCulloch et Till en 1960. Ce sont les précurseurs de l'utilisation clinique des cellules souches, utilisées notamment pour les greffes de moelle osseuse (17). Dans la moelle osseuse, se trouve aussi une fraction stromale adhérente, capable d'auto-renouveau et de différenciation, les BM-MSK – *bone marrow mesenchymal stem cell* (18). Ces cellules sont actuellement les plus utilisées dans les essais cliniques de médecine régénérative et font l'objet de nombreux essais cliniques (19). A partir de cette découverte, le concept de cellules stromales mésenchymateuses a été étendu : ces cellules sont retrouvées dans tous les tissus après la naissance (20).

Les cellules stromales mésenchymateuses qui résident dans le tissu adipeux (ASC) nous intéressent plus particulièrement de par l'ergonomie de prélèvement, la faible morbidité liée au prélèvement et leurs propriétés uniques que nous évoquerons par la suite (21). Ces ASC représentent une source idéale pour développer un MTI ou un MTI-PP pour la thérapie parodontale.

Il existe enfin d'autres cellules progénitrices qui sont présentes dans les tissus dérivés de l'ectoderme (épiderme, cornée, système nerveux, etc.) et de l'endoderme (le foie, l'intestin etc.) (10,20,22,23).

I.3 « Cellules souches » et essais cliniques

Le schéma ci-dessous (Figure 5) regroupe les essais cliniques chez l'homme enregistrés dans le registre des essais cliniques : ClinicalTrials.gov (24). Comme la partie droite de ce schéma le montre, les cellules y sont classées en quatre catégories : les CSM et leurs fractions hétérogènes respectives, les CS hématopoïétiques (EPC, PBSC, CD34+, CD133+)

et les autres types de CS et de progéniteurs. Le schéma démontre que chaque type cellulaire fait l'objet d'études pour de nombreux types de pathologies. Il n'y a pas d'application spécifique pour un type cellulaire donné. Par analogie, chaque pathologie est explorée par une variété importante de cellules.

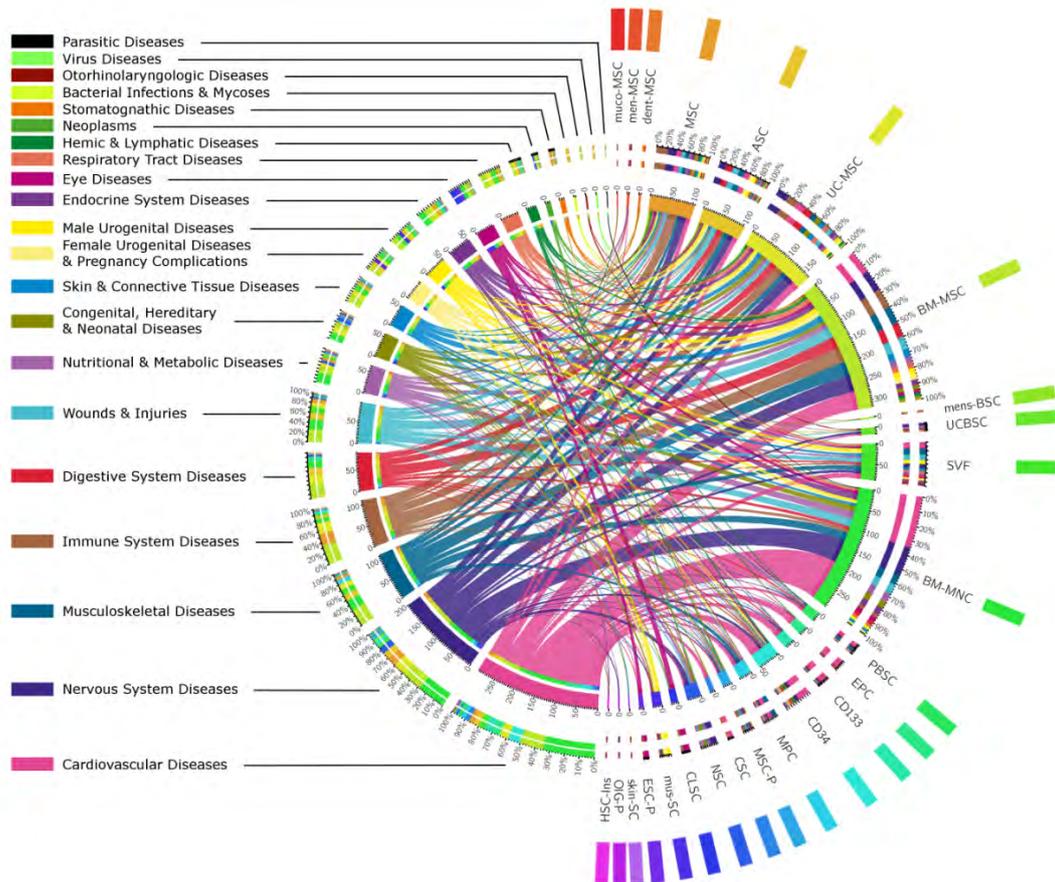


Figure 5 : Utilisation des différents types de cellules souche en médecine régénérative. Le diagramme représente la proportion d'études explorant chaque champ d'application, en lien avec l'utilisation respective des cellules souches. *Abréviations des cellules :* muco-MS : CSM muqueuse ; men-MS : CSM menstruelle ; dent-MS : CSM des tissus dentaires, MSC : CSM (probablement BM-MS) ; ASC : CSM du tissu adipeux ; UC-MS : CSM du Cordon Ombilical ou de la Gelée de Wharton ou du placenta ; BM-MS : CSM de la Moelle Osseuse ; mens-BSC : cellules mononuclées menstruelles ; UCBSC : cellules mononuclées du Cordon Ombilical ; SVF : Fraction Vasculaire Stromale ; BMMNC : cellules mononuclées de la Moelle Osseuse ; PBSC : cellules mononuclées périphériques ; EPC : Précurseur de Cellule Endothéliale ou Angiogénique ; CD133 : cellule CD133+ ; CD34 : cellule CD34 (25).

Signalons que les CSM correspondent à plus de la moitié des études enregistrées. Il n'y a pas de spécificité de certaines CSM sur un type de pathologie donné. Enfin, il n'existe pas de champ d'application où les ASC sont utilisées et où les autres CSM ne le sont pas. De manière générale, on note un intérêt certain des chercheurs pour les ASC, très certainement pour les raisons déjà évoquées plus haut. Il est nécessaire de suivre attentivement

l'évolution de ces études et d'améliorer les connaissances fondamentales des ASC : la mise en relation des résultats cliniques et précliniques (*in vitro*, *in vivo*) permettra de faire progresser la recherche et les thérapeutiques potentielles.

I.4 Utilisation des CSM issues du tissu adipeux, les ASC

Même si des ASC résident dans les différents types de tissus adipeux, le plus communément utilisé est le sous-cutané. Ce dernier est obtenu après résection ou lipoaspiration. Il est ensuite digéré par collagénase et/ou dispase puis centrifugé. La SVF (fraction stromale vasculaire) subit une lyse érythrocytaire et les ASC sont séparées des autres cellules contenues dans la SVF par adhésion au plastique (21) .

I.4.1 Phénotype in vivo/in vitro

Bourin *et al.* ont démontré que les ASC expriment un phénotype de surface différent *in vivo* et *in vitro* s'expliquant en partie par les conditions d'isolation et de culture des ASC ; ainsi qu'*in vivo* par les variations du donneur et du microenvironnement cellulaire. *In vitro*, les ASC présentent au minimum tous les caractères suivants : ils sont adhérents au plastique et sont capables de se différencier en ostéoblastes, chondroblastes et adipocytes. Concernant les clusters de différenciation, ils expriment CD105, CD73, CD90, CD44 et répriment CD45, CD11b, CD31 et HLADR (23). Ces cellules perdent progressivement le marqueur CD34 en culture. De plus, cette dernière induit une modification de l'expression de certains marqueurs de surface. *In vivo*, il existe un débat quant à l'origine des CSM et de leur expression du CD146, marqueur des péricytes. Cette population semble donc être une sous-population au sein des ASC, autour des capillaires et des micro vaisseaux, stabilisant le réseau vasculaire. Les péricytes sont supposés partager des caractéristiques avec les CSM et être impliqués dans les mécanismes de régénération tissulaire (26,27).

1.4.2 Propriétés

Les propriétés des ASC peuvent varier en fonction de l'origine tissulaire et des méthodes de production. Elles ont été démontrées *in vitro*. Mais *in situ*, leurs capacités n'ont jamais été clairement établies (28). L'efficacité des ASC permettrait la régénération tissulaire principalement grâce à leur activité paracrine (action immunomodulatrice / immunosuppressive et trophique).

Immunosuppression/Immunomodulation

Comme les CSM en général, les ASC sont des capteurs de l'environnement. En fonction du microenvironnement, elles s'adaptent et décrivent un phénotype pro-inflammatoire ou anti-inflammatoire. Elles interfèrent avec le système immunitaire inné et adaptatif (29,30).

Lors d'un déséquilibre tissulaire en absence d'inflammation, les CSM activées via les TLR (*Toll Like Receptor*) sécrètent des cytokines pro-inflammatoires et activent les lymphocytes T - permettant la mise en place de l'inflammation et déclenchent la réponse immunitaire adaptative (29). Dans un environnement inflammatoire, les monocytes recrutés sur le site sont polarisés (par les CSM) en macrophages M2 anti-inflammatoires (par la sécrétion d'IL6) sécréteurs de cytokines IL10, IL4, IL13 anti-inflammatoires et pro-angiogénique VEGF(31). De plus, ils diminuent leur capacité de phagocytose (31).

Les ASC agissent sur tous les effecteurs de l'immunité innée et adaptative. Elles altèrent la prolifération cellulaire des lymphocytes T et des cellules NK en bloquant le cycle en phase G0/G1 et orientent la prolifération des macrophages qui passent de l'expression d'un phénotype pro-inflammatoire à anti-inflammatoire (28,32). Après leur activation par les INF γ , elles inhibent la prolifération des lymphocytes B et leur différenciation en plasmocytes sécréteurs d'immunoglobulines (28). Elles altèrent la différenciation et la maturation des cellules dendritiques présentatrices d'antigènes. Les mécanismes d'actions sont nombreux et inductibles par des facteurs solubles (28). Elles synthétisent l'IDO qui transforme le tryptophane en kynurénine. Le milieu est déplété en tryptophane - acide aminé essentiel - et la kynurénine agit en inhibant la prolifération des lymphocytes T (28). Elles synthétisent la

cyclo-oxygénase 2 qui transforme l'acide arachidonique en prostaglandine participant à l'inhibition des cellules NK (28). Les CSM sont peu immunogènes mais susceptibles d'être détruites par les cellules activées de l'hôte (28).

Trophicité

Les ASC ont des propriétés angiogéniques importantes, médiées par VEGF-1, IGF1 et IL6 (33). Elles peuvent se différencier en cellules endothéliales exprimant le facteur de Von Willebrandt et le CD31 (34). *In vitro* elles peuvent former des structures proches des vaisseaux sanguins (33,34) et *in vivo* chez l'animal permettent la néovascularisation en réaction à un environnement ischémique (35,36).

Elles ont des actions mitogéniques permettant la croissance et la différenciation des progéniteurs via la sécrétion de SCF, LIF, M-CSF, SDF-1, et Angiopoïétine (37).

Ces cellules permettent de lutter contre l'apoptose grâce au VEGF-1, HGF et IGF1. Leur rôle anti-apoptotique a été montré *in vivo* sur des cellules endothéliales de l'aorte.

Elles sécrètent des molécules antifibrotiques qui permettent la cicatrisation comme HGF, bFGF. Le rôle immuno-modulateur est également en lien avec le rétablissement d'une cicatrisation moins anarchique et moins fibrotique (38).

Enfin, les ASC luttent contre l'agression bactérienne *in vitro*. Elles auraient une capacité de phagocytose, l'effet antibactérien serait rapide (à large spectre, dépendant de la charge initiale en bactérie) ; elles perturberaient la division bactérienne et produiraient des peptides antibactériens comme le LL-37 (25).

Ainsi, les propriétés exprimées par les ASC nous semblent intéressantes pour tenter de prendre en charge de manière durable de nombreuses pathologies, ischémiques, infectieuses, inflammatoires, pertes de substance ... Ceci laisse présager des perspectives en médecine régénérative et plus particulièrement pour nous en parodontologie.

1.4.3 Comparaison avec les BM-MSC

Plus de la moitié des recherches (Figure 5) se tourne vers les BM-MSC, cependant les ASC présentent de nombreux arguments vis à vis de leur homologue.

Les ASC sont plus facilement extraites du tissu adipeux que les BM-MSC de la moelle osseuse. L'acte opératoire est simplifié. Le prélèvement se réalise au niveau sous cutané de l'abdomen par lipoaspiration ou résection. La quantité de tissu extrait peut être faible – 1g de tissus adipeux permet d'obtenir plus de 5×10^3 ASC, soit 500 fois plus que dans la moelle osseuse (39). En outre, l'acte est moins anxiogène pour le patient, il se réalise sous anesthésie locale et évite le stress dû à l'anesthésie générale. Les risques peropératoires et les complications post-opératoires sont amoindris. Le patient cicatrise rapidement et les douleurs post-opératoires sont rares (40). L'acte est moins onéreux pour le patient et les organismes sociaux ; il permet une prise en charge hospitalière moins lourde.

Comparées au BM-MSC, elles auraient un meilleur potentiel concernant la prolifération (41) et la capacité à former des colonies (42), la néo-angiogenèse et le potentiel myogénique (41), la différenciation en cellules neuronales (43) et un meilleur potentiel immunologique avec un transcriptome enrichi en gènes liés à l'immunorégulation (44). Les ASC présenteraient aussi un meilleur potentiel de différenciation en adipocytes. *A contrario* les BM-MSC présenteraient un meilleur potentiel de différenciation en chondrocytes et ostéoblastes (45). Plusieurs auteurs affirment le besoin de prendre en considération les propriétés spécifiques de chaque type cellulaire et de les mettre en relation avec l'objectif thérapeutique souhaité (46,47) ; néanmoins la diversité des champs d'application (tout azimut) des essais cliniques en cours et le peu d'études comparatives existant ne permettent pas encore de formuler des hypothèses.

Les ASC paraissent tout indiquées - de par leurs propriétés et leur ergonomie de prélèvement et d'isolation - comme source préférentielle de CSM afin de développer des médicaments de thérapie innovante.

1.4.4 Les essais cliniques chez l'Homme

Les ASC font déjà l'objet d'essais cliniques chez l'homme.

Les premiers essais utilisant des ASC ont été réalisés chez des patients atteints de la maladie de Crohn pour traiter des fistules recto-vaginales. Des résultats concluants ont été obtenus (fermeture et cicatrisation des fistules) chez tous les patients traités avec des ASC autologues (48) ou allogènes (49). De plus, une étude rétrospective réalisée chez des patientes n'a révélé aucune interaction sur les grossesses ultérieures, ni sur l'état de santé des nouveaux nés (50).

D'autres applications des ASC au niveau clinique ont vu le jour.

Un cas a été reporté chez un patient diabétique souffrant d'insuffisance rénale terminale. Ce patient a été transplanté avec une co-infusion de cellules sécrétrices d'insuline - différenciées *in vitro* à partir d'ASC autologues (IS-ASC) - et de BM-MSc (injectées dans les tissus sous cutanés et dans la circulation portale et thymique) ; ces cellules ayant été administrées pour leurs propriétés immunosuppressives afin de prévenir le rejet du greffon. La greffe a été un succès et les fonctions rénales assurées (51). Par la suite, il a été montré dans plusieurs autres études que ce type de co-infusion a permis de stabiliser la pathologie : les patients traités présentent un meilleur contrôle de la glycémie et d'hémoglobine glyquée. Les quantités d'insuline requises sont alors significativement réduites (52–54).

Des patients atteints de maladies auto-immunes (polyarthrite rhumatoïde, sclérose en plaques, etc.) ont été traités par ASC. Les auteurs considèrent cette thérapie cellulaire comme viable et sûre (55). Chez des patients atteints d'ostéo-arthrite du genou, une étude a montré une amélioration de la fonction et une réduction de la douleur grâce à des injections intra-articulaires d'ASC (d'origine infra-patellaire) avec du plasma riche en plaquette (PRP) (56). Au niveau neurologique, des injections intraveineuses et intrathécales d'ASC autologues ont permis d'améliorer significativement et sans effets secondaires l'état d'un patient atteint de paralysie supra nucléaire progressive (57).

