



**Rapport d'information**  
au Parlement et au Gouvernement

2017

**Rapport d'information  
au Parlement et au Gouvernement  
sur le développement des  
connaissances et des techniques**

**Actualisation – décembre 2017**



# Introduction

Parce qu'ils sont susceptibles d'enjeux éthiques et sociétaux spécifiques, les domaines de compétence de l'Agence de la biomédecine justifient un encadrement législatif et réglementaire rigoureux. Conscient des progrès permanents de la science et de la clinique, le législateur a souhaité conférer à cet encadrement un caractère révisable. Dès lors, la veille et l'anticipation s'imposent afin d'assurer que le cadre législatif et réglementaire réponde au progrès des connaissances et des techniques. C'est pourquoi la loi du 6 août 2004 a confié à l'Agence de la biomédecine (article L 1418-1 2° du code de la santé publique) la mission « d'assurer une information permanente du Parlement et du Gouvernement sur le développement des connaissances et des techniques pour les activités relevant de sa compétence et de leur proposer les orientations et mesures qu'elles appellent ».

Le premier rapport remis au Parlement et au Gouvernement en avril 2010 s'est donné pour objectif d'identifier les progrès qui se dessinent dans ces domaines de compétence. Qu'il s'agisse d'avancées scientifiques, d'améliorations cliniques ou d'innovations thérapeutiques, la mise en œuvre de ces progrès est susceptible de comporter des enjeux éthiques, juridiques ou organisationnels. Il convient donc d'anticiper et d'analyser ces enjeux dans un double objectif : favoriser, en amont, les activités de recherche qui nourrissent ces progrès et assurer, le moment venu, leur mise en œuvre concrète au service de la qualité de la prise en charge des patients. La volonté d'améliorer la qualité des soins offerts aux patients doit en effet guider ces progrès continus.

Les activités de soins dont l'Agence de la biomédecine a la charge sont au cœur des promesses et des enjeux sanitaires du XXI<sup>ème</sup> siècle. Ainsi, les avancées de la médecine prédictive ou les espoirs de la médecine régénérative sont, pour ne citer qu'eux, susceptibles de transformer de façon rapide et fondamentale le rapport à la médecine, la qualité des soins ou l'organisation du système de santé. Cette mise à jour du rapport propose à nouveau une analyse raisonnée des progrès les plus marquants en tant qu'ils sont susceptibles d'avoir des conséquences en termes d'organisation des soins, de qualité de la prise en charge, d'éthique et de santé publique. Il en va particulièrement ainsi dans les domaines du diagnostic anténatal et de la génétique qui ont connu plusieurs avancées significatives et sur le domaine de la recherche sur l'embryon et les cellules souches qui est en constant développement.



## Sommaire

|  |    |
|--|----|
| INTRODUCTION .....   | 1  |
| 1. AMELIORER L'ACCES A LA GREFFE.....  | 9  |
| 1.1. LES AVANCEES CLINIQUES.....   | 9  |
| 1.1.1. <i>La prévention du rejet</i> .....   | 9  |
| L'identification des différents types de rejet.....  | 9  |
| Immunosuppression : des essais classiques au big-data .....  | 10 |
| La prévention de la perte tardive des greffons .....   | 11 |
| 1.1.2. <i>La greffe des patients à accès faible au greffon et des patients « hyperimmunisés »</i> .....                        | 11 |
| Définitions et techniques.....   | 11 |
| Comment améliorer l'allocation des greffons ? .....  | 11 |
| Greffe ABO et HLA incompatibles ? .....  | 11 |
| Programme don croisé .....   | 12 |
| 1.1.3. <i>Les innovations techniques</i> .....   | 13 |
| Liquides de conservation .....   | 13 |
| Machines à perfusion.....  | 13 |
| 1.1.4. <i>Améliorer le système d'attribution des greffons : l'intérêt d'une attribution au malade basée sur un score</i> ..... | 15 |
| Les priorités .....  | 15 |
| Une attribution au malade et non plus à l'équipe, intérêt des scores.....  | 15 |
| Améliorer la prise de décision des équipes de greffe.....  | 16 |
| 1.2. RECULER LES FRONTIERES DE LA GREFFE.....  | 16 |
| 1.2.1. <i>Elargir le pool des donneurs</i> .....   | 17 |
| Les organes prélevés sur donneurs décédés après arrêt circulatoire ou DDAC .....   | 17 |
| L'utilisation de greffons marginaux ou dérogatoires .....  | 18 |
| Augmenter la greffe à partir de donneurs vivants.....  | 18 |
| 1.2.2. <i>De nouvelles indications de greffe</i> .....   | 19 |
| Allogreffes composites vascularisées (ACV).....  | 19 |
| Reconstruction des voies aériennes supérieures (trachée, bronches) .....   | 20 |
| Greffe d'utérus .....  | 20 |
| 1.2.3. <i>Organes artificiels</i> .....  | 20 |
| Progrès de la dialyse .....  | 20 |
| Vers un cœur artificiel ? .....  | 21 |
| Greffe de pancréas ou pancréas artificiel ? .....  | 21 |
| 1.2.4. <i>Xénogreffe</i> .....   | 22 |
| 1.3. LES GREFFES DE CELLULES SOUCHES HEMATOPOÏÉTIQUES.....   | 23 |
| 1.3.1 Les greffes de cellules souches hématopoïétiques .....   | 23 |
| 1.3.2 Les autogreffes de cellules souches hématopoïétiques.....  | 23 |
| 1.3.3 Les allogreffes de cellules souches hématopoïétiques .....   | 24 |
| 1.3.4 Focus sur le sang placentaire.....   | 26 |
| Développement du Réseau Français de Sang placentaire (RFSP) .....  | 26 |
| Évolution des critères qualitatifs des greffons de sang placentaire .....  | 26 |
| Conservation autologue du cordon (conservation pour son enfant) pour des maladies malignes ou génétiques .....                 | 27 |
| Utilisation de sang placentaire pour une médecine régénérative ? .....   | 27 |
| 1.4. <i>Thérapies innovantes</i> .....   | 28 |
| 1.4.1. <i>Domaine cardio-vasculaire</i> .....  | 29 |
| Thérapie cellulaire.....   | 30 |
| Thérapie génique .....   | 30 |
| 1.4.2. <i>Greffe d'îlots de Langerhans</i> .....   | 30 |

|   |    |
|---|----|
| 1.4.3 Cellules CAR-T .....  | 31 |
| 2. LES PROGRES DANS LE CHAMP DE LA PROCREATION DE L'EMBRYOLOGIE ET DE LA GENETIQUE.....   | 36 |
| 2.1. ASSISTANCE MEDICALE A LA PROCREATION.....  | 36 |
| 2.1.1 <i>Progrès attendus des techniques d'AMP</i> .....  | 36 |
| La vitrification ovocytaire et embryonnaire .....   | 37 |
| Conservation de tissus germinaux.....   | 37 |
| La maturation ovocytaire in vitro.....  | 39 |
| Les améliorations techniques en attente de preuve de leur efficacité clinique : .....   | 39 |
| L'IMSI (Intracytoplasmique magnified sperm injection) .....   | 39 |
| La mesure de la fragmentation de l'ADN des spermatozoïdes ou les traitements visant à réduire le stress oxydatif sur l'ADN.....             | 39 |
| Les aménagements techniques destinés à améliorer les conditions de l'implantation. ....   | 40 |
| L'évolution des méthodes de culture embryonnaire .....  | 40 |
| 2.1.2 <i>Perspectives organisationnelles et méthodologiques</i> .....   | 40 |
| Prévalence de l'hypofertilité et prospective de la demande d'AMP.....   | 40 |
| L'organisation du suivi des femmes et des enfants.....  | 41 |
| 2.2. GENETIQUE.....   | 41 |
| 2.2.1 <i>De nouvelles technologies</i> .....  | 41 |
| Les études « génome entier » et apparenté.....  | 41 |
| Examens de pharmacogénétique .....  | 42 |
| Examens préconceptionnels.....  | 42 |
| 2.2.2 <i>L'explosion de l'offre de tests génétiques sur Internet</i> .....  | 43 |
| Prédiction, personnalisation : quelles conséquences sur l'organisation des soins et le rapport à la médecine ?.....                         | 43 |
| 2.2.3 <i>Nouveaux développements dans la mise au point de techniques d'édition du génome : le système CRISPR-Cas9</i> .....                 | 44 |
| Exemples d'applications .....   | 45 |
| Modification du génome au stade de zygote .....   | 45 |
| 2.2.4 <i>La mise au point du transfert nucléaire dans le traitement des maladies mitochondriales</i> .....                                  | 46 |
| 2.3. DIAGNOSTIC PRENATAL ET DIAGNOSTIC PREIMPLANTATOIRE .....   | 46 |
| 2.3.1 <i>Diagnostic prénatal</i> .....  | 46 |
| Place de l'imagerie.....  | 46 |
| Dépistage plus précoce de la trisomie 21 par calcul de risque .....   | 46 |
| Examen non invasif.....   | 47 |
| ADN fœtal dans le sang maternel.....  | 47 |
| 2.3.2 <i>Diagnostic préimplantatoire</i> .....  | 47 |
| 3. CELLULES SOUCHES : ETAT DES LIEUX ET PERSPECTIVES.....   | 52 |
| 3.1. ETAT DE L'ART.....   | 52 |
| 3.1.1 <i>De quelles cellules souches dispose-t-on en 2017 ?</i> .....   | 53 |
| 3.1.2 <i>Cellules souches pluripotentes</i> .....   | 53 |
| 3.1.2.1 Cellules souches embryonnaires humaines .....   | 54 |
| Quels sont les apports fondamentaux de l'étude des CSEh ? .....   | 54 |
| Les perspectives thérapeutiques des CSEh.....   | 55 |
| Que peut-on anticiper pour les prochaines années dans ce domaine ? .....  | 55 |
| 3.1.2.2 Cellules souches pluripotentes obtenues par un processus de reprogrammation (cellules souches pluripotentes induites, ou iPS) ..... | 56 |
| Quelles conséquences de la disponibilité de cellules souches pluripotentes reprogrammées (iPS) ? .....                                      | 57 |
| Analyse comparée iPS/CSEh .....   | 57 |
| Perspectives thérapeutiques .....   | 57 |
| Reprogrammation partielle / transdifférenciation.....   | 58 |
| 3.1.3 <i>Cellules souches adultes et fœtales</i> .....  | 58 |