Au niveau odontologique :

Dans le *Treacher Collins Syndrom*, une dysostose mandibulo-faciale, la reconstruction bilatérale d'une lésion osseuse orbito-zygomatique a été rendue possible chez un adolescent par ingénierie tissulaire, en utilisant de l'os allogène, des ASC et du BMP-2 (58). De même, après hémimaxillectomie, liée à un kératocyste chez un patient, la lésion osseuse a été comblée par du phosphate tricalcique, des ASC autologues et du BMP-2. La pose d'implants dentaires a été entreprise par la suite (59).

Ainsi, les ASC commencent à trouver des applications dans de nombreux domaines de la médecine régénérative. Aucun effet secondaire n'a été relaté à court ou moyen terme, même si l'on regrette une absence de suivi à long terme chez ces patients. Leur utilisation au niveau buccal a été réalisée dans le cas du Treacher Collins Syndrom. Nous espérons ainsi que de nouvelles études chez l'Homme dans le cadre de la maladie parodontale puissent voir le jour grâce à l'utilisation des ASC en ingénierie tissulaire.

II - La régénération parodontale

II. 1 Définitions

Le parodonte se met en place lors de l'éruption de la dent. Il est formé par deux tissus non minéralisés : la gencive et le ligament alvéolo-dentaire, et de deux tissus minéralisés : le cément et l'os alvéolaire (60). Son rôle est multiple. Il constitue une barrière protectrice étanche, une double articulation qui maintient la dent dans son alvéole. Il permet la répartition des forces lors de la mastication et assure le remodelage de ses structures soumises aux modifications de la fonction et de l'âge (60,61). Il participe à l'équilibre et au

système postural via ses récepteurs desmodontaux qui interagissent avec le trijumeau et les centres nerveux (62).

Les maladies parodontales sont des pathologies immuno-infectieuses, liées à un moment donné à un déséquilibre entre une flore bactérienne plus ou moins abondante ou agressive d'une part, et d'autre part la réponse de l'hôte qui peut être plus ou moins sensible (susceptibilité individuelle, génétique) et qui peut être modifiée par des facteurs locaux (prothèses, obturations débordantes, etc.) ou environnementaux (63–65). La manifestation clinique atteint le parodonte marginal (gingivite) puis le parodonte profond. A ce stade, on parle de parodontite. Non traitée, elle aboutit à la perte de la dent (66). Son origine est encore incertaine, probablement plurifactorielle puisqu'il existe de multiples formes anatomo-cliniques et les facteurs de risques sont nombreux (âge, sexe, facteurs ethniques, conditions sociales et économiques, stress, tabagisme, déficience immunitaire, diabète, etc.) (65).

Bien que les mécanismes soient encore mal connus, des liens ont été clairement établis entre la maladie parodontale et de nombreuses maladies systémiques : le diabète (67), les maladies cardiovasculaires (68), l'athérosclérose (69), la polyarthrite rhumatoïde (70), les déficiences immunitaires (sida, trisomies 21) (71–73), le cancer et lésions précancéreuses (74), les grossesses à risques (75) ou encore la maladie d'Alzheimer (76,77).

Pour Badran *et al*, la parodontite peut être considérée comme un facteur de risque de ces pathologies. Elle participe à l'initiation et à la progression des maladies via la dissémination dans la circulation sanguine de bactéries ou de leurs dérivés et de cytokines pro inflammatoires (78). Le patient est donc prédisposé à déclarer une pathologie systémique inflammatoire voire infectieuse.

L'étude des liens entre les pathologies systémiques et ASC permet d'envisager plusieurs éléments essentiels pour pouvoir proposer un MTI à nos patients dans le but de régénérer le système parodontal :

- Déterminer le comportement des cellules *in vitro*, et leurs effets régénératifs *in-vivo*, en lien avec les pathologies systémiques.

- Le statut du donneur : les dysrégulations locales des CSM dues à la pathologie sous-jacente qui peuvent modifier (potentialiser ou altérer) le comportement de ces cellules. Ceci permettrait de déterminer les patients chez qui l'utilisation allogénique serait préférable à l'autologue.

II.2 Le parodonte profond pathologique

La formation d'une poche parodontale est le signe pathognomonique de la maladie parodontale (61). Elle survient lorsque les quatre conditions suivantes sont réunies : la présence de bactéries virulentes, l'absence de bactéries protectrices, un environnement dento-gingival défavorable, et une « défaillance » du système immunitaire (79–81).

Aspect clinique

Au stade parodontite, les signes présentés par le patient sont nombreux. Le praticien doit réaliser un bilan rigoureux et objectiver la présence de saignement, de récession gingivale, de poche parodontale, de mobilité, de migration dentaire, de sensibilité thermique, de suppuration, d'halitose, de tartre et de tassement alimentaire. La perte de l'attache parodontale est visible cliniquement et radiologiquement (81).

Aspect microbiologique

La plupart des bactéries sont en symbiose avec l'écosystème buccal. Parmi les 500-700 espèces recensées dans la cavité buccale, seulement quelques-unes sont décrites comme parodonto-pathogènes (79,82). Le développement de la parodontite nécessite une rupture de l'équilibre tissulaire, obtenue par la réunion de plusieurs facteurs : la virulence de la bactérie, la sensibilité de l'hôte à ce pathogène, que ce dernier soit en nombre suffisant pour dépasser les limites de la résistance de l'hôte au bon endroit et que certaines espèces bactériennes favorisent le processus (et que d'autres ne l'altèrent pas) (80). Les bactéries agissent soit directement par libération d'enzymes protéolytiques et de substances cytotoxiques, soit indirectement en activant les éléments cellulaires de l'hôte qui provoquent la destruction tissulaire (81,82).

Aspect immuno-pathologique

Le système immunitaire de l'hôte voit ses capacités dépassées et ne parvient pas à contenir la progression de la maladie parodontale. Les causes sont multiples : la dégradation des immunoglobulines par les bactéries, l'invasion des tissus parodontaux et l'internalisation des bactéries dans certaines cellules de l'hôte, la sécrétion de vésicules enzymatiques bactériennes, la sécrétion de bêta-lactamases, le dysfonctionnement des PNN (d'origine bactérienne ou innée) et des monocytes, ou encore l'action des radicaux libres oxygénés (83).

II.3 Les traitements

Les traitements ont pour but de réparer et si possible de régénérer le parodonte profond afin de restaurer l'architecture et la fonction des tissus lésés: le ciment, le ligament alvéolo-dentaire et l'os alvéolaire (84).

Non chirurgicaux

L'objectif des traitements non chirurgicaux est d'éliminer et de désorganiser le biofilm sous-gingival pour assainir les surfaces dentaires, permettre le retour à une flore bactérienne compatible avec une bonne santé parodontale et de prévenir la résurgence de la maladie parodontale (60). Les stratégies de lutte contre les bactéries parodonto-pathogènes associent l'enseignement à l'hygiène, l'élimination mécanique et chimique du biofilm sous-gingival et des facteurs rétentifs de plaque (détartrage/surfaçage, traitement des caries, obturations débordantes, contentions iatrogènes, etc.) (85–87). Dans certains types de parodontites, une antibiothérapie doit être mise en place (88). Un polymorphisme génétique d'IL-1 est un facteur de sévérité associé à la maladie parodontale. Pour le dépister, nous disposons d'un test génétique (89,90). L'analyse radiographique doit être rigoureusement observée (91).

Chirurgicaux

Lorsque l'atteinte parodontale est sévère et/ou que les traitements non chirurgicaux ont échoué à stabiliser la pathologie, plusieurs traitements chirurgicaux peuvent être envisagés :

- Le lambeau d'assainissement consiste en un débridement mécanique des surfaces dentaires par accès direct (92).
- La régénération tissulaire guidée permet d'obtenir grâce à des membranes (non-résorbables ou résorbables), une repopulation des surfaces par les cellules du ligament desmodontal. Elles permettent la cicatrisation par prolifération des cellules issues du desmodonte. Ces dernières ont la capacité de régénérer le ligament, le cément et l'os alvéolaire (93).
- La régénération tissulaire induite par les protéines dérivées de la matrice amélaire, commercialisées sous le nom d'Emdogain. Ce produit est constitué principalement d'amélogénines, de protéines sériques riches en proline, de protéines salivaires et de facteurs de croissance comme les BMP-2 et -7. Il est placé *in situ* après un conditionnement des surfaces par l'EDTA (acide éthylène diamine tétraacétique), associé ou non à une membrane de RTG, et permet l'attachement à la surface radiculaire des cellules mésenchymateuses desmodontales (94). Ce complexe protéique favorise la cicatrisation biologique, il « mime » les étapes du développement de la dent et de ses tissus de soutien et permettrait d'obtenir un système d'attache fonctionnel.

Les indications de ces techniques varient en fonction du type de lésion : infra-osseuse ou supra-osseuse ; de son anatomie : horizontale, angulaire, ou en cratère ; de sa sévérité ; et de l'atteinte ou non de la furcation (81).

II.3 Limites des traitements parodontaux

Il existe de manière générale une très grande variabilité et une faible prédictibilité des résultats issus de ces techniques. Actuellement deux revues systématiques Cochrane ne mettent pas en évidence de bénéfice statistiquement supérieur de ces techniques par rapport aux techniques mécanico-chimiques seules (93,94).

Les résultats sont souvent aléatoires et dépendants des lésions (sévérité, architecture), de la ou des techniques mises en œuvre (dextérité et expérience du praticien, biomatériaux ou facteurs utilisés), de l'occlusion et de la fonction masticatrice, ainsi que du comportement du patient (suivi des conseils post-opératoires, alimentation, hygiène) (95).

Enfin, ces thérapeutiques sont onéreuses et ne sont que très faiblement prises en charge par les organismes sociaux de remboursement.

II.4 Thérapie parodontale : l'apport des CSM/ASC

Le challenge actuel consiste à faire que le bon type cellulaire se développe au bon endroit, rétablissant l'architecture et la fonction tissulaire, permettant un retour à l'homéostasie.

Les CSM et notamment celles issues du tissu adipeux les ASC, présentent des propriétés particulièrement intéressantes pour le traitement de la maladie parodontale (cf partie I). De par leur capacité de différenciation, elles permettraient de remplacer les cellules lésées et d'assurer leurs fonctions. Les effets paracrines de ces cellules leur confèreraient la possibilité de favoriser le retour à homéostasie grâce à un effet immunomodulateur, et la sécrétion de facteurs angiogéniques, chimio attractants, antibactériens (96)... Un autre objectif de l'apport de ces cellules sur le site pathologique serait de favoriser le recrutement des cellules progénitrices *in-situ* (97).

Les études animales suggèrent que les CSM exogènes seraient capables de stimuler la régénération parodontale, permettant d'obtenir un nouvel attachement avec un ligament parodontal et un nouveau cément. Peu de données sont encore disponibles pour les ASC en régénération parodontale (98). Ainsi, même si des données animales et la réalisation d'essais cliniques sont nécessaires, la compréhension des facteurs liés au recueil, au traitement, à la culture des ASC, est fondamentale pour maîtriser la totalité de la chaîne translationnelle.

L'ingénierie tissulaire à base d'ASC est proposée. Néanmoins, cette dernière soulève de nombreux problèmes quant à l'utilisation de ses composants : les cellules, les facteurs de croissance et les biomatériaux (Figure 6) (99).

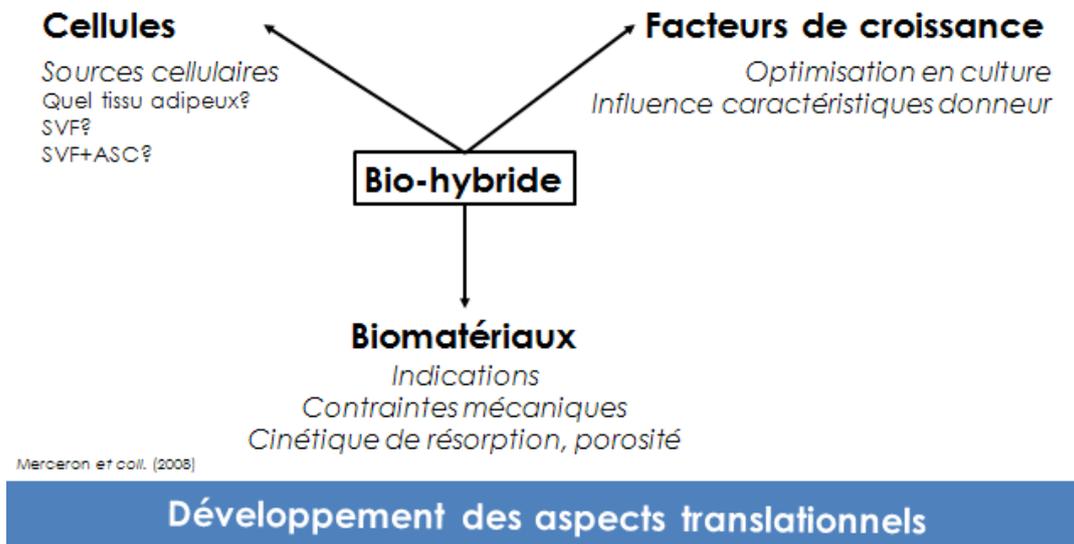


Figure 6 : les composants de l'ingénierie tissulaire.

Les facteurs de croissance et les biomatériaux utilisés ont un impact direct sur le phénotype, les caractéristiques et les propriétés des ASC. Ils pourraient les altérer ou au contraire les potentialiser. Les autorités régulatrices nous freineront sans doute sur l'utilisation de ces facteurs de croissance dans le cadre de la régénération parodontale (et cela vaut mieux sans doute) ; le concept de facteurs de croissance doit donc s'entendre comme l'ensemble des moyens pour potentialiser les ASC avant leur implantation et choisir le donneur idéal de cellules (impact des pathologies systémiques sur le comportement cellulaire, greffe allogénique ou autologue).

Nous avons mis en évidence l'apport de ces cellules en médecine régénérative, les liens entre la maladie parodontale et les pathologies systémiques, et l'apport des ASC en thérapie parodontale. Il s'agit désormais de comprendre tous les paramètres qui influent sur les ASC - du prélèvement tissulaire à l'obtention d'un MTI prêt à l'emploi, et adapté à la physiopathologie du patient. On pense que chaque étape du processus est à prendre en considération (prélèvement, isolation, mise en culture, environnement, potentialisation,

différenciation, association avec des biomatériaux, caractéristiques physiopathologiques du donneur). Mais dans quelles mesures ces paramètres peuvent-ils modifier les ASC ? Pour tenter d'apporter des éléments de réponse, une analyse de la littérature concernant les ASC est proposée, avec en filigrane une réflexion sur l'applicabilité en terme d'ingénierie du parodonte.

III - Analyse de la littérature

III.1 Matériels et méthodes

Nous avons mis en œuvre une stratégie de recherche exhaustive de la littérature scientifique disponible dans PubMed par une combinaison de mots clefs détaillés ci-dessous.

#1: Mesenchymal Stromal Cells [mh:exp]
 #2: Adipose Tissue [mh:exp]
 #3: (mesenchymal[Title/Abstract] OR multipotent[Title/Abstract]) AND (stromal[Title/Abstract] OR stem[Title/Abstract])
 #4: *adipo*[Title/Abstract] OR lipo*[Title/Abstract]
 #5: donor[Title/Abstract] OR patient[Title/Abstract] OR subject[Title/Abstract] OR individual[Title/Abstract]

La sélection des études en rapport avec les ASC se fait en association ((#1 OR #3) AND (#2 OR #4)) AND #5. Nous avons récupéré 629 enregistrements. Du fait de ce nombre particulièrement important, nous avons pris la décision de n'analyser que les résumés disponibles sur PubMed, en assumant que les informations principales y seraient mentionnées, d'autant plus que les études seraient conçues pour évaluer les facteurs pouvant influencer le devenir des ASC en médecine régénérative.

Ces résumés ont été ainsi groupés en différentes thématiques : 1) les moyens et techniques d'obtention, de production, de conservation et d'optimisation des cellules, 2) les méthodes d'apport des cellules, 3) l'influence des caractéristiques du donneur.

La dernière recherche a été réalisée le 05/06/2015.

III.2 Résultats et discussion

III.2.1 Moyens d'obtention, de production, de conservation et d'optimisation

III.2.1.1 Prélèvement

Les ASC sont présentes non seulement dans les tissus adipeux sous cutanés mais aussi dans les amas adipeux appendus à de nombreux structures et organes. Les études recensées mettent en évidence des prélèvements abdominaux supérieurs et inférieurs, des

régions trochantériques et inguinales, de l'intérieur de la cuisse, du genou (infra-patellaire), de la région sternale et des flancs. D'autres tissus adipeux sont appendus à des organes et structures tels que l'orbite, le péricarde, le thymus, l'épiploon, le rein, l'épididyme ou le corps adipeux de la bouche sont également retrouvés (100–108).

Discussion

Une importante variété dans le site de prélèvement est rapportée. Les ASC issues des différents sites partagent les mêmes propriétés et caractéristiques générales. Néanmoins, cela soulève certaines questions, notamment sur l'existence de spécificités tissulaires (qui selon les organes, confèreraient des propriétés spécifiques à certaines sous population d'ASC), ainsi que le lien entre l'origine embryologique, la situation anatomique et le devenir de la cellule. Au niveau de la sphère oro-faciale, se trouve le corps adipeux de la bouche (boule de Bichat). Son utilisation en chirurgie orale est bien connue. Nous regrettons le faible nombre d'études sur ce corps adipeux, représentant une source potentielle d'ASC (109).

III.2.1.2 Préparation

Article	Objet de l'étude	Message principal
(110)	Comparaison quantitative et qualitative des ASC après centrifugation ou non.	La centrifugation n'altère pas les cellules, augmente la quantité d'ASC, améliore la fréquence des CFU-F et diminue la quantité de cellules pro-inflammatoires.
(111)	Comparaison de deux méthodes de préparation : centrifugation et <i>telfa-rolling</i> .	Le <i>telfa-rolling</i> présente un meilleur taux d'isolation des ASC et donc permet d'en obtenir une quantité supérieure par rapport à la préparation par centrifugation.
(112)	Proposition d'une technique d'isolation rapide des ASC à partir de la fraction « saline » après centrifugation.	Obtention d'ASC ayant le même phénotype et potentiel de différenciation que les ASC issues de l'isolation standard.

Discussion

La préparation et l'obtention des ASC jouent un rôle important quant au devenir de ces cellules. La technique d'isolation à partir d'une dermolipectomie abdominale ou de lipoaspiration de tissu adipeux permet d'obtenir des ASC après un *process* défini. Les études soulignent l'importance de standardiser ces techniques entre les laboratoires afin d'obtenir

des préparations d'ASC reproductibles et comparables, pour pouvoir les étudier avec le moins de biais possible. Le *telfa-rolling* semble être une technique intéressante (technique nécessitant l'essorage du lipoaspirat sur des gazes stériles). Cette technique permettrait de concentrer les ASC (111). La technique d'isolation rapide permettrait de bénéficier d'une nouvelle source d'ASC, celle provenant de la fraction saline après centrifugation. Cette dernière est normalement jetée. Il est possible de s'en servir pour isoler des ASC ; certes en quantité moindre (10^5 contre 10^8 dans le surnageant), mais en moins de 30 minutes (112).

III.2.1.3 Milieu de culture

Article	Milieu de culture	Message principal
(113)00	ASC assemblées en corps sphéroïdes sur une membrane polymère.	ASC organisées en corps 3D présentent de meilleures capacités de cicatrisation et d'angiogenèse, comparé à la culture standard.
(101)00	Sérum humain allogénique et ASC du tissu graisseux orbital.	Le sérum humain est une alternative au FBS. Il permet une augmentation de la prolifération et un maintien des potentialités des ASC.
(114)00	Effet de la Thymosine b4 sur ASC.	Tb4 est un outil d'expansion efficace des ASC.
(115)00	Culture par Micro-capillaires.	Augmente l'expansion des ASC, utile notamment dans les cas où la source d'ASC est rare.
(116)00	Comparaison du sérum humain au FBS.	Le sérum représente une alternative au FBS.
(117)00	Milieu enrichi en facteur APRIL ET BAFF.	Augmente la prolifération des ASC.
(118)00	<i>XenoFree Microcarrier culture system.</i>	Permet une expansion des ASC.
(119)00	(hPRP+hPPP+EGF+bFGF+PDGFbb).	Substitut efficace au FBS.
(120)00	<i>Solvant/detergent virally inactivated allogenic human platelet lysate.</i>	Alternative au FBS.
(121)00	<i>Human Platelet Lysate.</i>	Variations interindividuelles du hPL. A réserver pour une utilisation autologue des ASC.
(122)00	EFK8-PO hydrogel.	Augmente l'expansion des ASC et sert de support pour la bio-ingénierie tissulaire.
(123)00	Low-dexamethasone.	Préserve les capacités des CSM malgré les passages répétés en culture.
(124)00	Sérum animal supplémenté avec du hPL autologue.	Alternative au FBS pour la culture des ASC.
(125)00	Transduction rétrovirale de hTert.	ASC sont immortalisées, pas d'arrêt de la réplication, ni d'instabilité génétique.

Discussion

Le FBS ou *fœtal bovine serum* est opposé au hPL ou *human platelet lysate*. On a longtemps cherché un substitut au FBS. Son inconvénient provient de son immunogénicité due à la présence de protéines xénogéniques, de la possibilité de transmission de prions, virus et bactéries. Les recommandations actuelles préconisent l'utilisation de sera alternatifs aux produits xénogéniques. Les hPL ont prouvé leur efficacité dans de nombreuses études. Ils représentent un substitut efficace au FBS, ils améliorent la prolifération tout en conservant le potentiel des ASC. Néanmoins, l'importante variation interindividuelle peut être une limite à son utilisation. Certains auteurs recommandent leur utilisation pour une culture autologue (121). Une piste concernant son utilisation allogénique a été avancée en utilisant du hPL viralemment inactivé (120). Le sérum humain représente donc une alternative pour la culture des ASC. L'emploi de sérum allogénique permet d'améliorer la prolifération tout en conservant l'immunophénotype et les capacités de différenciation. Il conserve les mêmes inconvénients, à savoir l'augmentation de la sénescence et l'altération du potentiel prolifératif. Dans cette étude, les auteurs soulignent l'importance de la variabilité des donneurs dans les résultats plus que les types de sera utilisés (121). Les différents sera influent sur les caractéristiques des ASC. Il est essentiel d'établir des protocoles de mises en culture bien précis afin d'obtenir les mêmes phénotypes d'ASC.

La dexaméthasone permet de maintenir le potentiel prolifératif des MSC, sans effets indésirables relatés ; il faudrait une étude comparable avec les ASC (123). De même la transduction rétrovirale de hTert permet d'immortaliser les ASC, sans instabilité génétique – représentant ainsi une avancée concernant le création d'une banque allogénique d'ASC – à condition de standardiser le contrôle de chaque lignée cellulaire (125).

La culture par micro-capillaire trouve son application lorsque la source d'ASC est rare (115). Une combinaison d'hydrogel et d'oligopeptide augmente significativement la prolifération et sert de support pour l'ingénierie tissulaire (122).

La thymosyne b4 est un facteur trophique ubiquitaire au potentiel antibactérien et de réparation tissulaire. Du Tb4 exogène ajouté au milieu de culture permet d'améliorer l'expansion des ASC comme les facteurs APRIL et BAFF (114,117). D'autres milieux de cultures sont relatés et ont prouvé leur efficacité pour palier au FBS (116,118,124) .

Les ASC cultivées sur une membrane polymère à base de chitosan-hyaluronan s'assemblent en corps sphéroïdes 3D. Chez le rat, on observe une meilleure cicatrisation de la plaie et une augmentation significative de l'angiogenèse comparé aux ASC simplement injectées (101). Il s'agirait d'une propriété intéressante pour obtenir une cicatrisation des tissus et un néo-apport sanguin, et leur application au niveau des tissus parodontaux est à envisager.

En ce qui concerne un futur apport parodontal, l'utilisation des dérivés de produits sanguins labiles semble particulièrement adaptée pour la culture des ASC, et éventuellement pour leur apport sur site. Les variations entre les donneurs devraient orienter vers des pools de sera allogéniques.

III.2.1.4 Environnement

Article	Type de stimulation	Message principal
(126)	<i>Extracorporeal shock wave</i>	Améliore les capacités de différenciation et la qualité des ASC
(127)	Agrégats d'ASC	Agrégats d'ASC sphéroïdes utilisés avec les ASC simples en thérapeutique : augmente la quantité d'ASC et améliore l'effet thérapeutique
(128)	Hypoxie à 1%	Favorise la prolifération, enrichit le pool cellulaire, et potentialise l'expansion à long terme des ASC
(129)	Force cyclique de tension à 10%	Améliore l'ostéodifférenciation et l'angiogenèse chez les patients souffrant d'ostéoporose
(130)	Stress chimique et force de tension (étirement et cisaillement)	Augmentation des marqueurs endothéliaux
(131)	Hypoxie	Réduit les effets de l'âge sur le potentiel angiogénique des ASC dans un modèle de muscle ischémique murin
(132)	Stress (<i>fluid flow</i> et changements épigénétiques)	Variation de volume des ASC en fonction du stress, peut générer une différence de lignage
(133)	ASC ajoutées en culture de 3 types de cellules cancéreuses du sein	ASC ont une action synergique par sécrétion de facteurs pro-prolifératifs sur les cellules cancéreuses
(134)	Préexposition des ASC à un environnement osseux ou TGFb1	Améliore le potentiel de survie après transplantation du tissu squelettique <i>in vivo</i>

Discussion

Il existe des moyens afin de potentialiser les ASC *in vitro*. On souligne notamment le rôle de l'hypoxie qui permet de compenser l'effet de l'âge sur les ASC (concernant le caractère angiogénique) et qui favorise l'expansion des ASC ainsi que leur utilisation après de longs passages en culture (128,131).

De plus, *l'extracorporeal shock wave* permet d'améliorer les marqueurs de surface des ASC et leur potentiel de différenciation en adipocytes, ostéoblastes et cellules de Schwann (126). Une sous population primitive d'ASC, sous des conditions de stress, peut s'agréger en corps sphéroïde 3D. Ces cellules ne partagent alors pas toutes les caractéristiques des ASC, mais pourraient potentialiser leurs effets (127). Une autre étude non référencée dans ce travail de recherche montre que l'agrégat de CSM améliore les propriétés antiinflammatoires de ces dernières (134).

L'utilisation de forces tensiles permet de potentialiser les ASC. Les gènes exprimés le sont en faveur de la prolifération cellulaire, du mouvement cellulaire et du développement tissulaire (musculosquelettique et cardiovasculaire). Il est démontré chez des patients souffrant d'ostéoporose que ces forces appliquées augmentent la prolifération des ASC et les potentiels ostéogénique et angiogénique (129). De même, l'application d'un stress mécanique et chimique qui reproduit les forces subit dans les vaisseaux sanguins permet aux ASC d'acquérir un phénotype endothélial, important pour l'angiogenèse (130).

Chang *et al.* montre que les ASC en réponse à des stress modulent leur cytosquelette et leurs fonctions ; expliquant ainsi le rôle primordial de l'environnement sur les cellules, et de « l'épigénétique sur la mémoire et le destin des cellules » (132).

La préexposition à un environnement « osseux » permettrait d'améliorer la survie dans ce même environnement après transplantation. Les ASC sont sensibilisées et plus efficaces chez le modèle murin (135).

Ainsi l'environnement cellulaire des ASC est capital. Il est clairement établi qu'il module leurs réponses in situ. Même si nous avons mis en évidence des pistes de

recherches, les études recensées ne sont pas assez nombreuses sur le sujet et n'explorent pas toutes les potentialités des ASC. D'autres études sont nécessaires pour établir un protocole précis et reproductible, afin que les cellules répondent de la façon la plus adaptée et la plus efficiente possible à l'environnement.

L'hypoxie et le manque de nutriments des environnements atteints (fracture, parodontite) sont donc un challenge dans l'établissement de protocoles optimisés.

III.2.1.5 Pré-différencier les cellules

Etudes	Différenciation des ASC en phénotypes de :
(136–141)	Cellules neurales (cellules de Schwann et cellules gliales)
(142)	Cellules du noyau du disque intervertébral
(143)	Fibroblastes dermiques
(51–54,144–146)	Cellules sécrétrices d'insuline
(130)	Cellules endothéliales
(147)	Cellules épithéliales pulmonaires (modèle animal)
(148–150)	Cellules ophtalmiques (progéniteurs de la rétine, endothélial et épithélial de la cornée)
(151,152)	Cellules hépatiques
(153)	Cellules épithéliales tubulaires du rein
(154)	Cellules musculaires lisses
(155)	Cardiomyocytes (modèle animal)

Discussion

Si la capacité à se différencier en chondrocytes, adipocytes et ostéoblastes est une condition *sine qua non* à l'affiliation aux CSM, les ASC peuvent être transdifférenciées en de nombreux autres types cellulaires. Des cellules exprimant des phénotypes neuraux comme les cellules de Schwann et des cellules gliales sont obtenues par mise en culture d'ASC (avec EGF, FGF2) mais aussi par reprogrammation nucléaire sans insertion génomique. Ces cellules offrent des perspectives de traitement au niveau neural : maladie auto-immunes, dégénérescence nerveuses, etc...

Suite à une stimulation par GDF-6, les ASC augmentent leurs marqueurs en gène du noyau pulpaire et sécrètent une matrice extracellulaire riche en protéoglycanes (142). Ces cellules peuvent alors être utilisées dans le but de régénérer le disque intervertébral.

Pour le traitement des plaies chroniques, les ASC peuvent être différenciées en fibroblastes du derme qui synthétisent une matrice extracellulaire riche en collagène I, en collagène IV et en élastine (143).

Comme nous l'avons abordé précédemment, les ASC par plusieurs moyens (média, transduction de gènes) peuvent se différencier en cellules sécrétrices d'insuline et représenter pour le diabète de type 1 une thérapeutique adjuvante aux thérapeutiques classiques (51–54,144–146).

Suite à des stimuli mécaniques et chimiques, les ASC expriment des marqueurs endothéliaux (130). Les auteurs soulignent la nécessité de trouver le bon compromis pour obtenir une cellule endothéliale fonctionnelle pour une utilisation en ingénierie tissulaire.

Chez le rat, des cellules épithéliales pulmonaires et des pneumocytes ont été obtenus en cultivant des ASC humaines sur un poumon decellularisé de rat. Une recolonisation cellulaire du poumon et une transdifférenciation ont été observées (147).

Au niveau de l'œil, les ASC ont permis d'obtenir plusieurs phénotypes différents : des *corneal endothelial like cell*, des *corneal epithelial like cell* et des *retinal progenitor cell* (148–150).

Les ASC sont différenciées en *hepatocyte-like cells* grâce à des changements épigénétiques (5'Azacytidine et autres suppléments). Leurs activités métaboliques et enzymatiques pour le traitement de l'urée sont comparables à celle des hépatocytes fraîchement isolés et sont maintenus après 6 mois de cryoconservation (151,152).

Chez le rat, les ASC ont pu être différenciées en cardiomyocytes (155).

Les *renal tubular epithelial cells* obtenues *in vivo* chez la souris à partir d'ASC humain permettent le remplacement des cellules rénales mortes et une action indirecte de prolifération via la sécrétion de cytokines qui ont permis de maintenir la fonction rénale (153).

Enfin, l'action de TGF β 1 sur les ASC permet de les différencier en cellules musculaires lisses (154).

Ainsi, les « outils » de différenciation sont multiples. Les scientifiques peuvent jouer sur l'environnement de culture (ex : sérum enrichi en facteur de croissance), le support utilisé (ex : hydrogels alginates), les facteurs de croissance (BMP-2), le type de stimulation ou la transduction de gènes (ex : Pdx1 pour IL-ASC). Des résultats thérapeutiques ont été obtenus *in vivo* chez l'animal et chez l'homme, démontrant l'efficacité thérapeutique de ces cellules.