|   |    |
|---|----|
| 3.1.3.1 Comprendre le fonctionnement in situ des cellules souches adultes : un prérequis pour le succès de la thérapie cellulaire ..... | 58 |
| 3.1.3.2 Perspectives thérapeutiques utilisant les cellules souches adultes .....  | 58 |
| 3.1.3.3 Les cellules souches mésenchymateuses .....   | 59 |
| 3.1.3.4 Cellules souches fœtales.....   | 59 |
| 3.2. PERSPECTIVES D'UTILISATION THERAPEUTIQUE DES CELLULES SOUCHES .....  | 60 |
| 3.2.1 <i>Considérations générales</i> .....   | 60 |
| 3.2.2 <i>Cellules souches en thérapeutique : Etat des lieux en 2017</i> .....   | 60 |
| 3.2.2.1 La thérapie cellulaire.....   | 60 |
| – 3.2.2.1-1 Etat des lieux actuels.....   | 60 |
| – 3.2.2.1-2 Prospective liée aux cellules souches pluripotentes .....   | 61 |
| – 3.2.2.1-3 Enjeux éthiques : un tourisme médical lié aux cellules souches ?.....   | 62 |
| 3.2.2.2 Modélisation de maladies humaines .....   | 62 |
| 3.2.2.3 Recherche de traitements pharmacologiques par criblages de molécules .....  | 63 |
| 3.3. ENJEUX ORGANISATIONNELS ET INTERNATIONAUX .....  | 64 |
| 4. NEUROSCIENCES .....  | 68 |
| 5. ANNEXE .....   | 70 |



**- 1 -**

## **Améliorer l'accès à la Greffe**



# 1. Améliorer l'accès à la greffe

La greffe est un champ médical en progrès constant et un exemple de médecine translationnelle qui bénéficie du développement de nouvelles techniques et de l'acquisition de nouvelles connaissances scientifiques. Cet effort d'innovation est guidé par une exigence impérative : reculer les frontières de la greffe et du prélèvement pour répondre à la demande croissante des patients en attente d'organes, tout en conservant un haut niveau d'exigence éthique, d'équité, de qualité et de sécurité.

La greffe constitue par ailleurs une prise en charge alternative de certaines maladies chroniques lourdes, elle constitue des soins moins coûteux mais elle redonne surtout une indéniable qualité de vie aux patients et une autonomie qui permet une réinsertion dans le tissu économique et social.

Plusieurs avancées cliniques significatives permettent d'améliorer la prise en charge des patients greffés (1.1.) mais la demande croissante de greffons d'organes, à laquelle sont confrontés tous les pays, impose toujours de continuer à élargir, par un effort constant d'innovation, les frontières de la greffe (1.2.). Les progrès de la greffe de cellules souches hématopoïétiques et des thérapies innovantes (1.3.) sont également prometteurs.

## 1.1. Les avancées cliniques

La prise en charge des patients qui ont besoin d'une greffe s'améliore de façon continue. Aujourd'hui, les progrès qui sont engagés à court ou moyen terme concernent notamment quatre enjeux principaux. En premier lieu, des efforts de recherche conséquents sont engagés pour mieux prévenir le rejet de greffe en améliorant les éléments du contrôle de la réponse immune des patients greffés (1.1.1.). En deuxième lieu, ce sont les patients dits hyperimmunisés dont l'accès à la greffe progresse aujourd'hui grâce notamment à des protocoles thérapeutiques novateurs (1.1.2.). Dans le champ de la technique, plusieurs innovations permettent d'envisager de meilleures prises en charge, notamment en améliorant les conditions de conservation des greffons (1.1.3.). Ces progrès des connaissances et des techniques doivent être accompagnés au plan organisationnel par une amélioration constante de la structuration du système de prélèvement et de greffe, auquel l'Agence de la biomédecine entend contribuer, notamment en termes d'attribution des greffons (1.1.4.).

### 1.1.1. La prévention du rejet

#### *L'identification des différents types de rejet*

Le rejet de greffe est une réaction immune dirigée contre les antigènes étrangers provenant du donneur et aboutissant, en l'absence de traitement, à la destruction du greffon. Le diagnostic de certitude ne peut être obtenu que par la biopsie du greffon et l'examen anatomo-pathologique. Il existe en fait plusieurs catégories de rejet : le rejet humoral, hyper aigu (en moins de 72 h), aigu ou chronique, qui se caractérise par des lésions histologiques spécifiques et la présence d'anticorps anti-HLA dirigés contre le greffon, et d'autre part le rejet cellulaire, aigu ou chronique.

La caractérisation biologique et histologique du rejet humoral s'est beaucoup développée dans tous les types de greffe, y compris dans certains cas de greffe de cornée. Elle nécessite de disposer de techniques dites de haute définition dans un délai court pour guider les traitements différents d'un rejet à l'autre, et donc de disposer de plateformes de dernière génération de séquençage ainsi que de spécialistes en bioinformatique. Ceci suppose également la transmission numérique et sécurisée de données sensibles et complexes entre l'Agence de la biomédecine et les laboratoires HLA.

De nouvelles stratégies thérapeutiques pré-, per- et post-greffe visant à contrôler la production des anticorps anti-HLA (telles que les immunoglobulines polyvalentes, les échanges plasmatiques et le Rituximab) sont passées en routine et la recherche pharmaceutique annonce plusieurs nouvelles molécules à des stades d'avancée variables. Des progrès significatifs ont également été faits en termes de pharmacocinétique, d'adaptation individuelle des traitements et d'éducation thérapeutique, en particulier chez l'adolescent.

Outre les facteurs de risque classiques d'immunisation anti-HLA représentés par la grossesse, et la transfusion, celui lié à la retransplantation à long terme (15 ans) est de plus en plus fréquent.

Le rejet chronique ayant une composante humorale et étant un facteur majeur de perte du greffon, son contrôle est un objectif permettant d'espérer diminuer les retransplantations et les hyperimmunisations.

### ***Immunosuppression : des essais classiques au big-data***

Les traitements par immunosuppresseurs présentent de nombreux inconvénients liés au fait principal qu'ils dépriment l'ensemble de l'immunité. Les mécanismes d'immunosurveillance sont altérés par une immunosuppression généralisée, ce qui entraîne une augmentation des infections et des cancers. Par ailleurs, les progrès de l'immunosuppression ont surtout permis durant ces 10 dernières années de diminuer l'incidence du rejet aigu et de proposer des alternatives thérapeutiques au patient en cas d'effet néphro-toxique du traitement initial. Cependant l'incidence du rejet chronique (la perte de fonction du greffon à long terme) demeure quant à elle très élevée, tout comme la morbidité et la mortalité associées à l'utilisation chronique d'une immunosuppression lourde.