Le potentiel de différenciation en différents phénotypes souligné par ces études soulève la question de la possibilité des ASC à exprimer un phénotype et une activité cellulaire proche des cellules desmodontales ou des cémentoblastes – qui seraient capables de régénérer l'attache parodontale.

Une stimulation, prédifférenciation de ces cellules in-vitro (ou d'une partie) serait donc possible. Pourtant, nous faisons l'hypothèse que l'action des cellules au niveau parodontal résiderait en la stimulation des progéniteurs in-situ par des mécanismes essentiellement trophiques. Si nous devons pré-différencier les cellules, ce serait en complément d'ASC non manipulées, avec toutes les réserves possibles quant à l'utilisation de facteurs de croissance (priming vers une différenciation cémentoblastique envisageable en plus d'ASC non manipulées).

III.2.2 Utilisation

De par leurs propriétés, les ASC s'utilisent seules ou associées à de nombreuses stratégies thérapeutiques. Dans chaque cas nous évoquerons quelques exemples.

III.2.2.1 Utilisation des ASC seules

Chez le rat, diverses études de transplantations rénales (156) ou dans les membres postérieurs relatent l'efficacité des ASC (de source humaines ou animales) (157). Les résultats sont probants comparés aux groupes contrôles (greffes sans administrations

locales ou intraveineuses) ; ceci étant permis par les propriétés immunosuppressives des ASC qui améliorent la survie du greffon, diminuent l'inflammation et l'infiltrat cellulaire, et induit la réponse des LT régulateurs.

Chez l'Homme, un patient atteint de paralysie supranucléaire progressive a été traité par des injections intraveineuses et intrathécales d'ASC autologues ayant permis un ralentissement de la progression de la maladie et une amélioration des fonctions (57).

De même, chez des patients atteints de pathologies auto-immunes (sclérose en plaque, perte de l'ouïe, etc.), un suivi a prouvé la sûreté et l'efficacité des injections intraveineuses seules – bien que les auteurs n'aient pas clairement identifié les mécanismes mis en jeu (55).

III.2.2.2 Utilisation des ASC en association

Dans ce cas, les ASC sont ajoutées à d'autres types cellulaires pour potentialiser leurs actions grâce à leurs effets paracrines.

Cultivées avec des hépatocytes, elles améliorent leur viabilité et leur fonction, ce qui laisse présager une utilisation clinique pour traiter les troubles du foie (158).

In-vivo, les co-infusions d'ASC et d'HSC (ou de BM-MSc) présentent un grand intérêt pour lutter contre le rejet de greffe rénale et le rejet de greffe en général (159,160).

Les ASC sont aussi administrées avec d'autres produits comme le PRP (161) ou au sein de la fraction hétérogène, la SVF, mais cela se réserve à des greffes autologues à cause des variations interindividuelles.

III.2.2.3 Transdifférenciation

Comme nous l'avons évoqué précédemment, les ASC peuvent se différencier en de nombreux types cellulaires. Des recherches concernant les applications cliniques de ces cellules sont en cours dans de nombreux domaines : neural (139), cardiaque (155), orthopédique (142) permettant ainsi le remplacement des cellules lésées. Les « cellules

souches » sécrétrices d'insuline, synthétisées à partir d'ASC, ont déjà prouvé leur efficacité thérapeutique *in vivo* chez l'Homme dans le cadre du diabète de type 1 (52).

III.2.2.4 Ingénierie tissulaire

L'ingénierie tissulaire du tissu osseux est la plus étudiée et avancée. Plusieurs cas font référence avec succès à des reconstructions osseuses ou d'amélioration de la cicatrisation de lésions squelettiques ou des maxillaires. C'est le cas chez l'Homme, comme nous l'avons abordé dans le cas du Treacher-Collin Syndrom ou ectopique après transplantation du greffon obtenu *ex vivo* après 8 mois de croissance (58,59).

Co-cultivées avec des néo chondrocytes (chondrocytes juvéniles) et sur une matrice extracellulaire d'hydrogel 3D, elles permettent de synthétiser *in vitro* la formation de tissu cartilagineux allogénique, ainsi que de diminuer la quantité de cellules cartilagineuses nécessaires (162).

Concernant les tissus mou, l'ingénierie tissulaire pourrait trouver son application en chirurgie plastique ou reconstructrice et permettrait de palier aux lambeaux ostéo-cutanés, aux greffes de tissu graisseux ou encore aux implants alloplastiques (163).

La problématique de la régénération parodontale repose sur l'association de tissus minéralisés et non minéralisés et la complexité de la cicatrisation dont l'étiopathogénie n'a pas été clairement identifiée (territoire complexe, infectieux, inflammatoire, hypoxique). Nous sommes donc dans le cadre d'une double articulation ciment/ligament et ligament/os alvéolaire, avec une architecture complexe, et une insertion de fibres collagéniques spécifique (articulation septique).

III.2.2.5 Reprogrammation génétique

La reprogrammation génétique est une stratégie en plein essor. Elle peut être combinée à toutes les stratégies d'utilisation des ASC et apporte une avancée considérable dans les perspectives thérapeutiques, permettant la thérapie génique.

La reprogrammation génétique se sert des ASC comme d'un vecteur pour obtenir des actions anticancéreuses ou métaboliques. L'insertion génomique d'enzyme/médicament (164), de gènes codant pour des chimiokines (165,166) ou même de virus (167) permettent d'obtenir des actions anticancéreuses. Les ASC délivrent *in situ* les messagers permettant de lutter ou d'inhiber les cellules cancéreuses et les métastases dans le microenvironnement tumoral. La transdifférenciation obtenue par transduction de gènes ou de virus permet d'obtenir respectivement des ASC sécréteurs d'insuline ou des hépatocytes exprimant *in vivo* leurs propriétés métaboliques (146,152). Enfin, les ASC peuvent être immortalisées par transfection rétrovirale de hTert et constituer des banques allogènes (125).

Discussion

Les chercheurs disposent d'un arsenal thérapeutique à adapter en fonction de l'objectif thérapeutique.

Les ASC s'utilisent seules de par leurs propriétés intrinsèques, ou avec d'autres types cellulaires pour potentialiser leurs actions. Il est aussi possible de les transdifférencier pour remplacer les cellules lésées et exprimer leurs propriétés *in situ*. L'ingénierie tissulaire permet de synthétiser des tissus *de novo*. La reprogrammation génétique permet de développer des stratégies anticancéreuses, métaboliques ou de conservation des cellules.

Au niveau parodontal, la difficulté provient de la gestion des tissus mous et durs, nous avons besoin de synthétiser du tissu conjonctif, du ligament, du ciment et de l'os alvéolaire.

On note le besoin d'améliorer les connaissances fondamentales pour se servir des ASC de la manière la plus efficiente possible. La création d'un bio-composite (biomatériaux et ASC) doit permettre de revenir vers une homéostasie avec la recréation d'une architecture tissulaire la plus proche possible de l'initial. Compte tenu de la difficulté des nombreux tissus à régénérer, nous faisons l'hypothèse que les ASCs devraient être apportés sur site sans prédifférenciation, éventuellement

associées à d'autres types cellulaires comme des progéniteurs endothéliaux. L'utilisation de dérivés plaquettaires comme vecteur est également à étudier compte tenu des résultats obtenus au niveau d'injections intra articulaires de genou.

III.2.3 Influences du donneur sur les ASC

III.2.3.1 Paramètres physiologiques

Les paramètres physiologiques sont des états de santé particuliers qui relèvent du bon fonctionnement de l'organisme et regroupent l'âge, l'indice de masse corporel, le genre, la grossesse et la ménopause.

AGE

Article	Message principal
(168)	L'âge n'a pas d'impact sur l'isolation, la viabilité et la croissance cellulaire.
(169)	Diminution des marqueurs neuronaux avec l'âge.
(170)	L'âge augmente les traits de sénescence et altère la viabilité et le potentiel prolifératif des ASC.
(105)	L'âge diminue le potentiel prolifératif et la différenciation en adipocyte.
(171)	La diminution d'hydroxyméthylcytosine avec l'âge affecte la différenciation en adipocytes des ASC, et peut être compensé en culture par l'ajout de 5-azacytidine.
(172)	Diminution du potentiel angiogénique et de l'activité de la télomérase chez le sujet âgé – associé ou non à une pathologie de l'artère coronaire.
(173)	Altération de la production des ASC avec l'âge.
(174)	L'âge n'a aucun effet sur la production, ni la différenciation des ASC.
(175)	L'âge diminue la production et la capacité des ASC à s'agréger entre elles.
(131)	La diminution du potentiel angiogénique avec l'âge peut être compensé par l'hypoxie. Les autres potentialités des ASC sont conservées.
(176)	Le taux de sénescence, le temps de doublement et le nombre de passage en culture pour obtenir la dose adéquate d'ASC augmente.
(177)	Les ASC chez la personne âgée avec de l'ostéoporose sont moins affectées que les BM-MSc (comparaison concernant l'ostéodifférenciation et le taux de prolifération).
(178)	L'âge altère les potentiels de différenciation en adipocytes et ostéoblastes, mais pas la taille cellulaire ni les marqueurs de surfaces.
(179)	Perte du potentiel d'ostéodifférenciation avec l'âge.

Discussion

Il n'y a pas de consensus sur les effets de l'âge sur la fonction des ASC. Le sujet « âgé » est variable selon les études, le plus souvent compris entre 50 et 70 ans. Bien qu'il existe des

contradictions notables entre les auteurs, ces études nous apportent des éléments de réponse. Même chez le sujet âgé, il est toujours techniquement possible d'isoler des cellules viables, d'en obtenir un nombre conséquent après leur expansion et de les différencier en adipocyte-chondroblaste-ostéoblaste (168,174). On peut aussi les différencier en cellules neurales même si l'on observe une diminution des marqueurs neuronaux (169). La taille et les marqueurs de surfaces des ASC restent inchangés (178).

Cependant certains effets de l'âge sont indéniables.

Le taux de senescence s'accroît et l'activité de la télomérase diminue (170,172,176). Le potentiel prolifératif s'atténue, le temps de doublement est plus long (176). L'adipo- et l'ostéodifférenciation sont affectés (105,171,178,179) comme le potentiel angiogénique (131,172) et la capacité à s'agréger en corps 3D (175).

Mais ces effets ne sont pas inévitables.

Tout organisme subit les effets du temps et les ASC n'y dérogent pas. Il existe cependant des moyens pour booster les cellules du sujet âgé afin de pouvoir les utiliser lorsque le cas clinique et l'objectif thérapeutique le permettent. L'hypoxie permet de compenser la perte du potentiel angiogénique des ASC âgées (131). L'ajout de 5-azacytidine restaurerait la fonction adipogénique des ASC en culture (171). A noter que l'âge aurait moins d'incidence sur les ASC que sur les BM-MSc chez les patients ostéoporotiques (177).

Ainsi l'âge est à prendre en compte, ces effets peuvent être compensés par le milieu de culture, l'environnement. Il est à évaluer en fonction de l'objectif thérapeutique recherché. L'âge étant corrélé positivement avec la maladie parodontale et les dysfonctions immunitaires, la balance entre l'autologue et l'allogène doit être discutée chez le sujet âgé.

GENRE

Article	Message principal
(180)	Les femmes ont un meilleur taux de prolifération et des marqueurs de surfaces différents de l'homme lorsque l'on compare les ASC du tissu adipeux du genou
(179)	La femme connaît une perte du potentiel ostéoblastique dû à une modification du microenvironnement des ASC

Discussion

Selon certains auteurs, les ASC féminines ont un meilleur potentiel de prolifération que leurs homologues masculins (comparaison de *synovial fat pad* ASC), ainsi qu'une quantité plus importante de certains marqueurs de surface (180). De plus, on observe avec l'âge chez la femme une perte du potentiel ostéoblastique qui serait due à une modification du microenvironnement des ASC même si l'on regrette qu'il n'y ait pas de comparaison entre les genres dans cette étude (179).

Il n'y aurait donc pas de précautions particulières à prendre en fonction du genre.

D'autres études sont nécessaires.

IMC

Article	Message principal
(105)	Meilleur potentiel de différenciation adipo- et ostéo- lorsque l'IMC est élevé.
(173)	L'IMC n'influe pas sur la prolifération ni sur le rendement des ASC.

Discussion

L'indice de masse corporel permet de calculer les risques de surpoids, il s'obtient en divisant la masse par le carré de la taille. Si l'indice de masse corporel ne semble pas influencer sur le rendement ni le taux de prolifération, il est pourrait être positivement corrélé au potentiel de différenciation des ASC (173). Ces dernières ont une différenciation en adipocytes et en ostéoblastes supérieure lorsque l'IMC est entre 25 et 30 (comparé à un IMC inférieur à 25) (105). Le BMI n'influe que très peu sur les ASC mais qu'en est-il chez le sujet obèse dont le tissu adipeux est dans un état inflammatoire, en état d'hypoxie tissulaire avec des adipocytes

hypertrophiés et hyperplasiés ? Le microenvironnement cellulaire s'en trouve modifié, qu'en est-il des caractéristiques de ces ASC ? Sont-elles efficaces et utilisables pour une utilisation autologue ou doit on passer à de l'allogène ? De nombreuses études sont donc nécessaires, chez le modèle murin dans un premier temps afin d'apporter des éléments de réponse.

GROSSESSE

Article	Message principal
(50)	Aucun effet secondaire sur la grossesse chez les patientes atteintes de la maladie de Crohn préalablement traitées avec des ASC
(181)	La femme enceinte a un taux de prolifération des ASC amélioré, le potentiel de différenciation reste inchangé

Discussion

La femme enceinte a un taux de prolifération des ASC amélioré et le potentiel de différenciation reste inchangé (181).

Une étude rétrospective - sur les patientes préalablement traitées avec des ASC pour des fistules dans le cadre de la maladie de Crohn – n'a révélé aucune anomalie sur la fertilité, le cours de la grossesse, le poids et l'état physique du nouveau-né (50).

La grossesse ne semble pas contre-indiquer l'utilisation des ASC. Aucune étude ne relate l'usage des ASC en cours de grossesse. Les potentialités de ces cellules ne sont pas modifiées, seule la prolifération semble améliorée.

MENOPAUSE

Article	Message principal
(181)	Les variations hormonales survenant autour de la ménopause n'influent pas sur les ASC

Lors de la grossesse, le corps subit de nombreuses variations hormonales, de progestérone et d'estrogène. Or le taux de prolifération des ASC chez la femme enceinte est supérieur à son état physiologique. Cette étude sur la ménopause révèle que les variations hormonales n'influent pas sur les ASC (le taux de prolifération et les capacités de différenciation restent

inchangés) ; donc le taux d'estrogène ne semble pas agir directement sur le comportement de ces cellules (181).

Leur utilisation est donc possible avant - mais aussi après la ménopause. Le rôle de l'âge en conjonction des modifications hormonales nécessite d'être investigué.

Des liens sont clairement établis entre des états physiologiques et la survenue de la parodontite. Le sujet âgé est plus touché que le jeune, la femme plus que l'homme, le sujet obèse ou maigre plus que le normal, la femme enceinte est fréquemment atteinte de gingivorragies. Pourtant, en dehors de l'âge, les divers états physiologiques de santé ne semblent pas contre-indiquer l'utilisation des ASC ; car ils ne semblent que peu influencer les caractéristiques et propriétés des ASC. Un usage autologue est possible pour tous ces cas. Une réserve est à émettre chez le patient âgé ; dans ce cas il faut prendre en considération l'objectif thérapeutique en priorité.

Les données sont néanmoins encore insuffisantes, et d'autres études in-vivo et in-vitro sont nécessaires pour affiner ces données.

Aucune étude ne relate d'autres conditions spécifiques relatant l'hygiène de vie comme le tabac ou l'alcool.

III.2.3.2 Co-morbidités

Article	Pathologie	Message principal
(53)	Diabète de type 1	Rapport de cas : les co-infusions d'IL-ASC et de BM-ASC autologues offrent un meilleur contrôle de la glycémie que les allogènes.
(50)	Maladie de Crohn	Le traitement par ASC n'affecte pas le futur déroulement de la grossesse, ni l'état de santé du nouveau-né.
(182)	Diabète de type 1	Comparé au donneur sain, le patient diabétique possède des ASC capables de se différencier en cellules musculaires lisses mais son potentiel de différenciation est amoindri.