Il est donc indispensable d'acquérir une meilleure maîtrise de ces traitements mais aussi d'identifier de nouvelles stratégies grâce notamment aux nombreuses données apportées par la bio technologie.. Une des pistes consiste à développer des stratégies capables d'induire une tolérance vis-à-vis du greffon, c'est-à-dire un état d'hyporéponse immunologique spécifique des alloantigènes permettant la suspension de tout traitement immunosuppresseur. Une telle tolérance dite « opérationnelle » a pu être atteinte chez l'animal grâce à différentes stratégies thérapeutiques. Mais plusieurs problèmes, d'ordre pratique et éthique, ont jusqu'à ce jour empêché un transfert à la clinique de ces stratégies. L'administration de cellules souches hématopoïétiques du donneur lors de la greffe d'organes dans le but de créer un microchimérisme voire un nanomicrochimérisme (présence quasi indétectable de cellules immuno-compétentes du donneur) a connu des avancées, mais qui sont variables selon les greffes (possibles en greffe de rein, échecs en allogreffe composite vascularisée).

Les autres pistes de recherches développées pour maîtriser l'induction d'une tolérance opérationnelle concernent notamment :

- l'utilisation des cellules dendritiques ou des lymphocytes T régulateurs dans des protocoles de thérapie cellulaire ;
- l'étude d'outils issus de la biotechnologie, anticorps monoclonaux ou protéines de fusion, permettant de « reprogrammer » la fonction des lymphocytes impliqués dans le rejet, molécules capables de cliver les immunoglobulines.

L'identification de nouvelles cibles potentielles. L'analyse simultanée de nombreuses protéines exprimées ou biomarqueurs engendre des données considérables, qu'il faut analyser, re-analyser en fonction des progrès de la science, de l'analyse des big-data et de la biotechnologie, et donc pouvoir conserver dans des sérothèques ou bio-banques. Les premières applications cliniques en transplantation sont en cours dans des PHRC ou IHU.

## ***La prévention de la perte tardive des greffons***

La survie des greffons est liée à de nombreux facteurs et s'est améliorée grâce aux progrès des traitements immunosuppresseurs mais aussi aux améliorations des liquides de préservation des greffons et des modalités de conservation.

Les recherches actuelles portent en effet sur de nouveaux liquides de préservation des organes, sur les phases pré- et post conditionnement et sur le développement des machines de re-perfusion pour tous les types d'organes.

## **1.1.2. La greffe des patients à accès faible au greffon et des patients « hyperimmunisés »**

### ***Définitions et techniques***

Les patients de groupes sanguins rares (groupe B) ou qui présentent une hyperimmunisation HLA avec un taux élevé d'anticorps cytotoxiques anti-HLA rend pratiquement impossible l'obtention d'une compatibilité avec un donneur dans des délais courts. Le système HLA, élément essentiel mais non unique de la réponse immunitaire contre le non-soi, est particulièrement impliqué dans les mécanismes de rejet de greffon.

Les définitions et les techniques ont beaucoup évolué rendant beaucoup plus complexe l'interprétation des rendus HLA et l'identification des seuils de détection des anticorps. Une harmonisation des pratiques et des recommandations en greffe d'organe a été proposée par les sociétés savantes en 2016 et a été traduite en pratique dans les règles d'allocation des organes par l'Agence de la biomédecine.

La généralisation du typage HLA du donneur en haute résolution et en urgence H24 avant le prélèvement des reins et des organes thoraciques serait une aide considérable pour les équipes de greffe. Identifier les freins pour la réalisation de ces typages et les résoudre est une nécessité.

### ***Comment améliorer l'allocation des greffons ?***

La création d'une priorité nationale pour les patients hyperimmunisés ne présentant pas plus d'une incompatibilité HLA avec le donneur et la mise en place en 2005 du programme « Antigènes permis » ont permis d'augmenter le nombre de propositions de greffons compatibles pour ces patients et donc leur accès à la greffe. Ce programme, a permis la greffe de plus de 1500 receveurs éligibles au programme « Antigène permis » avec des résultats de survie à deux ans comparables aux résultats obtenus avec des patients non immunisés. Ce programme consiste à identifier, grâce à des techniques de haute définition, des déterminants HLA dits permis c'est à dire contre lesquels il n'a jamais été identifié d'anticorps circulants dans le suivi immunologique du patient, et de les déclarer comme permis. Dans le cadre d'une priorité nationale, ces patients peuvent bénéficier de propositions de greffons ne présentant pas plus de cinq incompatibilités, du moment que ces incompatibilités sont considérées comme permises.

La réflexion doit maintenant se focaliser sur les enfants dont l'accès est certes meilleur en terme de durée d'attente grâce à la priorité qui leur est accordée, mais le risque de pénurie dynamique peut conduire les équipes à accepter des greffons avec un « appariement » immunologique parfois médiocre.

### ***Greffe ABO et HLA incompatibles ?***

Les greffes rénales ABO et HLA incompatibles se sont développées ces dernières années avec des résultats satisfaisants.

### Greffes HLA incompatibles

En cas d'immunisation anti-HLA très large et d'impossibilité de trouver un donneur compatible, il faut envisager des stratégies de greffe à plus haut risque. Les résultats des greffes HLA incompatibles, encore préliminaires, sont satisfaisants mais à suivre de près compte tenu du risque de perte de greffons par rejet humoral après quelques années.

La greffe peut être réalisée dans un contexte de présence d'anticorps dirigés contre un ou plusieurs déterminants HLA du donneur. L'expérience française, fondée sur les propriétés neutralisantes des immunoglobulines intra-veineuse (IgIV) polyvalentes, a été publiée par Glotz et al. Ces résultats ont été confirmés par d'autres études, en particulier américaines. En cas d'échec prévisible (test in vitro) ou constaté, les IgIV ont été associées à des échanges plasmatiques et du Rituximab avec un succès comparable. Les inhibiteurs du proteasome ont aussi été utilisés. Dans les deux cas de figure, le risque de réapparition de ces anticorps dirigés spécifiquement contre les antigènes du donneur et donc le risque de rejet sont très élevés et nécessitent une intensification importante des traitements anti-rejet.

### Groupes ABO incompatibles

Le groupe sanguin A comprend 2 sous-groupes principaux : le groupe A1 largement majoritaire et le groupe A2 qui représente environ 20% avec des variations selon les ethnies.

La faible immunogénicité du sous-groupe A2 permet la réalisation de greffe ABO incompatibles sans nécessité de désensibilisation du receveur et sans renforcement du protocole d'immunosuppression, à condition que le receveur ait un faible taux d'IgG anti A. Il est ainsi possible de réaliser de telles greffes en urgence avec des donneurs décédés. Dans un contexte où l'accès à la greffe des receveurs de groupe B et de groupes O est très inférieur à celui des receveurs de groupe A, il est logique d'envisager une telle option. Les études disponibles indiquent que 90% des sujets de groupes B ont des titres d'anti A faibles ce qui n'est le cas que d'un tiers des sujets de groupe O. Les receveurs de groupes B sont donc ceux qui peuvent le plus bénéficier de ce type de transplantation.

Depuis plus de 10 ans, des expériences se sont succédées, avec des donneurs vivants et des donneurs décédés, et ont confirmé les bons résultats de ces greffes, comparables aux greffes en groupes compatibles. Aux USA, cette possibilité a récemment été intégrée dans les règles d'attribution.

En France, pour qu'un tel projet soit mis en place pour les receveurs de reins de groupe B et dans le cadre des super urgences de foie et de cœur pour les receveurs de groupe B et O, il faudrait :

- La détermination des sous-groupes A chez tout donneur identifié de groupe A ;
- Le repérage des receveurs B et O éligibles ;

Ces protocoles de greffe à risque immunologique sont surtout développés pour la greffe rénale. La modification des profils des patients en attente de greffe thoracique en particulier après assistance circulatoire a créé de véritables difficultés d'accès à la greffe pour une partie d'entre eux et des programmes similaires, adaptés aux particularités de la greffe de poumons ou de cœur, sont en cours.

### ***Programme don croisé***

Le don croisé permet, grâce à l'échange de greffons rénaux entre des paires donneur-receveur, d'offrir la possibilité de greffes compatibles avec des résultats optimaux à des paires incompatibles. Il est autorisé en France depuis la loi de bioéthique de 2011.