(103)	Ostéoarthrite	Les ASC issues du tissu adipeux du genou et les CSM infra patellaires ont des spécificités différentes bien qu'elles proviennent de la même région. Les ASC présentent un meilleur potentiel pour créer de l'os alors que les CSM ont un meilleur potentiel cartilagineux.
(183)	Cancer de la prostate	Reprogrammation néoplasique des ASC par l'environnement tumoral.
(57)	Paralysie progressive supra nucléaire	Rapport de cas : amélioration de l'état fonctionnel et ralentissement de la progression de la maladie chez un patient traité avec des injections d'ASC autologues.
(184)	Ossification du ligament longitudinal postérieur	Comparé au donneur sain, les ASC ont un meilleur potentiel ostéogénique. Les auteurs soulèvent la question : les ASC sont-elles un facteur causal de cette pathologie ?
(185)	Hernie ventrale	Ces ASC ont une activité vasculogénique diminuée.
(108)	Néoplasme urologique	Les ASC présentent les mêmes caractéristiques et propriétés que le patient sain, leur utilisation autologue serait possible.
(172)	Pathologie artère coronaire	Les ASC ont un potentiel angiogénique altéré, mais cela serait plus dû à l'âge qu'à une pathologie de l'artère coronaire.
(129)	Ostéoporose	Les ASC des patients âgés atteints d'ostéoporose ont des capacités d'angiogenèse et d'ostéogénèse diminuées ; qui peuvent être compensées par l'utilisation de forces tensiles cycliques en culture.
(52)	Diabète (adénome parathyroïdien)	Rapport de cas : une co-infusion d'IL-ASC et de BM-ASC a permis de stabiliser la maladie et de diminuer les quantités d'insuline nécessaire. Il s'agit d'une thérapeutique sûre et efficace selon les auteurs.
(54)	Diabète de type 1	Rapport de cas : une co-infusion d'IL-ASC et de BM-ASC allogéniques a permis de stabiliser la maladie et de diminuer les quantités d'insuline nécessaire chez deux patients.
(159)	Diabète de type 1 (insuffisance rénale terminale)	Rapport de cas : une transplantation rénale accompagné d'injections de co-infusion d'IL-ASC et de BM-ASC a été effectuée chez un patient. Le suivi a révélé une fonction de créatine et un taux d'hémoglobine glyquée stables.
(56)	Ostéoarthrite	Rapport de cas : injection d'ASC infra-patellaires autologues au niveau du genou avec amélioration de la fonction et réduction de la douleur chez les patients traités.
(167)	Cancer des ovaires	Les ASC saines ou provenant de patientes atteintes de cancer des ovaires sont utilisées comme vecteur du virus de la rougeole pour traiter cette pathologie. On observe chez les souris cancéreuses une amélioration significative de la survie.
(177)	Ostéoporose	Les ASC sont moins affectées par l'âge et les passages en culture en ce qui concerne la prolifération et le potentiel ostéogénique que les BM-ASC et sont préférables pour une utilisation autologue.
(161)	Ostéonécrose de la tête fémorale	Rapport de cas : 2 patients ayant subi une thérapie à base d'ASC ont re-synthétisé de l'os médullaire.
(55)	Maladies auto-immunes	Rapport de cas : perte de l'ouïe, sclérose en plaque, polyarthrite rhumatoïde, polymyosite, dermatite atopique L'isolation et la culture autologue des ASC de ces différents patients ne révèlent aucune anomalie et aucun effet secondaire n'a été relaté. L'usage de ces cellules serait sûr selon les auteurs.
(133)	Cancer du sein	Analyse <i>in vitro</i> des ASC sur la prolifération des cellules tumorales : action synergique et pro-proliférative des ASC sur ces cellules.
(186)	Cancer du sein	Les ASC agissent en synergie avec les cellules tumorales actives mais n'ont pas d'action sur les cellules tumorales inactives.
(187)	Maladie d'Huntington	Les ASC humaines de patient souffrant de MH n'ont pas eu d'effets sur

		la souris MH <i>in vivo</i> , bien qu'elles présentent les caractéristiques comparables à celles d'un donneur sain.
(58)	Treacher Collin syndrome	Rapport de cas : reconstruction bilatérale orbitozygomatique permise grâce à l'ingénierie tissulaire (ASC, BMP2, périoste, allogreffe osseuse).
(188)	Ischémie chronique des extrémités	Rapport de cas : mise en évidence des propriétés angiogéniques <i>in vivo</i> après transplantation d'ASC autologues.
(49)	Maladie de Crohn	Rapport de cas : la fermeture d'une fistule recto vaginale a été permise grâce à l'action d'ASC allogènes.
(189)	Myopathie de Duchenne	<i>In vivo</i> chez la souris, l'utilisation d'ASC a permis la réparation musculaire à long terme du muscle et l'amélioration de la circulation sanguine.
(48)	Maladie de Crohn	Rapport de cas : la fermeture d'une fistule a été obtenue grâce à des ASC autologues.

Discussion

Un certain nombre d'études montre que les pathologies du donneur modifient les caractéristiques et les propriétés des ASC.

Le patient diabétique présente une diminution de son potentiel de différenciation en cellules musculaires lisses (182) : ceci pourrait en partie expliquer que dans le cas d'un environnement ischémique qui nécessite une revascularisation, l'utilisation des ASC du patient diabétique serait à exclure. Même s'il ne s'agit probablement pas du seul mécanisme. Néanmoins elles restent indiquées pour leurs transdifférenciation en cellules sécrétrices d'insuline (51,52,54) . Dans le traitement du diabète, les ASC autologues permettent un meilleur effet thérapeutique que leurs homologues allogènes (53).

L'ostéo-arthrite, l'ostéonécrose et l'ostéoporose sont des pathologies dues principalement au vieillissement de l'organisme. Les ASC sont affectées par l'âge mais préservent leurs efficacités thérapeutiques. Dans certains cas, elles peuvent être potentialisées *in vitro* (56,103,129,161,177).

Chez le patient présentant un trouble qui génère l'ossification du ligament longitudinal postérieur, les capacités d'ostéogénèses des ASC sont même améliorées (184). *A contrario* dans la cas d'hernie ventrale, leur potentiel vasculogénique est montré altéré (185).

Cultivées sur différentes souches cancéreuses, les ASC ont montré un potentiel synergique et pro-prolifératif sur les cellules tumorales (133,186). Mais les ASC peuvent être utilisées comme vecteur pour apporter *in situ* des agents anticancéreux (167). Dans le cas du cancer

de la prostate, l'environnement tumoral entraîne une reprogrammation néoplasique des ASC autologues (183).

Des ASC humaines d'un donneur sain et de celles provenant d'un patient atteint de la maladie d'Huntington ont été administrées chez la souris-HD (souris-*Huntington disease*). Pour le premier on observe une amélioration de l'atrophie striatale mais pas pour le second, prouvant que même si les cellules de ces deux donneurs partagent les mêmes caractéristiques, elles n'ont pas la même fonctionnalité *in vivo*, avec une perte de la fonction pour les ASC-HD (187).

Comme nous l'avons abordé précédemment, les essais cliniques chez l'Homme ont déjà utilisé des ASC pour les pathologies suivantes : le diabète insulino-dépendant, la maladie de Crohn, la paralysie supra nucléaire progressive, l'ostéo-arthrite, l'ostéonécrose, l'ischémie chronique, les ulcères des membres inférieurs, la reconstitution après hémi-maxillectomie, le Treacher Collins syndrome et certains types de maladie auto-immunes. Les patients n'ont pas déclaré d'effets secondaires imputables aux ASC, et leurs états se sont significativement améliorés (48–59,161,188). Cependant nous regrettons l'absence de suivi à long terme. On peut se demander si ces pathologies se sont réellement stabilisées dans la durée, si une récurrence du traitement par ASC doit être observée ou non.

Si nous sommes en capacité de voir de nombreux patients présentant une parodontite avec des pathologies systémiques, force est de constater qu'il est encore difficile de dresser des recommandations quant à l'emploi des ASC pour une régénération parodontale. Le seul élément serait la tendance à vouloir utiliser les ASC de manière allogénique lorsque le patient présente un diabète depuis de nombreuses années.

Conclusion

Au regard de la complexité de l'étiopathogénie, de la physiopathologie de la maladie parodontale, de l'insuffisance de résultats des traitements proposés actuellement, de nouvelles thérapies doivent assurer un retour durable à l'homéostasie tissulaire. Afin d'obtenir une prise en charge adéquate de la destruction tissulaire, du facteur microbien et de l'inflammation (qui persiste après les traitements chirurgicaux), les médicaments de thérapies innovantes par ingénierie tissulaire et les ASC paraissent tout indiqués, face à cet enjeu.

On note que dans le cadre de cette étude, seuls les résumés des articles issus d'une stratégie de recherche (réalisée pour identifier le lien entre ASC et caractéristiques du donneur) ont été analysés. Ils contiennent les éléments principaux des recherches, mais ne permettent pas de juger de leur pertinence et de leur qualité. Bien entendu, la suite de ce travail nécessitera de lire les textes intégraux et de réaliser des recherches additionnelles.

Dans ce contexte, l'étude réalisée a permis de dégager plusieurs conclusions.

Les prélèvements abdominaux sont la source d'ASC semblant être la plus appropriée, plus étudiée et plus ergonomique pour l'instant. S'il existe un lien entre l'origine tissulaire et les propriétés des ASC dans un objectif de régénération parodontale, aucun lien n'a été établi. Compte tenu de leur origine embryologique, mais aussi de caractéristiques intrinsèques particulières suggérées récemment, les ASC provenant du corps adipeux de la bouche seraient exploitables mais de nombreuses études sont nécessaires pour l'étudier.

Le milieu de culture : les lysats plaquettaires sont des alternatives au sérum animal. Une utilisation de pools de sera allogéniques est tout à fait envisageable et pertinent. Il permet aux laboratoires de disposer directement du milieu de culture adéquat, et évite les étapes d'obtention pour chaque patient.

Une potentialisation préalable des cellules : les cellules pourraient être prédifférenciées et/ou potentialisées *in-vitro* avant leur greffe.

Plusieurs moyens permettent une prédifférenciation des ASC. Cependant, des cémentoblastes ou des cellules desmodontales n'ont pas été obtenues *in vitro*. De plus, l'utilisation de facteurs de croissance va poser des problèmes au niveau des autorités régulatrices, pour une telle pathologie à faible morbidité/mortalité.

Compte tenu de la physiopathologie complexe des parodontites, de nouvelles pistes de recherches sont à considérer. Il serait plus judicieux de garder le potentiel multipotent des ASC et de ne pas les prédifférencier. Néanmoins, il faut avoir l'esprit que l'apport parodontal des cellules se réalisera dans un environnement de stress hypoxique (voire anoxique), de stress nutritif, avec une inflammation et infection résiduelles. Un pré-conditionnement hypoxique des cellules et un biomatériau capable de reverser le problème nutritif sont à étudier.

Les pathologies des donneurs et des receveurs : les caractéristiques physiopathologiques du donneur sont à considérer en priorité. L'étude a montré qu'un état physiologique particulier (comme l'âge qui altère les capacités des cellules), ou un état pathologique (comme le diabète qui modifie certaines propriétés comme l'angiogénèse) peut altérer les propriétés des ASC et donc les effets thérapeutiques attendus comme cela peut être le cas pour un patient diabétique avec une territoire parodontal hypoxique. Dans certains cas il serait préférable de greffer des cellules allogènes (contrôlées et dont la production est standardisée à partir d'un donneur sain) et dans d'autres cas de potentialiser *in vitro* les ASC autologues pour restaurer leurs fonctions. L'avantage de disposer de cellules allogéniques serait d'avoir un mécanisme d'élimination progressif des cellules greffées par l'hôte. Nous pensons néanmoins que la greffe autologue sera pour l'instant la plus facile à justifier auprès des autorités de santé pour le parodonte.

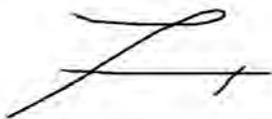
En ce qui concerne les sujets diabétiques âgés, l'utilisation de cellules allogéniques se discute. Dans les deux cas, une réflexion est à engager sur la cryopréservation des cellules.

Préserve-t-elle tout le potentiel régénératif sur le parodonte ? Si c'est le cas, quelle stimulation devons-nous réaliser pour les potentialiser ? Auront-elles la même efficacité thérapeutique ?

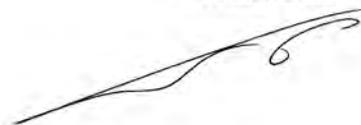
Les éléments publiés sont encore trop limités et ne nous ont pas permis de dégager plus d'éléments probants. A la vue des études en cours, nul ne doute que dans les années à venir nous serons en mesure de déterminer un profil de donneur idéal qui puisse nous permettre d'évaluer précisément la balance entre une greffe autologue ou allogène. Des allers-retours entre connaissances fondamentales et résultats obtenus *in vivo* sont indispensables dans le but d'obtenir une prise en charge optimisée des conséquences de la maladie parodontale et de maîtriser toute la chaîne translationnelle. Même si des essais cliniques sont actuellement en cours ou terminés, les résultats des suivis à long terme seront à analyser. Des réflexions sont à mener en intégrant les facteurs coût (accessibilité pour le patient et remboursement des organismes sociaux) et le facteur pathologie à faible morbidité et mortalité (avec tous les risques de diffusion et transformation des cellules greffées à distance du parodonte).

De nombreux espoirs résident dans ces recherches futures afin de développer un MTI pour la prise en charge des parodontites, de manière fiable, durable et reproductible.

Le directeur de thèse
Dr Paul Monsarrat



Le président
Pr Philippe Kémoun



Bibliographie

1. Les médicaments de thérapie innovante (MTI, ATMP) - ANSM : Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé [Internet]. [cité 8 févr 2016]. Disponible sur: [http://ansm.sante.fr/L-ANSM2/Medicaments-de-therapie-innovante-et-preparations-cellulaires-a-finalite-therapeutique/Les-medicaments-de-therapie-innovante-MTI-ATMP/\(offset\)/4](http://ansm.sante.fr/L-ANSM2/Medicaments-de-therapie-innovante-et-preparations-cellulaires-a-finalite-therapeutique/Les-medicaments-de-therapie-innovante-MTI-ATMP/(offset)/4)
2. Les trois types de produits : les MTI, les MTI-PP et les préparations - ANSM : Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé [Internet]. [cité 8 févr 2016]. Disponible sur: [http://ansm.sante.fr/L-ANSM2/Medicaments-de-therapie-innovante-et-preparations-cellulaires-a-finalite-therapeutique/Les-trois-types-de-produits-les-MTI-les-MTI-PP-et-les-preparations/\(offset\)/2](http://ansm.sante.fr/L-ANSM2/Medicaments-de-therapie-innovante-et-preparations-cellulaires-a-finalite-therapeutique/Les-trois-types-de-produits-les-MTI-les-MTI-PP-et-les-preparations/(offset)/2)
3. Tatullo M, Marrelli M, Paduano F. The regenerative medicine in oral and maxillofacial surgery: the most important innovations in the clinical application of mesenchymal stem cells. *Int J Med Sci.* 2015;12(1):72-7.
4. Dvir T, Timko BP, Kohane DS, Langer R. Nanotechnological strategies for engineering complex tissues. *Nat Nanotechnol.* janv 2011;6(1):13-22.
5. Qu'est-ce que la médecine régénératrice [Internet]. CellCAN. [cité 13 janv 2016]. Disponible sur: [//www.cellcan.com](http://www.cellcan.com)
6. Etude Leem Thérapie Cellulaire - 1473.pdf [Internet]. [cité 8 févr 2016]. Disponible sur: <http://www.leem.org/sites/default/files/1473.pdf>
7. CellCAN - Le point sur les traitements disponibles [Internet]. CellCAN. [cité 13 janv 2016]. Disponible sur: [//www.cellcan.com](http://www.cellcan.com)
8. Cellules souches et thérapie cellulaire [Internet]. [cité 13 janv 2016]. Disponible sur: <http://www.inserm.fr/thematiques/immunologie-inflammation-infectiologie-et-microbiologie/dossiers-d-information/cellules-souches-et-therapie-cellulaire>
9. Projet de loi de financement de la sécurité sociale pour 2015 : Assurance maladie

[Internet]. [cité 13 janv 2016]. Disponible sur: <http://www.senat.fr/rap/l14-083-2/l14-083-22.html>

10. Alison MR, Poulsom R, Forbes S, Wright NA. An introduction to stem cells. *J Pathol.* juill 2002;197(4):419-23.
11. Wobus AM, Boheler KR. Embryonic stem cells: prospects for developmental biology and cell therapy. *Physiol Rev.* avr 2005;85(2):635-78.
12. Les états généraux de la bioéthique - La recherche sur les cellules souches et l'embryon - Que dit la loi? [Internet]. [cité 14 janv 2016]. Disponible sur: <http://www.etatsgenerauxdelabioethique.fr/la-recherche-sur-les-cellules-souches-et-l-embryon/1239819602-que-dit-la-loi.html>
13. Takahashi K, Tanabe K, Ohnuki M, Narita M, Ichisaka T, Tomoda K, et al. Induction of Pluripotent Stem Cells from Adult Human Fibroblasts by Defined Factors. *Cell.* 30 nov 2007;131(5):861-72.
14. Mariano ED, Teixeira MJ, Marie SKN, Lepski G. Adult stem cells in neural repair: Current options, limitations and perspectives. *World J Stem Cells.* 26 mars 2015;7(2):477-82.
15. Greenow K, Clarke AR. Controlling the Stem Cell Compartment and Regeneration In Vivo: The Role of Pluripotency Pathways. *Physiol Rev.* 1 janv 2012;92(1):75-99.
16. Hauser SL. Hematopoietic stem cell transplantation for MS: extraordinary evidence still needed. *JAMA.* 20 janv 2015;313(3):251-2.
17. Friedenstein AJ, Chailakhjan RK, Lalykina KS. The development of fibroblast colonies in monolayer cultures of guinea-pig bone marrow and spleen cells. *Cell Tissue Kinet.* oct 1970;3(4):393-403.
18. Squillaro T, Hayek G, Farina E, Cipollaro M, Renieri A, Galderisi U. A case report: bone marrow mesenchymal stem cells from a Rett syndrome patient are prone to senescence and show a lower degree of apoptosis. *J Cell Biochem.* 15 avr 2008;103(6):1877-85.

19. Dominici M, Le Blanc K, Mueller I, Slaper-Cortenbach I, Marini F, Krause D, et al. Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy position statement. *Cytotherapy*. 2006;8(4):315-7.
20. Smith A. A glossary for stem-cell biology. *Nature*. 29 juin 2006;441(7097):1060-1060.
21. Bourin P, Bunnell BA, Casteilla L, Dominici M, Katz AJ, March KL, et al. 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*. juin 2013;15(6):641-8.
22. Mummery C, Stolpe A van de, Roelen B, Clevers H. *Stem Cells: Scientific Facts and Fiction*. Academic Press; 2014. 446 p.
23. Baer PC. Adipose-derived mesenchymal stromal/stem cells: An update on their phenotype in vivo and in vitro. *World J Stem Cells*. 26 juill 2014;6(3):256-65.
24. Monsarrat P, Vergnes JN, Planat-Bénard V, Ravaud P, Kemoun P, Sensebé L, Casteilla L (2016). An innovative, comprehensive mapping and multi-scale analysis of registered trials for stem cell based regenerative medicine. *Stem Cells Translational Medicine*. Accepted.
25. Monsarrat P. *Cellules souches, médecine régénérative et régénération parodontale*. Université Paul Sabatier Toulouse III; 2016.
26. Caplan AI. All MSCs Are Pericytes? *Cell Stem Cell*. 11 sept 2008;3(3):229-30.
27. Crisan M, Yap S, Casteilla L, Chen C-W, Corselli M, Park TS, et al. A Perivascular Origin for Mesenchymal Stem Cells in Multiple Human Organs. *Cell Stem Cell*. 11 sept 2008;3(3):301-13.
28. Bertheuil N, Chaput B, Ménard C, Varin A, Garrido I, Grolleau JL, et al. [Adipose-derived stromal cells: history, isolation, immunomodulatory properties and clinical perspectives]. *Ann Chir Plast Esthét*. avr 2015;60(2):94-102.
29. Bernardo ME, Fibbe WE. Mesenchymal stromal cells: sensors and switchers of

inflammation. *Cell Stem Cell*. 3 oct 2013;13(4):392-402.

30. Crop MJ, Korevaar SS, de Kuiper R, IJzermans JNM, van Besouw NM, Baan CC, et al. Human mesenchymal stem cells are susceptible to lysis by CD8(+) T cells and NK cells. *Cell Transplant*. 2011;20(10):1547-59.

31. Adutler-Lieber S, Ben-Mordechai T, Naftali-Shani N, Asher E, Loberman D, Raanani E, et al. Human macrophage regulation via interaction with cardiac adipose tissue-derived mesenchymal stromal cells. *J Cardiovasc Pharmacol Ther*. janv 2013;18(1):78-86.

32. Crop MJ, Baan CC, Korevaar SS, IJzermans JNM, Pescatori M, Stubbs AP, et al. Inflammatory conditions affect gene expression and function of human adipose tissue-derived mesenchymal stem cells. *Clin Exp Immunol*. déc 2010;162(3):474-86.

33. Laschke MW, Schank TE, Scheuer C, Kleer S, Schuler S, Metzger W, et al. Three-dimensional spheroids of adipose-derived mesenchymal stem cells are potent initiators of blood vessel formation in porous polyurethane scaffolds. *Acta Biomater*. juin 2013;9(6):6876-84.

34. Planat-Benard V. Plasticity of Human Adipose Lineage Cells Toward Endothelial Cells: Physiological and Therapeutic Perspectives. *Circulation*. 10 févr 2004;109(5):656-63.

35. Moon MH, Kim SY, Kim YJ, Kim SJ, Lee JB, Bae YC, et al. Human Adipose Tissue-Derived Mesenchymal Stem Cells Improve Postnatal Neovascularization in a Mouse Model of Hindlimb Ischemia. *Cell Physiol Biochem*. 2006;17(5-6):279-90.

36. Zubkova ES, Beloglazova IB, Makarevich PI, Boldyreva MA, Sukhareva OY, Shestakova MV, et al. Regulation of Adipose Tissue Stem Cells Angiogenic Potential by Tumor Necrosis Factor-Alpha. *J Cell Biochem*. 20 juin 2015;

37. Meirelles L da S, Fontes AM, Covas DT, Caplan AI. Mechanisms involved in the therapeutic properties of mesenchymal stem cells. *Cytokine Growth Factor Rev*. déc 2009;20(5-6):419-27.

38. Valencia Mora M, Antuña Antuña S, García Arranz M, Carrascal MT, Barco R. Application of adipose tissue-derived stem cells in a rat rotator cuff repair model. *Injury*. oct

2014;45 Suppl 4:S22-7.

39. Hass R, Kasper C, Böhm S, Jacobs R. Different populations and sources of human mesenchymal stem cells (MSC): A comparison of adult and neonatal tissue-derived MSC. *Cell Commun Signal CCS*. 14 mai 2011;9:12.
40. Romagnoli C, Brandi ML. Adipose mesenchymal stem cells in the field of bone tissue engineering. *World J Stem Cells*. 26 avr 2014;6(2):144-52.
41. de la Garza-Rodea AS, van der Velde-van Dijke I, Boersma H, Gonçalves MAFV, van Bekkum DW, de Vries AAF, et al. Myogenic properties of human mesenchymal stem cells derived from three different sources. *Cell Transplant*. 2012;21(1):153-73.
42. Vishnubalaji R, Al-Nbaheen M, Kadalmani B, Aldahmash A, Ramesh T. Comparative investigation of the differentiation capability of bone-marrow- and adipose-derived mesenchymal stem cells by qualitative and quantitative analysis. *Cell Tissue Res*. févr 2012;347(2):419-27.
43. Zhang H-T, Liu Z-L, Yao X-Q, Yang Z-J, Xu R-X. Neural differentiation ability of mesenchymal stromal cells from bone marrow and adipose tissue: a comparative study. *Cytotherapy*. nov 2012;14(10):1203-14.
44. Jansen BJH, Gilissen C, Roelofs H, Schaap-Oziemlak A, Veltman JA, Raymakers RAP, et al. Functional differences between mesenchymal stem cell populations are reflected by their transcriptome. *Stem Cells Dev*. avr 2010;19(4):481-90.
45. Cavallo C, Cuomo C, Fantini S, Ricci F, Tazzari PL, Lucarelli E, et al. Comparison of alternative mesenchymal stem cell sources for cell banking and musculoskeletal advanced therapies. *J Cell Biochem*. mai 2011;112(5):1418-30.
46. Dmitrieva RI, Minullina IR, Bilibina AA, Tarasova OV, Anisimov SV, Zaritskey AY. Bone marrow- and subcutaneous adipose tissue-derived mesenchymal stem cells: differences and similarities. *Cell Cycle Georget Tex*. 15 janv 2012;11(2):377-83.
47. Rebelatto CK, Aguiar AM, Moretão MP, Senegaglia AC, Hansen P, Barchiki F, et al. Dissimilar differentiation of mesenchymal stem cells from bone marrow, umbilical cord blood,

and adipose tissue. *Exp Biol Med* Maywood NJ. juill 2008;233(7):901-13.

48. García-Olmo D, García-Arranz M, Herreros D, Pascual I, Peiro C, Rodríguez-Montes JA. A phase I clinical trial of the treatment of Crohn's fistula by adipose mesenchymal stem cell transplantation. *Dis Colon Rectum*. juill 2005;48(7):1416-23.

49. García-Olmo D, Herreros D, De-La-Quintana P, Guadalajara H, Trébol J, Georgiev-Hristov T, et al. Adipose-derived stem cells in Crohn's rectovaginal fistula. *Case Rep Med*. 2010;2010:961758.

50. Sanz-Baro R, García-Arranz M, Guadalajara H, de la Quintana P, Herreros MD, García-Olmo D. First-in-Human Case Study: Pregnancy in Women With Crohn's Perianal Fistula Treated With Adipose-Derived Stem Cells: A Safety Study. *Stem Cells Transl Med*. juin 2015;4(6):598-602.

51. Dave SD, Vanikar AV, Trivedi HL. Co-infusion of adipose tissue derived mesenchymal stem cell-differentiated insulin-making cells and haematopoietic cells with renal transplantation: a novel therapy for type 1 diabetes mellitus with end-stage renal disease. *BMJ Case Rep*. 2013;2013.

52. Thakkar UG, Vanikar AV, Trivedi HL. Co-infusion of autologous adipose tissue derived insulin-secreting mesenchymal stem cells and bone marrow derived hematopoietic stem cells: viable therapy for type III.C. a diabetes mellitus. *Biomed J*. déc 2013;36(6):304-7.

53. Thakkar UG, Trivedi HL, Vanikar AV, Dave SD. Insulin-secreting adipose-derived mesenchymal stromal cells with bone marrow-derived hematopoietic stem cells from autologous and allogenic sources for type 1 diabetes mellitus. *Cytotherapy*. juill 2015;17(7):940-7.

54. Dave SD, Trivedi HL, Chooramani SG, Chandra T. Management of type 1 diabetes mellitus using in vitro autologous adipose tissue trans-differentiated insulin-making cells. *BMJ Case Rep*. 2013;2013.

55. Ra JC, Kang SK, Shin IS, Park HG, Joo SA, Kim JG, et al. Stem cell treatment for patients with autoimmune disease by systemic infusion of culture-expanded autologous

adipose tissue derived mesenchymal stem cells. *J Transl Med.* 2011;9:181.

56. Koh Y-G, Jo S-B, Kwon O-R, Suh D-S, Lee S-W, Park S-H, et al. Mesenchymal stem cell injections improve symptoms of knee osteoarthritis. *Arthrosc J Arthrosc Relat Surg Off Publ Arthrosc Assoc N Am Int Arthrosc Assoc.* avr 2013;29(4):748-55.

57. Choi SW, Park KB, Woo SK, Kang SK, Ra JC. Treatment of progressive supranuclear palsy with autologous adipose tissue-derived mesenchymal stem cells: a case report. *J Med Case Reports.* 2014;8:87.

58. Taylor JA. Bilateral orbitozygomatic reconstruction with tissue-engineered bone. *J Craniofac Surg.* sept 2010;21(5):1612-4.

59. Mesimäki K, Lindroos B, Törnwall J, Mauno J, Lindqvist C, Kontio R, et al. Novel maxillary reconstruction with ectopic bone formation by GMP adipose stem cells. *Int J Oral Maxillofac Surg.* mars 2009;38(3):201-9.

60. Ouhayoun J-P. Le traitement parodontal/en omnipratique. Quintessence International. 2012.

61. Pihlstrom BL, Michalowicz BS, Johnson NW. Periodontal diseases. *Lancet Lond Engl.* 19 nov 2005;366(9499):1809-20.

62. Clauzade M, Marty J-P. Orthoposturodentie. SEOO Editeur Perpignan; 1998.

63. Armitage GC. Learned and unlearned concepts in periodontal diagnostics: a 50-year perspective. *Periodontol 2000.* juin 2013;62(1):20-36.

64. Darveau RP. Periodontitis: a polymicrobial disruption of host homeostasis. *Nat Rev Microbiol.* juill 2010;8(7):481-90.

65. Van der Velden U, Abbas F, Armand S, Loos BG, Timmerman MF, Van der Weijden GA, et al. Java project on periodontal diseases. The natural development of periodontitis: risk factors, risk predictors and risk determinants. *J Clin Periodontol.* août 2006;33(8):540-8.

66. B.L. Pihlstrom, B.S. Michalowicz, and N.W. Johnson (2005). Periodontal diseases. *Lancet* 366, 1809-20.

67. Zhou X, Zhang W, Liu X, Zhang W, Li Y. Interrelationship between diabetes and

periodontitis: role of hyperlipidemia. *Arch Oral Biol.* avr 2015;60(4):667-74.

68. Genco RJ, Van Dyke TE. Prevention: Reducing the risk of CVD in patients with periodontitis. *Nat Rev Cardiol.* sept 2010;7(9):479-80.

69. Kobschull M, Demmer RT, Papapanou PN. « Gum bug, leave my heart alone! »-- epidemiologic and mechanistic evidence linking periodontal infections and atherosclerosis. *J Dent Res.* sept 2010;89(9):879-902.

70. Lundberg K, Wegner N, Yucel-Lindberg T, Venables PJ. Periodontitis in RA-the citrullinated enolase connection. *Nat Rev Rheumatol.* déc 2010;6(12):727-30.

71. Genco RJ, Løe H. The role of systemic conditions and disorders in periodontal disease. *Periodontol 2000.* juin 1993;2:98-116.

72. Klein RS, Quart AM, Small CB. Periodontal Disease in Heterosexuals With Acquired Immunodeficiency Syndrome. *J Periodontol.* 1 août 1991;62(8):535-40.

73. Izumi Y, Sugiyama S, Shinozuka O, Yamazaki T, Ohyama T, Ishikawa I. Defective neutrophil chemotaxis in Down's syndrome patients and its relationship to periodontal destruction. *J Periodontol.* mai 1989;60(5):238-42.

74. Whitmore SE, Lamont RJ. Oral bacteria and cancer. *PLoS Pathog.* mars 2014;10(3):e1003933.

75. Madianos PN, Bobetsis YA, Offenbacher S. Adverse pregnancy outcomes (APOs) and periodontal disease: pathogenic mechanisms. *J Periodontol.* avr 2013;84(4 Suppl):S170-80.

76. Martande SS, Pradeep AR, Singh SP, Kumari M, Suke DK, Raju AP, et al. Periodontal health condition in patients with Alzheimer's disease. *Am J Alzheimers Dis Other Demen.* sept 2014;29(6):498-502.

77. Gaur S, Agnihotri R. Alzheimer's disease and chronic periodontitis: is there an association? *Geriatr Gerontol Int.* avr 2015;15(4):391-404.

78. Badran Z, Struillou X, Verner C, Clee T, Rakic M, Martinez MC, et al. Periodontitis as

a risk factor for systemic disease: Are microparticles the missing link? *Med Hypotheses*. juin 2015;84(6):555-6.