Le programme a débuté sur le plan opérationnel en octobre 2013 avec des cycles d'appariement trimestriels. 10 à 20 paires sont incluses à chacun des cycles réalisés (janvier, avril, juillet, novembre). Le nombre de paires est néanmoins insuffisant puisque la modélisation mathématique estime à 50 le nombre de paires nécessaires.

Au total, même si l'expérience d'autres pays comme le Royaume-Uni et l'Espagne montre que la mise en route d'un tel programme est lent avec peu de greffes la première année, force est de constater l'insuffisance de paires candidates pour offrir une chance réelle d'échanges. Il est donc indispensable d'augmenter la base des paires.

La loi n'autorise pas les donneurs altruistes, et seuls les échanges réciproques entre deux paires (doublet) sont autorisés avec une greffe simultanée sur les 2 sites. Les échanges entre 3 paires (doublets) et les chaînes sont interdites en France mais permises voire encouragées dans de nombreux pays avec efficacité.

Les pistes pour augmenter le registre des paires seraient notamment :

- D'engager les équipes à informer leurs patients systématiquement sur le don croisé et à proposer cette option en première intention pour 1 ou 2 cycles avant d'envisager un traitement de désensibilisation ;
- Autoriser le recours à plus d'une paire donneur-receveur
- Collaborer à des programmes d'échanges supra nationaux avec les pays voisins comme cela a déjà été fait avec la Suisse ;
- Introduire dans la chaîne un donneur décédé en état de mort encéphalique ;
- Permettre des greffes consécutives et non simultanées.

### **1.1.3. Les innovations techniques**

#### ***Liquides de conservation***

Les lésions liées à la conservation et à la reperfusion de l'organe participent à la dysfonction primaire du greffon et à la perte plus retardée de celui-ci. A ce jour, le mode de conservation le plus utilisé pour conserver les greffons après leur prélèvement est la conservation statique dans une solution à 4°C. En effet, le froid augmente la tolérance des organes à l'ischémie en diminuant les besoins énergétiques et l'activité enzymatique.

Néanmoins, une activité métabolique subsiste et s'effectue en anaérobie, ce qui entraîne la formation et l'accumulation de déchets toxiques pour la cellule.

Des phases d'expérimentation animale sont menées visant à abaisser encore le refroidissement des organes et tissus, réalisant ainsi des conditions extrêmes de refroidissement mais qui posent, comme pour la décongélation, la problématique des lésions intracellulaires définitives. S'apparentant à la conservation en banque de tissus cette technique pourrait ouvrir des champs nouveaux en termes de durée d'ischémie et de disponibilité de greffons rares par exemple.

Une autre possibilité consiste à chercher à augmenter l'oxygène disponible pour les cellules, durant cette phase de conservation. Une expérimentation en France utilisant l'hémoglobine du ver marin, ayant des capacités de transport de l'oxygène très supérieures à l'hémoglobine humaine, est actuellement en phase clinique.

#### ***Machines à perfusion***

D'excellents résultats français ont été rapportés avec des machines à perfusion où le rein, au lieu d'être simplement conservé dans le froid, est perfusé et irrigué par une solution protectrice. D'abord utilisées dans les années 1970, elles ont été abandonnées dans les années 1980 avec l'émergence de liquides de conservation de seconde génération, du fait de leur coût et de leur complexité d'utilisation.

L'industrialisation et le transport possible de ces machines ont relancé leur utilisation et la France est pour le rein plutôt leader, grâce à un programme national définissant les indications du recours à ces machines et dont les premiers résultats publiés sont très encourageants.

La conservation par perfusion hypothermique permet théoriquement d'assurer un lavage optimal du greffon, de mieux répartir le froid, d'apporter des substrats énergétiques et de l'oxygène, d'éliminer les déchets toxiques, de diminuer l'œdème tissulaire, d'éliminer les caillots (thrombus) qui se sont installés dans les petits vaisseaux et ainsi de préparer le lit vasculaire rénal à la reperfusion.

Il est désormais démontré que la machine à perfusion permet d'améliorer la reprise de fonction et la survie à un an des greffons prélevés sur donneur décédé (mort encéphalique ou décédé après arrêt cardiaque), par rapport à une simple conservation à froid. Par ailleurs, la machine à perfusion paraît être le seul outil qui permette la sélection des greffons et l'évaluation de leur viabilité à partir des paramètres de perfusion (débit, pression de perfusion, index de résistance et pH de l'effluent veineux, biomarqueurs ou taux de lactate), permettant ainsi d'écarter précocement de la greffe des organes destinés à ne pas fonctionner. A l'inverse, en cas de greffons prélevés sur des donneurs jugés non optimaux, le recours à la machine à perfusion permet d'augmenter le taux de greffons prélevés et finalement greffés, grâce aux effets bénéfiques de la perfusion dynamique, mais aussi grâce à la présence d'indicateurs de viabilité rassurants pour l'équipe médicale.

Depuis 2011 des machines sont testées pour tous les organes et non plus seulement le rein. Chaque organe ayant ses propres spécificités en termes de tolérance à l'ischémie, de nombreuses solutions ou protocoles sont actuellement testés : normo versus hypothermie (la normothermie permettant un respect et une analyse enzymatique), perfusion continue ou pulsatile, perfusion avec du sang ou un liquide de synthèse, oxygénation ou non.

Le concept de perfusion ex vivo, désormais établi comme efficace en greffe rénale, est en train d'être développé pour les organes thoraciques, en particulier pour les poumons. La transplantation pulmonaire est un traitement reconnu de l'insuffisance respiratoire chronique terminale, qui permet d'augmenter la durée et la qualité de vie des patients. Malgré une augmentation, en France, de 67% du nombre annuel de transplantations pulmonaires entre 2008 et 2016, le nombre de greffes reste inférieur au nombre de candidats. L'utilisation de greffons dits à critères élargis est une des approches pour répondre à cette situation. Les machines à perfusion, dont trois sont utilisables en pratique clinique, en permettant la réhabilitation et l'évaluation ex vivo des greffons pulmonaires, sont un moyen d'augmenter le nombre de greffons à critères élargis prélevés tout en préservant la qualité des résultats de la transplantation. Ces dispositifs ont actuellement dépassé le stade de la recherche biomédicale et les indications optimales ont été validées par la Société Française de Chirurgie Cardio Thoracique et Vasculaire et sont centrées sur les greffons refusés par toutes les équipes.

La communauté des professionnels de la greffe hépatique s'interroge à son tour sur le bénéfice de la perfusion des greffons hépatiques. Des prototypes de machines sont en cours d'essai

Les profils de greffons qui semblent bénéficier le plus d'une perfusion sur machine sont les greffons hépatiques marginaux à savoir les foies stéatosiques (> 30 % de macro stéatose), les foies prélevés sur donneurs décédés après arrêt cardio-circulatoire (ischémie chaude longue) et enfin en cas de délai d'ischémie froide prévisible longue (IF > 16h). Plusieurs publications américaines et européennes font état d'une baisse du taux de dysfonction précoce de greffons grâce à la perfusion. Ces publications sont très encourageantes, même si elles ne concernent pour l'instant qu'un nombre modeste de cas mais de nombreux essais internationaux sont en cours.

Les conditions techniques de transport (liquides spécifiques, utilisation de sang du donneur, transport même de ces machines par voie aérienne) sont en cours d'analyse.

Tout ceci peut demander des évolutions réglementaires (statut des liquides de conservation, la réglementation du transport). Le bénéfice attendu en termes de « réanimation » de l'organe promet d'avoir un impact important sur le ratio d'utilisation de ces organes et le succès de la greffe.

#### **1.1.4. Améliorer le système d'attribution des greffons : l'intérêt d'une attribution au malade basée sur un score**

A l'initiative de l'Agence de la biomédecine et en interaction avec les équipes de greffe et toutes les parties prenantes, les pratiques d'allocation des greffons sont en constante évolution pour améliorer l'efficacité, l'équité et la transparence de la répartition des organes.

##### ***Les priorités***

Le système français s'appuie sur l'identification de priorités pour certaines catégories de patients. Un greffon peut notamment être proposé prioritairement et successivement au bénéfice des receveurs dont la vie est menacée à très court terme, des receveurs dont la probabilité d'obtenir un greffon est très faible, et des enfants. En l'absence de receveurs prioritaires, l'attribution se fait par échelons géographiques successifs. Quel que soit l'organe, l'équipe médicochirurgicale de greffe est en droit de refuser une proposition de greffon pour des raisons logistiques, de qualité du greffon ou d'appariement insuffisant entre le donneur et le receveur. Des collègues d'experts examinent les demandes individuelles d'inscription de malades en liste d'attente dans une catégorie prioritaire. Ils sont consultés 24 heures sur 24 pour les inscriptions dans les catégories "super-urgence" (qui donnent une priorité au niveau national) de malades dont la vie est menacée à très court terme.

Les experts sont également sollicités pour chaque demande individuelle de dérogation aux règles d'attribution, dont la dérogation de groupe sanguin qui consiste à attribuer un greffon à un receveur dont le groupe sanguin est compatible (et non pas identique) avec celui du donneur, ou encore l'attribution d'une priorité à l'échelon régional ou national en cas de difficultés particulières d'accès à la greffe. Les experts sont aidés dans leur appréciation par des informations médicales détaillées concernant le malade transmises par l'équipe médicale et, si nécessaire, par des simulations des chances d'accès à la greffe réalisées par l'Agence de la biomédecine. Les collègues d'experts sont renouvelés tous les trois ans et chaque collègue est réuni une fois par an pour dresser son bilan d'activité.

##### ***Une attribution au malade et non plus à l'équipe, intérêt des scores***

Une étape majeure a été franchie ces quinze dernières années avec la mise en place de scores en greffe rénale et hépatique et donc le passage d'un système dans lequel les greffons étaient attribués aux équipes de greffe, à un système dans lequel c'est désormais au malade que le greffon est attribué. Dorénavant des scores allouent en fonction des critères d'efficacité les greffons aux « meilleurs » receveurs tant sur le plan immunitaire que d'âge et en prenant en compte les données géographiques de transport. Des évolutions régulières de ces scores sont réalisées au fur et à mesure de l'évaluation qui en est faite sur le plan des résultats cliniques, des disparités d'allocation constatées (score rein en 2015) et de l'évolution de certaines spécificités pathologiques (score foie et carcinomes hépato cellulaires (CHC) en 2015).

L'intérêt majeur d'un score est de réaliser un compromis pondéré et explicite entre des critères d'attribution parfois contradictoires. Le score est une grandeur affectée à chaque receveur potentiel d'un greffon donné. Il résulte du calcul d'une fonction multi-variée et paramétrable. Il permet le classement des receveurs potentiels selon un rang qui déterminera l'ordre des propositions. Le classement est renouvelé pour chaque greffon potentiel. Il peut être utilisé comme règle de décision ou comme une aide à la décision.

Le classement est renouvelé pour chaque greffon potentiel.

Le « score rein » a été déployé progressivement à l'ensemble des interrégions à partir de 2004. Il a été réactualisé plusieurs fois, la dernière version étant de février 2015. Il prend en compte la durée d'attente sur liste, l'ancienneté de dialyse, la compatibilité immunologique et l'appariement en âge entre donneur et receveur. Ce nouveau score tient compte pour chaque receveur de son potentiel en donneurs très compatibles, ce qui permet de contrebalancer l'importance de la compatibilité immunologique HLA pour les malades ayant une combinaison HLA rare et/ou des anticorps nécessitant de les greffer avec un niveau de compatibilité satisfaisant dans un délai raisonnable.

Le « score foie » a été mis en œuvre sur l'ensemble du territoire national en 2007.

Le modèle a évolué avec la mise en place en février 2011 d'un score géographique « isochrone » (tenant compte des distances *horaires* entre les centres de prélèvement et de greffe) et gravitaire. Il remplace la priorité locale qui était donnée, à moins qu'un malade ne soit prioritaire à l'échelon national, aux malades d'une équipe de greffe lorsqu'elle réalisait un prélèvement hépatique sur son propre réseau de prélèvement (prélèvement local). Dorénavant, plus la gravité d'un malade en attente est estimée sévère par le score, plus son « aire géographique d'influence » pour la proposition de greffons est large. Ce nouveau score foie comprend par ailleurs une modélisation différente de l'accès à la greffe pour les patients présentant un carcinome hépatocellulaire (CHC), qui deviendra ainsi progressivement indépendant du MELD.

Enfin, pour les greffes cardiaques, la mise en place d'un score est maintenant envisageable à la suite des résultats d'une étude prospective lancée en janvier 2010 s'intéressant aux déterminants du risque de décès en attente de greffe et après greffe. Ce « score cœur » devrait être mis en place en début d'année 2018.

### ***Améliorer la prise de décision des équipes de greffe***

La décision finale d'accepter un greffon pour un patient est prise par l'équipe chirurgicale qui est en possession des éléments d'appréciation grâce à un dossier informatisé mis à sa disposition par l'Agence de la biomédecine et/ou sur place, de visu. L'horaire souvent nocturne du prélèvement, la fatigue et le stress, la formation ou l'expérience du préleveur, la nécessité de diminuer au maximum la durée du prélèvement font que cette prise de décision est souvent difficile, difficulté majorée par l'élargissement des critères et le vieillissement des donneurs potentiels.

Dans ce contexte, un projet développé avec le soutien de la Direction Générale de l'Offre de Soins, permet désormais aux équipes de greffes de disposer de l'ensemble des données d'imagerie en particulier vasculaires. D'abord testé sur les organes thoraciques, l'accès à ces données d'imagerie par le biais de « cristal image » a été étendu à tous les organes début 2017. Il permet par exemple d'échanger des scanners par sur l'ensemble de la France entre des centres autorisés au prélèvement (182) et les équipes de greffes autorisées (117) tout en conservant l'anonymisation donneur-receveur. Une évaluation médico économique du dispositif est prévue.

## ***1.2. Reculer les frontières de la greffe***

Bien que transgressive par nature, la greffe est appelée à relever des défis audacieux en élargissant toujours ses frontières afin de répondre aux besoins des patients dans un contexte de ressources forcément limitées d'organes prélevés.

De nouvelles connaissances acquises permettent ainsi d'élargir les critères de prélèvement (1.2.1.) et de développer de nouvelles indications de greffes (1.2.2.), cependant que les progrès scientifiques et techniques enrichissent la piste des organes artificiels (1.2.3.) et l'horizon de la xénogreffe (1.2.4.).

## 1.2.1. Elargir le pool des donneurs

### ***Les organes prélevés sur donneurs décédés après arrêt circulatoire ou DDAC***

La procédure de prélèvements d'organes sur donneurs DDAC utilisée dès 1951 en France est tombée en désuétude dans les années 1980 au bénéfice des prélèvements sur des personnes en état de mort encéphalique (EME). Entre 1970 et 1995, ce type de prélèvement est resté confiné à certaines équipes européennes par choix stratégique (Pays-Bas, Suisse) et s'est développée dans d'autres pays du fait d'obstacles culturels ou religieux, en particulier dans ceux n'ayant pas accès au prélèvement sur des sujets en état de mort encéphalique (Japon).

Grâce au perfectionnement de la procédure et des techniques initié par ces équipes, les résultats se sont significativement améliorés, permettant d'obtenir des taux de non fonction primaire et des taux de survie des greffons rénaux à moyen et long terme comparables à ceux obtenus avec des greffons issus de donneurs en mort encéphalique, et ce malgré la persistance d'un taux de retard de reprise de fonction plus important en cas de DDAC.

Au vu de ces résultats encourageants, il a été décidé de reconsidérer en France l'utilisation de greffons provenant de DDAC sous l'angle de la faisabilité, des résultats et de leurs conséquences éthiques et juridiques permettant une reprise de cette activité. Les prélèvements après arrêt circulatoire non contrôlé (classification 2 de Maastricht) ont démarré en 2006, et les prélèvements après arrêt circulatoire succédant à un arrêt ou limitation des thérapeutiques (classification 3 de Maastricht) en 2015.

Dans les 2 situations, la France s'est dotée, après un travail avec les professionnels et une réflexion éthique approfondie, d'un protocole médical commun et d'une procédure unique d'application multicentrique sur des critères d'inclusion et d'exclusion consensuels, reprenant les différentes étapes-clés, comme la sélection stricte des donneurs et receveurs, le respect des délais d'ischémie et l'obligation de recours à une machine à perfuser les greffons.

L'évaluation à un an de chaque protocole a montré, des résultats satisfaisants et le respect des contraintes médico techniques et éthiques imposées.

Le protocole Maastricht 2 impose néanmoins des contraintes techniques et organisationnelles lourdes qui font que seules l'Espagne et la France poursuivent sa mise en oeuvre. L'évaluation menée en 2017 conclut que seules quelques équipes auront de fait la capacité de poursuivre ce programme, ce qui devrait permettre d'obtenir une soixantaine de greffons rénaux par an.