79. Socransky SS, Haffajee AD, Cugini MA, Smith C, Kent RL. Microbial complexes in subgingival plaque. *J Clin Periodontol*. févr 1998;25(2):134-44.

80. Page RC, Kornman KS. The pathogenesis of human periodontitis: an introduction. *Periodontol 2000*. juin 1997;14:9-11.

81. Charon J. *Parodontologie Médicale. Innovations cliniques. 2^{ème} édition. éditions CdP. 2009.*

82. Van Winkelhoff AJ, Boutaga K. Transmission of periodontal bacteria and models of infection. *J Clin Periodontol*. 2005;32 Suppl 6:16-27.

83. Silva N, Abusleme L, Bravo D, Dutzan N, Garcia-Sesnich J, Vernal R, et al. Host response mechanisms in periodontal diseases. *J Appl Oral Sci Rev FOB*. juin 2015;23(3):329-55.

84. Bosshardt DD, Sculean A. Does periodontal tissue regeneration really work? *Periodontol 2000*. 2009;51:208-19.

85. Beirne P, Forgie A, Worthington HV, Clarkson JE. Routine scale and polish for periodontal health in adults. *Cochrane Database Syst Rev*. 2005;(1):CD004625.

86. Renz A, Ide M, Newton T, Robinson PG, Smith D. Psychological interventions to improve adherence to oral hygiene instructions in adults with periodontal diseases. *Cochrane Database Syst Rev*. 2007;(2):CD005097.

87. Van Leeuwen MPC, Slot DE, Van der Weijden GA. Essential oils compared to chlorhexidine with respect to plaque and parameters of gingival inflammation: a systematic review. *J Periodontol*. févr 2011;82(2):174-94.

88. Haffajee AD. Systemic antibiotics: to use or not to use in the treatment of periodontal infections. That is the question. *J Clin Periodontol*. mai 2006;33(5):359-61.

89. Karimbux NY, Saraiya VM, Elangovan S, Allareddy V, Kinnunen T, Kornman KS, et al. Interleukin-1 gene polymorphisms and chronic periodontitis in adult whites: a systematic

review and meta-analysis. *J Periodontol.* nov 2012;83(11):1407-19.

90. Wu X, Offenbacher S, López NJ, Chen D, Wang H-Y, Rogus J, et al. Association of interleukin-1 gene variations with moderate to severe chronic periodontitis in multiple ethnicities. *J Periodontal Res.* févr 2015;50(1):52-61.

91. Molander B, Ahlqwist M, Gröndahl HG. Panoramic and restrictive intraoral radiography in comprehensive oral radiographic diagnosis. *Eur J Oral Sci.* août 1995;103(4):191-8.

92. Sato N. *Atlas Clinique de Chirurgie Parodontale.* Quintessence International. 2002.

93. Needleman IG, Worthington HV, Giedrys-Leeper E, Tucker RJ. Guided tissue regeneration for periodontal infra-bony defects. *Cochrane Database Syst Rev.* 2006;(2):CD001724.

94. Esposito M, Grusovin MG, Papanikolaou N, Coulthard P, Worthington HV. Enamel matrix derivative (Emdogain(R)) for periodontal tissue regeneration in intrabony defects. *Cochrane Database Syst Rev.* 2009;(4):CD003875.

95. Borghetti, Monnet-Corti. *Chirurgie plastique parodontale.* CdP.

96. Murphy MB, Moncivais K, Caplan AI. Mesenchymal stem cells: environmentally responsive therapeutics for regenerative medicine. *Exp Mol Med.* 2013;45:e54.

97. Shin L, Peterson DA. Human mesenchymal stem cell grafts enhance normal and impaired wound healing by recruiting existing endogenous tissue stem/progenitor cells. *Stem Cells Transl Med.* janv 2013;2(1):33-42.

98. Monsarrat P, Vergnes J-N, Nabet C, Sixou M, Snead ML, Planat-Bénard V, et al. Concise review: mesenchymal stromal cells used for periodontal regeneration: a systematic review. *Stem Cells Transl Med.* juin 2014;3(6):768-74.

99. Merceron C, Vinatier C, Clouet J, Collic-Jouault S, Weiss P, Guicheux J. Cellules souches mésenchymateuses du tissu adipeux et biomatériaux pour l'ingénierie tissulaire du cartilage. *Rev Rhum.* nov 2008;75(10-11):942-4.

100. Salimian Rizi B, Caneba C, Nowicka A, Nabiyyar AW, Liu X, Chen K, et al. Nitric oxide

mediates metabolic coupling of omentum-derived adipose stroma to ovarian and endometrial cancer cells. *Cancer Res.* 15 janv 2015;75(2):456-71.

101. Martins TM da M, de Paula ACC, Gomes DA, Goes AM. Alkaline phosphatase expression/activity and multilineage differentiation potential are the differences between fibroblasts and orbital fat-derived stem cells--a study in animal serum-free culture conditions. *Stem Cell Rev.* oct 2014;10(5):697-711.

102. Wang X, Zhang H, Nie L, Xu L, Chen M, Ding Z. Myogenic differentiation and reparative activity of stromal cells derived from pericardial adipose in comparison to subcutaneous origin. *Stem Cell Res Ther.* 2014;5(4):92.

103. Lopa S, Colombini A, Stanco D, de Girolamo L, Sansone V, Moretti M. Donor-matched mesenchymal stem cells from knee infrapatellar and subcutaneous adipose tissue of osteoarthritic donors display differential chondrogenic and osteogenic commitment. *Eur Cell Mater.* 2014;27:298-311.

104. Russo V, Yu C, Belliveau P, Hamilton A, Flynn LE. Comparison of human adipose-derived stem cells isolated from subcutaneous, omental, and intrathoracic adipose tissue depots for regenerative applications. *Stem Cells Transl Med.* févr 2014;3(2):206-17.

105. Yang HJ, Kim K-J, Kim MK, Lee SJ, Ryu YH, Seo BF, et al. The stem cell potential and multipotency of human adipose tissue-derived stem cells vary by cell donor and are different from those of other types of stem cells. *Cells Tissues Organs.* 2014;199(5-6):373-83.

106. Padoin AV, Braga-Silva J, Martins P, Rezende K, Rezende AR da R, Grechi B, et al. Sources of processed lipoaspirate cells: influence of donor site on cell concentration. *Plast Reconstr Surg.* août 2008;122(2):614-8.

107. Fraser JK, Wulur I, Alfonso Z, Zhu M, Wheeler ES. Differences in stem and progenitor cell yield in different subcutaneous adipose tissue depots. *Cytotherapy.* 2007;9(5):459-67.

108. García-Contreras M, Vera-Donoso CD, Hernández-Andreu JM, García-Verdugo JM, Oltra E. Therapeutic potential of human adipose-derived stem cells (ADSCs) from cancer

patients: a pilot study. *PloS One*. 2014;9(11):e113288.

109. Farré-Guasch E, Martí-Pagè C, Hernández-Alfaro F, Klein-Nulend J, Casals N. Buccal fat pad, an oral access source of human adipose stem cells with potential for osteochondral tissue engineering: an in vitro study. *Tissue Eng Part C Methods*. oct 2010;16(5):1083-94.

110. Ibatici A, Caviggioli F, Valeriano V, Quirici N, Sessarego N, Lisa A, et al. Comparison of cell number, viability, phenotypic profile, clonogenic, and proliferative potential of adipose-derived stem cell populations between centrifuged and noncentrifuged fat. *Aesthetic Plast Surg*. oct 2014;38(5):985-93.

111. Pfaff M, Wu W, Zellner E, Steinbacher DM. Processing technique for lipofilling influences adipose-derived stem cell concentration and cell viability in lipoaspirate. *Aesthetic Plast Surg*. févr 2014;38(1):224-9.

112. Francis MP, Sachs PC, Elmore LW, Holt SE. Isolating adipose-derived mesenchymal stem cells from lipoaspirate blood and saline fraction. *Organogenesis*. mars 2010;6(1):11-4.

113. Hsu S-H, Hsieh P-S. Self-assembled adult adipose-derived stem cell spheroids combined with biomaterials promote wound healing in a rat skin repair model. *Wound Repair Regen Off Publ Wound Heal Soc Eur Tissue Repair Soc*. févr 2015;23(1):57-64.

114. Jeon B-J, Yang Y, Kyung Shim S, Yang H-M, Cho D, Ik Bang S. Thymosin beta-4 promotes mesenchymal stem cell proliferation via an interleukin-8-dependent mechanism. *Exp Cell Res*. 15 oct 2013;319(17):2526-34.

115. Allahverdiyev AM, Baydar SY, Bagirova M, Findikli N. Microcapillary culture method: a novel tool for in vitro expansion of stem cells from scarce sources. *Arch Med Res*. août 2012;43(6):423-30.

116. Bieback K, Hecker A, Schlechter T, Hofmann I, Brousos N, Redmer T, et al. Replicative aging and differentiation potential of human adipose tissue-derived mesenchymal stromal cells expanded in pooled human or fetal bovine serum. *Cytotherapy*. mai 2012;14(5):570-83.

117. Zonca M, Mancheño-Corvo P, DelaRosa O, Mañes S, Büscher D, Lombardo E, et al.

APRIL and BAFF proteins increase proliferation of human adipose-derived stem cells through activation of Erk1/2 MAP kinase. *Tissue Eng Part A*. avr 2012;18(7-8):852-9.

118. Santos F dos, Andrade PZ, Abecasis MM, Gimble JM, Chase LG, Campbell AM, et al. Toward a clinical-grade expansion of mesenchymal stem cells from human sources: a microcarrier-based culture system under xeno-free conditions. *Tissue Eng Part C Methods*. déc 2011;17(12):1201-10.

119. Chieragato K, Castegnaro S, Madeo D, Astori G, Pegoraro M, Rodeghiero F. Epidermal growth factor, basic fibroblast growth factor and platelet-derived growth factor-bb can substitute for fetal bovine serum and compete with human platelet-rich plasma in the ex vivo expansion of mesenchymal stromal cells derived from adipose tissue. *Cytotherapy*. sept 2011;13(8):933-43.

120. Shih DT-B, Chen J-C, Chen W-Y, Kuo Y-P, Su C-Y, Burnouf T. Expansion of adipose tissue mesenchymal stromal progenitors in serum-free medium supplemented with virally inactivated allogeneic human platelet lysate. *Transfusion (Paris)*. avr 2011;51(4):770-8.

121. Horn P, Bokermann G, Cholewa D, Bork S, Walenda T, Koch C, et al. Impact of individual platelet lysates on isolation and growth of human mesenchymal stromal cells. *Cytotherapy*. nov 2010;12(7):888-98.

122. Wang Y, Zhao L, Hantash BM. Support of human adipose-derived mesenchymal stem cell multipotency by a poloxamer-octapeptide hybrid hydrogel. *Biomaterials*. juill 2010;31(19):5122-30.

123. Xiao Y, Peperzak V, van Rijn L, Borst J, de Bruijn JD. Dexamethasone treatment during the expansion phase maintains stemness of bone marrow mesenchymal stem cells. *J Tissue Eng Regen Med*. juill 2010;4(5):374-86.

124. Blande IS, Bassaneze V, Lavini-Ramos C, Fae KC, Kalil J, Miyakawa AA, et al. Adipose tissue mesenchymal stem cell expansion in animal serum-free medium supplemented with autologous human platelet lysate. *Transfusion (Paris)*. déc 2009;49(12):2680-5.

125. Wolbank S, Stadler G, Peterbauer A, Gillich A, Karbiener M, Streubel B, et al. Telomerase immortalized human amnion- and adipose-derived mesenchymal stem cells: maintenance of differentiation and immunomodulatory characteristics. *Tissue Eng Part A*. juill 2009;15(7):1843-54.
126. Schuh CMAP, Heher P, Weihs AM, Banerjee A, Fuchs C, Gabriel C, et al. In vitro extracorporeal shock wave treatment enhances stemness and preserves multipotency of rat and human adipose-derived stem cells. *Cytotherapy*. déc 2014;16(12):1666-78.
127. Bogdanova-Jatniece A, Berzins U, Kozlovska T. Growth Properties and Pluripotency Marker Expression of Spontaneously Formed Three-dimensional Aggregates of Human Adipose-derived Stem Cells. *Int J Stem Cells*. nov 2014;7(2):143-52.
128. Fotia C, Massa A, Boriani F, Baldini N, Granchi D. Hypoxia enhances proliferation and stemness of human adipose-derived mesenchymal stem cells. *Cytotechnology*. 6 mai 2014;
129. Charoenpanich A, Wall ME, Tucker CJ, Andrews DMK, Lalush DS, Dirschl DR, et al. Cyclic tensile strain enhances osteogenesis and angiogenesis in mesenchymal stem cells from osteoporotic donors. *Tissue Eng Part A*. janv 2014;20(1-2):67-78.
130. Shojaei S, Tafazzoli-Shahdpour M, Shokrgozar MA, Haghighipour N. Effects of mechanical and chemical stimuli on differentiation of human adipose-derived stem cells into endothelial cells. *Int J Artif Organs*. 3 oct 2013;36(9):663-73.
131. De Barros S, Dehez S, Arnaud E, Barreau C, Cazavet A, Perez G, et al. Aging-related decrease of human ASC angiogenic potential is reversed by hypoxia preconditioning through ROS production. *Mol Ther J Am Soc Gene Ther*. févr 2013;21(2):399-408.
132. Chang H, Knothe Tate ML. Structure-function relationships in the stem cell's mechanical world B: emergent anisotropy of the cytoskeleton correlates to volume and shape changing stress exposure. *Mol Cell Biomech MCB*. déc 2011;8(4):297-318.
133. Kucerova L, Kovacovicova M, Polak S, Bohac M, Fedeles J, Palencar D, et al. Interaction of human adipose tissue-derived mesenchymal stromal cells with breast cancer

cells. *Neoplasma*. 2011;58(5):361-70.

134. Bartosh TJ, Ylöstalo JH, Mohammadipoor A, Bazhanov N, Coble K, Claypool K, et al. Aggregation of human mesenchymal stromal cells (MSCs) into 3D spheroids enhances their antiinflammatory properties. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 3 août 2010;107(31):13724-9.

135. Liao X, Li F, Wang X, Yanoso J, Niyibizi C. Distribution of murine adipose-derived mesenchymal stem cells in vivo following transplantation in developing mice. *Stem Cells Dev*. avr 2008;17(2):303-14.

136. Mantovani C, Raimondo S, Haneef MS, Geuna S, Terenghi G, Shawcross SG, et al. Morphological, molecular and functional differences of adult bone marrow- and adipose-derived stem cells isolated from rats of different ages. *Exp Cell Res*. 1 oct 2012;318(16):2034-48.

137. Kaewkhaw R, Scutt AM, Haycock JW. Anatomical site influences the differentiation of adipose-derived stem cells for Schwann-cell phenotype and function. *Glia*. mai 2011;59(5):734-49.

138. Yang Z, Li K, Yan X, Dong F, Zhao C. Amelioration of diabetic retinopathy by engrafted human adipose-derived mesenchymal stem cells in streptozotocin diabetic rats. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol Albrecht Von Graefes Arch Für Klin Exp Ophthalmol*. oct 2010;248(10):1415-22.

139. di Summa PG, Kingham PJ, Raffoul W, Wiberg M, Terenghi G, Kalbermatten DF. Adipose-derived stem cells enhance peripheral nerve regeneration. *J Plast Reconstr Aesthetic Surg JPRAS*. sept 2010;63(9):1544-52.

140. Zavan B, Michelotto L, Lancerotto L, Della Puppa A, D'Avella D, Abatangelo G, et al. Neural potential of a stem cell population in the adipose and cutaneous tissues. *Neurol Res*. févr 2010;32(1):47-54.

141. Kingham PJ, Kalbermatten DF, Mahay D, Armstrong SJ, Wiberg M, Terenghi G. Adipose-derived stem cells differentiate into a Schwann cell phenotype and promote neurite outgrowth in vitro. *Exp Neurol*. oct 2007;207(2):267-74.