Le protocole Maastricht 3, a permis à de nombreux centres d'élaborer une réflexion collective autour de la fin de vie et du don d'organes. L'évaluation à un an montre d'excellents résultats, meilleurs même que dans les séries étrangères ; les enjeux éthiques sont bien pris en compte. Une vingtaine de centres seront opérationnels fin 2017 ce qui devrait permettre d'atteindre la cible de 400 greffes/an à l'horizon 2021.

Une réflexion préliminaire a été également initiée avec les sociétés savantes de pédiatrie sur la possibilité de prélèvement pédiatrique dans le contexte de Maastricht 3.

Des travaux internationaux ont validé le principe du prélèvement du foie et des poumons sur donneurs décédés après arrêt circulatoire avec des résultats post-greffe satisfaisants. Ces deux possibilités ont été mises en oeuvre en France avec d'excellents résultats post greffe. Un prélèvement cardiaque dans ce contexte puis une greffe, associée à une réhabilitation de l'organe sur machine spécifique a été effectué en Australie et au Royaume Uni.

### ***L'utilisation de greffons marginaux ou dérogatoires***

Avec les progrès de la greffe, des organes qui autrefois pouvaient être exclus du prélèvement sont désormais examinés au cas par cas. Deux critères conditionnent le choix de prélever : l'état de l'organe et l'existence en liste d'attente d'une personne à qui la greffe de cet organe, avec ses caractéristiques et ses éventuelles imperfections, apportera plus de bénéfices que les risques liés à une non transplantation. De fait, le manque de greffons disponibles plaide pour l'utilisation d'organes « à critères élargis » venant de « donneurs suboptimaux », comme par exemple les patients, âgés. L'âge moyen des donneurs prélevés augmente, tout comme l'âge moyen des receveurs, posant la question de l'utilisation d'organes de qualité dite « limite ». En France, 38% des donneurs ont plus de 65 ans en 2016, contre 21,8% en 2007. L'association de facteurs de risque devant être évitée, e des résultats de qualité peuvent être obtenus par une action positive sur les autres facteurs : diminution de la durée d'ischémie, amélioration des conditions de conservation, évaluation par des techniques nouvelles des qualités fonctionnelles du greffon (fibroscan, biomarqueurs). Enfin, le développement de score de risque pour le donneur peut aussi être une aide à la décision.

L'évaluation du bénéfice /risque est aussi en évolution lorsque le receveur lui-même est atteint par une pathologie virale ancienne. Ainsi, le prélèvement d'organes et de cellules chez un donneur porteur de marqueurs sérologiques des virus de l'hépatite B et de l'hépatite C, d'abord autorisé à titre expérimental, se poursuit dans le cadre de protocoles dérogatoires de greffe définis par l'ANSM (anciennement AFSSAPS).

En application des dispositions de l'article R.1211-21 du code de la santé publique, l'Agence de la biomédecine a été chargée d'assurer le recueil et l'exploitation des données nationales collectées par les équipes de greffe dans le cadre des protocoles de suivi thérapeutique des patients inclus dans le dispositif dérogatoire hépatite C. Le rapport d'évaluation, remis à l'ANSM en 2015, n'a pas mis en évidence de sur-risque d'échec post-greffe pour les greffes avec un greffon VHC+.

Les avancées récentes concernant les thérapeutiques anti-virales directes contre le VHC pourraient faire évoluer également les concepts de prise en charge des receveurs.

Une réflexion est aussi menée par l'ANSM et des experts indépendants, en lien avec les associations concernées, sur le statut des donneurs porteurs de marqueurs du VIH pour des receveurs porteurs du VIH. Cette démarche fait suite à une publication d'équipes d'Afrique du Sud montrant, dans un contexte épidémiologique très différent, des résultats encourageants. Elle est également suivie aux USA et au Canada.

### ***Augmenter la greffe à partir de donneurs vivants***

La greffe rénale à partir de donneur vivant reste un objectif prioritaire. L'objectif du plan greffe 2017-2021 est d'atteindre, toutes stratégies confondues et à cadre législatif constant, 1000 greffes soit 14,7 par million d'habitants (pmh) pour l'année 2021. En 2015, ce taux était de 8 greffes pmh, soit 547 greffes en 2015.

Le plan greffe 2012-2016 a permis une forte croissance du nombre de greffes de rein réalisées. Cependant, on observe en 2016 un « tassement » de cette activité (576 greffes rénales DV) qui a peu dépassé le niveau de 2015. L'activité varie de façon importante entre les régions : certaines restent très en retrait tandis que d'autres sont au-delà des objectifs fixés.

Pour expliquer ce « tassement », les professionnels font état d'un certain nombre de contraintes au sein de leurs établissements qui pèsent sur leur activité : moyens logistiques et humains limités, organisation complexe des parcours des patients et des accès aux blocs opératoires, etc.

En 2015, la publication d'articles concernant le devenir à long terme des donneurs vivants semble par ailleurs avoir eu un impact sur la pratique de certains professionnels. Le risque pourtant très faible identifié aux USA en particulier, est à 15 ans, sur des sous-groupes spécifiques et peut être totalement prévenu par des mesures de réno-protection. Néanmoins il incite à rester vigilant sur la sélection des donneurs et sur le suivi à long terme. Une telle obligation de suivi est déjà définie par la loi. Mais elle se heurte en pratique aux difficultés d'organisation en réseau de prise en charge ville – hôpital sur des personnes mobiles et ne se sentant pas malades. Élaborer avec les parties prenantes des documents pour une information claire, précise et impartiale du donneur sur la greffe à partir d'un donneur vivant et les risques à court, moyen et long terme encourus par le donneur est un des moyens déjà mis en place et qu'il faut poursuivre.

Il est donc important d'identifier, avec les professionnels et les parties prenantes, les obstacles au développement de ce type de greffe, et définir, avec l'ensemble des acteurs concernés, des actions visant à lever ces obstacles. Les recommandations du rapport sur la qualité de vie des donneurs vivants portant sur le suivi psychologique si nécessaire, la prise en charge de la douleur doivent être mieux prises en compte et s'assurer de la neutralité financière effective.

## **1.2.2. De nouvelles indications de greffe**

### ***Allogreffes composites vascularisées (ACV)***

Ces greffes sont dites composites car elles concernent la greffe d'un ensemble complexe de peau, muscles, os, vaisseaux et nerfs (d'origine embryonnaire différente) qui sont très fortement immunogènes et inducteurs de réactions de rejet.

Ces greffes concernent les greffes de face (partielle ou totale), des membres inférieurs, des membres supérieurs (mains, avant-bras et bras), du larynx, de la langue et de l'utérus.

L'équipe du Pr Dubernard à Lyon a été la première au monde à effectuer des greffes de mains (1998) puis, en 2005 en collaboration avec le Pr Devauchelle d'Amiens, du tiers inférieur de la face. Les progrès de ces techniques permettent d'étudier chez les receveurs une réponse immunitaire particulièrement intéressante (notamment en développant des modèles animaux de greffes composites). De même, la ré-innervation de nouveaux segments du corps a permis des avancées importantes dans la compréhension des mécanismes neurologiques de la représentation corporelle et du retour de la sensibilité au niveau cérébral.

Neuf greffes d'avant-bras ont été réalisées en France, la dernière en 2016. L'évaluation des résultats des greffes d'avant-bras et de bras, dont le nombre a augmenté ces dernières années à travers le monde, a permis de conclure à un réel bénéfice fonctionnel pour les patients avec une bonne maîtrise aussi bien des techniques chirurgicales que des réactions immunologiques. La greffe d'avant-bras a donc quitté le domaine de la recherche biomédicale mais il reste encore des étapes à franchir avant d'entériner son passage en activité de routine. Il faut apprécier le bénéfice en terme de qualité de vie et en termes médico-économiques, d'une telle thérapeutique, notamment en comparaison des prothèses myo-électriques. Un programme de recherche médico-économique a été mis en œuvre à cette fin.

Dix greffes de face ont été réalisées en France, par les équipes d'Amiens-Lyon et les équipes de l'APHP (Mondor-HEGP). ces greffes relèvent toujours de la recherche clinique.

L'enjeu le plus important dans le domaine des greffes composites est de réduire, voire abolir le besoin d'un traitement immunosuppresseur dans le but d'obtenir chez le receveur un état de tolérance donneur-spécifique. Des observations initiales de « chimérisme mixte » chez des receveurs de greffe de main ont été rapportées suite à l'injection de cellules souches hématopoïétiques du donneur.

Aujourd'hui les premiers cas de rejets chroniques de greffon dans ces allogreffes, comme dans toute greffe, sont maintenant rapportés et posent la question de la re-transplantation.

### ***Reconstruction des voies aériennes supérieures (trachée, bronches)***

Le remplacement des voies aériennes supérieures au premier rang desquelles figure la trachée relève d'un véritable défi car le substitut doit allier les caractéristiques physiques de rigidité-flexibilité liées à la structure cartilagineuse, de capacité de ré-épithélialisation respiratoire et d'intégration aux tissus environnants. Le développement de cette thérapeutique doit largement aux progrès de la greffe de tissus composites et à ceux de l'ingénierie tissulaire. Après plusieurs décennies de recherche expérimentale, le premier remplacement trachéal a été réalisé chez l'homme en 2004.

De nombreux obstacles ont été franchis ces dernières années si bien qu'après une période de « preuve de concept » des essais cliniques commencent. Une équipe française est particulièrement impliquée dans ces travaux et est reconnue sur le plan international.

Les indications sont rares, représentées pour l'essentiel par les résections de plus de la moitié de la trachée ne permettant pas le rétablissement de la continuité de la voie aérienne. Les principales causes en sont les sténoses/malacities trachéales et les lésions tumorales.

Ainsi si les premiers résultats de remplacement de la trachée et des bronches sont encourageants, la technique doit encore évoluer pour devenir standardisée.

### ***Greffe d'utérus***

L'absence congénitale d'utérus est une anomalie non rare, amenant dans certains pays à se poser la question de la gestation pour autrui. En France, deux équipes ont été autorisées, à réaliser des transplantations utérines, une (Limoges) à partir de donneuses décédées et l'autre (Paris / Foch) à partir de donneuses vivantes. Elles s'appuient sur l'expérience d'une équipe suédoise avec laquelle elles collaborent et qui a obtenu en 2014 les premières naissances après greffe d'utérus.

Ces greffes donnent lieu au retrait du greffon une fois la grossesse réalisée, posant un problème médical différent des autres greffes composites puisque le greffon est explanté après la grossesse et l'immunosuppression peut alors être arrêtée. L'enfant à naître est certes exposé durant la grossesse à un traitement immunosuppresseur mais dont les risques sont connus chez les patientes greffées d'un organe qui ont une grossesse.

## **1.2.3. Organes artificiels**

### ***Progrès de la dialyse***

L'hémodialyse demeure le traitement le plus largement utilisé chez les patients atteints d'insuffisance rénale chronique terminale, mais les résultats en termes de qualité de vie et de survie demeurent inférieurs à ceux obtenus grâce à la greffe rénale. La greffe est le traitement de choix de l'insuffisance

Toutefois, en situation de pénurie de greffons, et alors que l'indication de greffe reste au demeurant fermée à certains patients (âge avancé, polyopathologies), des perspectives d'amélioration de la prise en charge en dialyse émergent aujourd'hui, grâce aux progrès de la miniaturisation et aux nanotechnologies.

Les travaux portent notamment sur le rein artificiel miniaturisé, transportable voire, à terme, implantable. L'utilisation de nanotechnologies permet d'associer au « filtre » de type glomérulaire qui équipe les systèmes de dialyse actuels un élément bioartificiel chargé d'assurer les fonctions régulatrices des néphrons normaux.

Cet objectif fait appel à l'implantation de cellules tubulaires rénales dans la structure d'une membrane juxtaposée en série par rapport à la membrane « filtrante », l'ensemble étant contenu dans un même réceptacle. Un tel « bioréacteur » serait programmé pour un fonctionnement continu, idéalement sous la forme d'un dispositif implantable. Il pourrait être en outre couplé à un système de télésurveillance optimisant la qualité et la sécurité du suivi du patient.

De cette façon, la qualité de vie des patients pourrait être améliorée, de même, on l'espère, que leur survie, grâce à un fonctionnement en continu, plus proche du fonctionnement rénal naturel que ne le sont des séances d'hémodialyse. Des expérimentations humaines sont déjà publiées chez des patients en insuffisance rénale aiguë, et les premiers essais cliniques devraient démarrer également dans l'insuffisance chronique.

Ces perspectives demeurent en outre soumises à l'évaluation des risques inhérents aujourd'hui à toutes les avancées en matière de nanotechnologies. Ces voies de recherche sont aussi à mettre en regard d'autres pistes visant à améliorer la masse néphronique par l'utilisation de cellules pluripotentes. Des essais ont été effectués avec des cellules extraites du tissu adipeux.

En toute hypothèse, la priorité doit rester donner à la greffe lorsqu'elle est possible.

### ***Vers un cœur artificiel ?***

Les dispositifs d'assistance sont utilisés dans l'insuffisance cardiaque réfractaire dans trois situations, qui ne s'excluent pas mutuellement : en attente de récupération, en attente de greffe et à la place de la greffe. Les dispositifs initiaux à débit pulsatile tendent à être remplacés par des dispositifs à débit continu non pulsatiles, plus petits, avec une implantation chirurgicale plus aisée, un confort pour le patient plus grand et une meilleure durabilité (supérieure à ce jour à 7 ans). Depuis 2009, ces dispositifs se voient inscrits progressivement sur la liste des produits et prestations remboursables, et leur utilisation après 70 ans (âge où la transplantation n'est plus réalisée) dans des cas sélectionnés, et a été validée. L'insuffisance cardiaque progressant avec le vieillissement, cela devrait conduire à avoir une cohorte de plus en plus large de malades ambulatoires porteurs de ces dispositifs, comme cela est constaté aux USA (plus de 6000 patients) ou en Allemagne. En France, plus de 100 patients en bénéficient chaque année. Les défis sont multiples : médicaux (en termes d'indication et de suivi), éthiques et financiers.

Par ailleurs, après plusieurs décennies de recherche, le cœur artificiel total développé par la société française CARMAT a fait l'objet de quelques implantations chez l'homme et est en cours d'évaluation. D'autres projets internationaux soit industriels soit académiques existent, y compris dans le domaine pédiatrique.

D'autres travaux sur les organes artificiels – foie, poumon, etc.- ont été menés, mais jusqu'ici les résultats ne sont pas concluants.

### ***Greffe de pancréas ou pancréas artificiel ?***

L'incidence du diabète est en augmentation dans tous les pays développés. Seuls les patients les plus graves ont besoin d'une greffe de pancréas souvent associée à une greffe rénale. Lorsque les patients nécessitent une greffe rénale, la greffe de pancréas est la meilleure indication thérapeutique, mais se heurte à sa faisabilité complexe. Le pancréas artificiel est une solution thérapeutique alternative ou d'attente, point de convergence entre biotechnologie, biomatériaux et microélectronique. Sa mise au point et son fonctionnement en feraient une solution de prise en charge du diabète. Son objectif est de reproduire la sécrétion physiologique de l'insuline en réponse directe à la glycémie, telle que la mettent en œuvre à chaque instant les cellules endocrines du pancréas lorsque celui-ci fonctionne normalement chez une personne non diabétique.

Sa réalisation repose sur la séparation conceptuelle et dans l'espace du système d'analyse de la glycémie (le capteur de glucose), du système de délivrance de l'insuline (la pompe à insuline), connectés par l'intermédiaire d'une interface capteur-pompe véritable boucle de régulation), qui serait capable de déterminer précisément le débit insulinaire à délivrer en fonction de la glycémie détectée.

Les capteurs de glucose, il y a 12 ans, s'ils existaient déjà, se heurtaient néanmoins aux difficultés de mettre au point des systèmes entièrement implantables. Il y a 7 ans, ils reposaient sur un système d'électrodes placées dans l'un des gros troncs veineux pour pouvoir analyser en permanence la glycémie. Le problème technique majeur, outre ceux mécaniques et inhérents à leur localisation, était la durée de vie courte de ces électrodes, et la nécessité de les remplacer tous les deux ou trois jours. En 2017, le capteur de glucose existe désormais, et peut être implanté en sous-cutané. Les nanotechnologies laissent penser à des progrès rapides.

Des essais menés chez les enfants et adolescents atteints de diabète de type 1, ont montré que l'installation du système de pancréas artificiel de première génération durant la nuit diminuait non seulement le risque d'hypoglycémie nocturne sévère, mais améliorait aussi le contrôle du diabète. Les essais se sont multipliés et fin 2016, la FDA a autorisé le premier dispositif américain. Au moins 8 autres systèmes sont à l'essai dont un français en partenariat avec le CEA.

En pratique la solution séduisante du pancréas artificiel va se positionner en alternative à la greffe d'organe ou d'ilots. Les indications respectives de ces traitements devront être affinées dans les prochaines années, sachant que la France constate comme les USA une diminution du nombre de greffe de pancréas.