142. Clarke LE, McConnell JC, Sherratt MJ, Derby B, Richardson SM, Hoyland JA. Growth differentiation factor 6 and transforming growth factor-beta differentially mediate mesenchymal stem cell differentiation, composition, and micromechanical properties of nucleus pulposus constructs. *Arthritis Res Ther.* 2014;16(2):R67.
143. Sivan U, Jayakumar K, Krishnan LK. Matrix-directed differentiation of human adipose-derived mesenchymal stem cells to dermal-like fibroblasts that produce extracellular matrix. *J Tissue Eng Regen Med.* 25 févr 2014;
144. Dave SD, Vanikar AV, Trivedi HL. Extrinsic factors promoting in vitro differentiation of insulin-secreting cells from human adipose tissue-derived mesenchymal stem cells. *Appl Biochem Biotechnol.* juin 2013;170(4):962-71.
145. Dave SD, Vanikar AV, Trivedi HL. Ex vivo generation of glucose sensitive insulin secreting mesenchymal stem cells derived from human adipose tissue. *Indian J Endocrinol Metab.* mars 2012;16 Suppl 1:S65-9.
146. Lin G, Wang G, Liu G, Yang L-J, Chang L-J, Lue TF, et al. Treatment of type 1 diabetes with adipose tissue-derived stem cells expressing pancreatic duodenal homeobox 1. *Stem Cells Dev.* déc 2009;18(10):1399-406.
147. Mendez JJ, Ghaedi M, Steinbacher D, Niklason LE. Epithelial cell differentiation of human mesenchymal stromal cells in decellularized lung scaffolds. *Tissue Eng Part A.* juin 2014;20(11-12):1735-46.
148. Dai Y, Guo Y, Wang C, Liu Q, Yang Y, Li S, et al. Non-genetic direct reprogramming and biomimetic platforms in a preliminary study for adipose-derived stem cells into corneal endothelia-like cells. *PloS One.* 2014;9(10):e109856.
149. Nieto-Miguel T, Galindo S, Reinoso R, Corell A, Martino M, Pérez-Simón JA, et al. In vitro simulation of corneal epithelium microenvironment induces a corneal epithelial-like cell phenotype from human adipose tissue mesenchymal stem cells. *Curr Eye Res.* sept 2013;38(9):933-44.
150. Moviglia GA, Blasetti N, Zarate JO, Pelayes DE. In vitro differentiation of adult

adipose mesenchymal stem cells into retinal progenitor cells. *Ophthalmic Res.* 2012;48 Suppl 1:1-5.

151. Seeliger C, Culmes M, Schyschka L, Yan X, Damm G, Wang Z, et al. Decrease of global methylation improves significantly hepatic differentiation of Ad-MSCs: possible future application for urea detoxification. *Cell Transplant.* 2013;22(1):119-31.

152. Di Rocco G, Gentile A, Antonini A, Truffa S, Piaggio G, Capogrossi MC, et al. Analysis of biodistribution and engraftment into the liver of genetically modified mesenchymal stromal cells derived from adipose tissue. *Cell Transplant.* 2012;21(9):1997-2008.

153. Li K, Han Q, Yan X, Liao L, Zhao RC. Not a process of simple vicariousness, the differentiation of human adipose-derived mesenchymal stem cells to renal tubular epithelial cells plays an important role in acute kidney injury repairing. *Stem Cells Dev.* 2010;19(8):1267-75.

154. Kim YM, Kim J, Heo SC, Shin SH, Do EK, Suh D-S, et al. Proteomic identification of ADAM12 as a regulator for TGF- β 1-induced differentiation of human mesenchymal stem cells to smooth muscle cells. *PLoS One.* 2012;7(7):e40820.

155. Zhang D-Z, Gai L-Y, Liu H-W. [Differences between adipose-derived stem cells and mesenchymal stem cells in differentiation into cardiomyocytes]. *Sheng Li Xue Bao.* 2008;60(3):341-7.

156. Iwai S, Sakonju I, Okano S, Teratani T, Kasahara N, Yokote S, et al. Impact of ex vivo administration of mesenchymal stem cells on the function of kidney grafts from cardiac death donors in rat. *Transplant Proc.* 2014;46(5):1578-84.

157. Jeong S-H, Ji Y-H, Yoon E-S. Immunosuppressive activity of adipose tissue-derived mesenchymal stem cells in a rat model of hind limb allotransplantation. *Transplant Proc.* 2014;46(5):1606-14.

158. Fitzpatrick E, Wu Y, Dhadda P, Hughes RD, Mistry RR, Qin H, et al. Coculture with mesenchymal stem cells results in improved viability and function of human hepatocytes. *Cell Transplant.* 2015;24(1):73-83.

159. Vanikar AV, Trivedi HL, Kumar A, Gopal SC, Patel HV, Gumber MR, et al. Co-infusion of donor adipose tissue-derived mesenchymal and hematopoietic stem cells helps safe minimization of immunosuppression in renal transplantation - single center experience. *Ren Fail.* oct 2014;36(9):1376-84.
160. Vanikar AV, Trivedi HL, Gopal SC, Kumar A, Dave SD. Pre-transplant co-infusion of donor-adipose tissue derived mesenchymal stem cells and hematopoietic stem cells may help in achieving tolerance in living donor renal transplantation. *Ren Fail.* avr 2014;36(3):457-60.
161. Pak J. Autologous adipose tissue-derived stem cells induce persistent bone-like tissue in osteonecrotic femoral heads. *Pain Physician.* févr 2012;15(1):75-85.
162. Lai JH, Kajiyama G, Smith RL, Maloney W, Yang F. Stem cells catalyze cartilage formation by neonatal articular chondrocytes in 3D biomimetic hydrogels. *Sci Rep.* 2013;3:3553.
163. Sterodimas A, de Faria J, Nicaretta B, Pitanguy I. Tissue engineering with adipose-derived stem cells (ADSCs): current and future applications. *J Plast Reconstr Aesthetic Surg JPRAS.* nov 2010;63(11):1886-92.
164. Matuskova M, Kozovska Z, Toro L, Durinikova E, Tyciakova S, Cierna Z, et al. Combined enzyme/prodrug treatment by genetically engineered AT-MSC exerts synergy and inhibits growth of MDA-MB-231 induced lung metastases. *J Exp Clin Cancer Res CR.* 2015;34:33.
165. Bonomi A, Coccè V, Cavicchini L, Sisto F, Dossena M, Balzarini P, et al. Adipose tissue-derived stromal cells primed in vitro with paclitaxel acquire anti-tumor activity. *Int J Immunopathol Pharmacol.* mars 2013;26(1 Suppl):33-41.
166. Razmkhah M, Jaberipour M, Ghaderi A. Downregulation of MMP2 and Bcl-2 in Adipose Derived Stem Cells (ASCs) following Transfection with IP-10 Gene. *Avicenna J Med Biotechnol.* janv 2014;6(1):27-37.
167. Mader EK, Butler G, Dowdy SC, Mariani A, Knutson KL, Federspiel MJ, et al.

Optimizing patient derived mesenchymal stem cells as virus carriers for a phase I clinical trial in ovarian cancer. *J Transl Med.* 2013;11:20.

168. Devitt SM, Carter CM, Dierov R, Weiss S, Gersch RP, Percec I. Successful isolation of viable adipose-derived stem cells from human adipose tissue subject to long-term cryopreservation: positive implications for adult stem cell-based therapeutics in patients of advanced age. *Stem Cells Int.* 2015;2015:146421.

169. Heng BC, Saxena P, Fussenegger M. Heterogeneity of baseline neural marker expression by undifferentiated mesenchymal stem cells may be correlated to donor age. *J Biotechnol.* 20 mars 2014;174:29-33.

170. 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;12:8.

171. Yan X, Ehnert S, Culmes M, Bachmann A, Seeliger C, Schyschka L, et al. 5-azacytidine improves the osteogenic differentiation potential of aged human adipose-derived mesenchymal stem cells by DNA demethylation. *PloS One.* 2014;9(6):e90846.

172. Efimenko A, Dzhoyashvili N, Kalinina N, Kochegura T, Akchurin R, Tkachuk V, et al. Adipose-derived mesenchymal stromal cells from aged patients with coronary artery disease keep mesenchymal stromal cell properties but exhibit characteristics of aging and have impaired angiogenic potential. *Stem Cells Transl Med.* janv 2014;3(1):32-41.

173. Buschmann J, Gao S, Härter L, Hemmi S, Welti M, Werner CML, et al. Yield and proliferation rate of adipose-derived stromal cells as a function of age, body mass index and harvest site-increasing the yield by use of adherent and supernatant fractions? *Cytotherapy.* sept 2013;15(9):1098-105.

174. Ding D-C, Chou H-L, Hung W-T, Liu H-W, Chu T-Y. Human adipose-derived stem cells cultured in keratinocyte serum free medium: Donor's age does not affect the proliferation and differentiation capacities. *J Biomed Sci.* 2013;20:59.

175. Guidotti S, Facchini A, Platano D, Olivotto E, Minguzzi M, Trisolino G, et al. Enhanced

osteoblastogenesis of adipose-derived stem cells on spermine delivery via β -catenin activation. *Stem Cells Dev.* 15 mai 2013;22(10):1588-601.

176. Gruber HE, Somayaji S, Riley F, Hoelscher GL, Norton HJ, Ingram J, et al. Human adipose-derived mesenchymal stem cells: serial passaging, doubling time and cell senescence. *Biotech Histochem Off Publ Biol Stain Comm.* mai 2012;87(4):303-11.

177. Chen H-T, Lee M-J, Chen C-H, Chuang S-C, Chang L-F, Ho M-L, et al. Proliferation and differentiation potential of human adipose-derived mesenchymal stem cells isolated from elderly patients with osteoporotic fractures. *J Cell Mol Med.* mars 2012;16(3):582-93.

178. Pandey AC, Semon JA, Kaushal D, O'Sullivan RP, Glowacki J, Gimble JM, et al. MicroRNA profiling reveals age-dependent differential expression of nuclear factor κ B and mitogen-activated protein kinase in adipose and bone marrow-derived human mesenchymal stem cells. *Stem Cell Res Ther.* 2011;2(6):49.

179. Abdallah BM, Haack-Sørensen M, Fink T, Kassem M. Inhibition of osteoblast differentiation but not adipocyte differentiation of mesenchymal stem cells by sera obtained from aged females. *Bone.* juill 2006;39(1):181-8.

180. Fossett E, Khan WS, Longo UG, Smitham PJ. Effect of age and gender on cell proliferation and cell surface characterization of synovial fat pad derived mesenchymal stem cells. *J Orthop Res Off Publ Orthop Res Soc.* juill 2012;30(7):1013-8.

181. Ng LWC, Yip SK, Wong HK, Yam GH, Liu YM, Lui WT, et al. Adipose-derived stem cells from pregnant women show higher proliferation rate unrelated to estrogen. *Hum Reprod Oxf Engl.* mai 2009;24(5):1164-70.

182. Krawiec JT, Weinbaum JS, St Croix CM, Phillippi JA, Watkins SC, Rubin JP, et al. A cautionary tale for autologous vascular tissue engineering: impact of human demographics on the ability of adipose-derived mesenchymal stem cells to recruit and differentiate into smooth muscle cells. *Tissue Eng Part A.* févr 2015;21(3-4):426-37.

183. Abd Elmageed ZY, Yang Y, Thomas R, Ranjan M, Mondal D, Moroz K, et al. Neoplastic reprogramming of patient-derived adipose stem cells by prostate cancer cell-

associated exosomes. *Stem Cells Dayt Ohio*. avr 2014;32(4):983-97.

184. Harada Y, Furukawa K-I, Asari T, Chin S, Ono A, Tanaka T, et al. Osteogenic lineage commitment of mesenchymal stem cells from patients with ossification of the posterior longitudinal ligament. *Biochem Biophys Res Commun*. 17 janv 2014;443(3):1014-20.

185. Lisiecki J, Rinkinen J, Eboda O, Peterson J, De La Rosa S, Agarwal S, et al. Adipose-derived mesenchymal stem cells from ventral hernia repair patients demonstrate decreased vasculogenesis. *BioMed Res Int*. 2014;2014:983715.

186. Zimmerlin L, Donnenberg AD, Rubin JP, Basse P, Landreneau RJ, Donnenberg VS. Regenerative therapy and cancer: in vitro and in vivo studies of the interaction between adipose-derived stem cells and breast cancer cells from clinical isolates. *Tissue Eng Part A*. janv 2011;17(1-2):93-106.

187. Im W, Lee S-T, Park JE, Oh HJ, Shim J, Lim J, et al. Transplantation of patient-derived adipose stem cells in YAC128 Huntington's disease transgenic mice. *PLoS Curr*. 2010;2.

188. Poliachenko IV, Driuk MF, Dombrovs'kyi DB. [Histological and immunohistochemical characteristics of stimulated angiogenesis in transplantation of multipotent stem cells derived from the adipose tissue in patients with chronic ischemia of the extremities]. *Klin Khirurgiia Minist Okhorony Zdorovia Ukraïny Nauk Tovarystvo Khirurhiv Ukraïny*. mai 2010;(5):40-3.

189. Liu Y-N, Yan X, Sun Z, Han Q, Zhao RC-H. [Mice adipose derived Flk-1+ mesenchymal stem cells can ameliorate Duchenne's muscular dystrophy in Mdx mice for their multilineage potential]. *Zhongguo Shi Yan Xue Ye Xue Za Zhi Zhongguo Bing Li Sheng Li Xue Hui J Exp Hematol Chin Assoc Pathophysiol*. avr 2007;15(2):306-12.

FABRE Stéphan

REGENERATION PARODONTALE PAR CELLULES STROMALES MESENCHYMATEUSES DU TISSU ADIPEUX : LES FACTEURS LIES AU DONNEUR

RESUME EN FRANÇAIS :

Dans le domaine de la médecine régénérative, les pathologies orales sont peu étudiées. Pourtant la maladie parodontale représente un réel enjeu de santé publique. Les thérapeutiques actuelles permettent de stabiliser la pathologie mais les traitements visant à régénérer l'attache parodontale ont des résultats variables et peu prédictibles. Dans ce contexte les médicaments de thérapie innovantes sont avancés : ils permettraient d'assurer un retour durable à l'homéostasie tissulaire et un retour *ad integrum* des tissus lésés (dans un environnement parodontal septique, sujet au stress oxydatif, en état inflammatoire chronique et d'hypoxie tissulaire) – grâce à l'ingénierie tissulaire qui associe des cellules stromales mésenchymateuses, des biomatériaux et des facteurs de croissances.

Les cellules souches adipocytaires (ASC) sont particulièrement intéressantes de part leurs sécrétion de facteurs trophiques, leurs propriétés immunomodulatrices, et leurs capacités d'activation des progéniteurs in situ. Néanmoins elles représentent une fraction hétérogène dont toutes les étapes du prélèvement à la mise en place du MTI *in situ* peuvent modifier leurs phénotypes et leurs propriétés. De plus, les caractéristiques physiologiques et pathologiques du patient influent sur le comportement des ASC, et notre capacité à y remédier sont capitales pour déterminer les indications de greffes allogéniques.

Une étude de la littérature sur Pubmed, à partir de 629 résumés d'articles a été menée avec pour objectif de révéler les facteurs du donneur qui influent sur la réponse régénérative des ASC. L'âge, l'obésité et le diabète ont été mis en évidence – notamment du aux changements du micro-environnement cellulaire. Comparé au donneur sain, le patient diabétique a des ASC altérées avec une diminution de la viabilité, du potentiel de différenciation et de prolifération, une diminution de la migration des progéniteurs in situ et de la néo angiogenèse. Cependant devant le faible nombre d'études récoltées, aucune conclusion n'a pu être clairement établie. L'amorçage par des techniques comme l'hypoxie permettrait de potentialiser les ASC et/ou de restaurer leurs fonctions. Ce travail souligne la nécessité d'assurer une veille bibliographique, de développer les aspects translationnels entre les études précliniques et cliniques afin d'obtenir un MTI le plus efficace possible – et qui s'adapte à toutes les situations cliniques.

TITRE EN ANGLAIS : Periodontal regeneration by mesenchymal stem cell from adipose tissue : donor's factors

DISCIPLINE ADMINISTRATIVE : Chirurgie dentaire

MOTS-CLES : MSC, ASC, Parodontite, Régénération parodontale, caractéristiques du donneur, amorçage

Université Toulouse III – Paul Sabatier
Faculté de Chirurgie Dentaire
3, chemin des Maraîchers
31062 Toulouse Cedex 9

Directeur de thèse : Dr MONSARRAT Paul