## 1.2.4. Xénogreffe

Des produits d'origine animale sont couramment utilisés en thérapeutique. L'utilisation d'organes de porc chez l'homme est parfois présentée comme l'une des réponses prometteuses à la situation actuelle de manque important d'organes.

De fait, bien que le nombre de laboratoires engagés dans ce domaine soit encore modeste, des progrès substantiels ont été récemment obtenus en matière de xénogreffe. Les voies de recherche concernent :

- de nouvelles modifications génétiques des animaux donneurs ;
- la mise au point de traitements immunosuppresseurs adaptés à la situation clinique ;
- l'induction d'une tolérance immunitaire ;
- la gestion du risque sanitaire.

La réflexion éthique sur les enjeux de la xénogreffe ainsi que son acceptabilité sociale sont également prises en considération.

L'incompatibilité immunologique est la principale barrière médicale à l'utilisation des xénogreffes. Les recherches portent donc sur la modification de l'immunogénicité des tissus porcins par génie génétique (on parle d'«humanisation») et la mise au point de protocoles d'induction d'une tolérance immunitaire. En 1993 a émergé l'idée que la suppression chez le porc de la cible majeure (Gal) de la réponse par les anticorps humains permettrait de réduire le risque de rejet humoral. Dès 2002, des porcs appelés « Gal-KO » chez qui l'enzyme avait été invalidée ont vu le jour.

Par ailleurs, à condition de maintenir les animaux dans des conditions EOPS (exemptes d'organismes pathogènes spécifiques), il est possible d'éviter la transmission de la plupart des agents infectieux, dont le cytomégalovirus. Cependant, un risque majeur concerne les virus endogènes intégrés dans le

génomique porcine : les PERV (porcine endogenous retrovirus) A, B et C qui peuvent *in vitro* infecter de façon productive des cellules humaines. Néanmoins, durant l'été 2017, une équipe américaine de l'université d'Harvard a publié la création d'une lignée de porcs transgéniques chez qui les 62 gènes du PERV présents dans le génome ont été inactivés par la technique d'édition du génome CRISPR/Cas9, ce qui devrait permettre de contourner un des obstacles majeurs en termes de biosécurité à l'utilisation de tissu porcins en xélogreffe.

Avec la production des porcs Gal-KO, la xélogreffe a sans doute franchi un cap et on observe aujourd'hui des survies de greffes pouvant aller jusqu'à 6 mois. Des essais cliniques avec utilisation de cellules porcines se profilent ainsi d'ores et déjà à court terme pour des îlots de Langerhans chez des patients diabétiques, mais il n'est pas encore question d'envisager des essais thérapeutiques concernant des organes vascularisés tels que rein, cœur ou foie.

En effet, de nombreuses questions demandent encore à être résolues avant une éventuelle application à l'homme. Au plan psychologique et éthique notamment, une étude menée auprès d'une centaine de patients greffés ou en attente de greffe a permis d'émettre certaines hypothèses quant à l'acceptabilité psychique d'une xélogreffe.

Trois profils différents se sont dégagés parmi les patients interrogés : ceux qui acceptent sans condition l'idée d'une xélogreffe (45%), ceux qui la refusent radicalement (30%) et les patients qui posent des conditions (25%). Sur un autre plan, l'impératif de précaution face au risque infectieux est également un enjeu majeur des xélogreffes : le risque de voir des équipes développer des pratiques de xélogreffe sans contrôle sanitaire suffisant (pratique qui pourrait être qualifiée de « xénotourisme ») constitue un risque face auquel les pays occidentaux doivent se montrer vigilants, comme les y a du reste récemment invités l'OMS.

## **1.3. Les greffes de cellules souches hématopoïétiques**

### **1.3.1 Les greffes de cellules souches hématopoïétiques**

On peut recenser des avancées dans le domaine des autogreffes de cellules souches hématopoïétiques (CSH) pour certaines indications (1.3.1), et constater que les allogreffes de cellules souches hématopoïétiques connaissent de grands progrès dans les procédures de greffes et une extension des indications (1.3.2).

Avec plus de 5000 greffes/an (auto+allogreffes), la greffe de CSH est une activité qui repose désormais sur 37 centres d'allogreffes et 44 centres d'autogreffes. Elle s'adresse essentiellement à des indications d'hématologie maligne.

### **1.3.2 Les autogreffes de cellules souches hématopoïétiques**

Pour mémoire, l'autogreffe est une procédure d'intensification de thérapeutique qui consiste, après un temps de traitement standard, en une cure de chimiothérapie intensive, suivie d'une greffe de cellules souches hématopoïétiques provenant du patient lui-même (CSH prélevées antérieurement).

La greffe vient pallier la destruction collatérale de la moelle osseuse. L'effet thérapeutique recherché est la diminution de la masse tumorale, susceptible d'aboutir à une rémission de longue durée et parfois une guérison. Plus de 90% des indications (sur plus de 3000 autogreffes) sont des cancers d'origine hématologique.

Les indications non hématologiques des intensifications thérapeutiques permises par les autogreffes sont essentiellement démontrées et validées dans certaines tumeurs pédiatriques. En oncologie adulte, les indications sont à discuter au cas par cas, en l'absence d'essai clinique récent d'envergure.

### 1.3.3 Les allogreffes de cellules souches hématopoïétiques

L'allogreffe est un traitement qui vise à remplacer la moelle osseuse et le système immunitaire d'un patient par l'injection d'un greffon de cellules souches hématopoïétiques d'un donneur sain compatible (groupes HLA). Il s'en suit un conflit de cellule à cellule qui aboutit à l'éradication de l'ancienne moelle osseuse du patient (et des cellules tumorales qui en sont issues). La greffe implique la destruction préalable de la moelle osseuse et du système immunitaire du patient-receveur par une chimiothérapie spéciale (le conditionnement). Il y a plus de 2000 allogreffes réalisées chaque année.

L'activité d'allogreffe est (et sera) en constante augmentation essentiellement par trois mécanismes :

- Amélioration des procédures médicales, permettant de réduire la mortalité de la greffe (*Transplant Related Mortality* ou TRM),
- Augmentation des indications (et donc du nombre de patients),
- Diversification des sources de greffon de CSH, permettant d'identifier un greffon pour (presque) tous les patients.

#### 1- Amélioration des procédures médicales

Après les progrès des chimiothérapies de conditionnement (développement de conditionnements permettant la prise de la greffe avec intensité de chimiothérapie réduite), l'amélioration récente provient de la prise en charge des complications de la greffe (infectieuses, immunologiques et métaboliques).

La mise en place d'un système qualité européen (JACIE) pour la pratique des soins a également participé à la sécurisation des greffes dans ces dernières années. Ce développement doit se poursuivre (objectif du plan cancer 3).

L'Agence de la biomédecine a réalisé sur la période 2011-2014 une étude de la survie à 1 an et de la mortalité de greffe qui démontre de façon remarquable qu'il n'y a pas de différences statistiques entre les équipes françaises. Autrement dit, à indication égale, un patient a les mêmes chances de guérir quel que soit le centre de greffe, témoignant que les 37 centres d'allogreffe de France ont le volume d'activité suffisant pour entretenir la compétence. La sécurisation de la procédure d'allogreffe permet de proposer ce traitement curateur à davantage de patients.

#### 2- Augmentation des indications

Plus de 85% des patients allogreffés sont des adultes, essentiellement pour des leucémies et des myélodysplasies. Cependant, compte tenu de l'incidence des leucémies et des myélodysplasies qui augmente avec l'âge et de la sécurisation des procédures de greffes, il est désormais possible de proposer l'allogreffe à des populations de patients âgés de 65 - 70 ans.

Cet effet mécanique ne doit pas cacher d'autres aspects plus importants encore : l'allogreffe de CSH s'inscrit dans une stratégie globale de traitement des maladies hématologiques malignes.

Le développement des thérapies ciblées peut aussi permettre de contrôler des hémopathies autrefois réfractaires et de proposer l'allogreffe (option curative) à de nouveaux patients. De plus le développement des outils d'évaluation de la maladie résiduelle, moléculaire ou par imagerie, permet de greffer des patients plus tôt (avant que le rechute ne soit déclarée) et donc avec de meilleures chances de succès. Ceci aboutit à une amélioration continue des résultats à long terme de l'allogreffe. L'allogreffe de CSH est également un traitement adapté à des pathologies graves de la moelle osseuse et du système immunitaire. Ces pathologies sont en nombre moins important mais constant. Il faut souligner l'augmentation prévisible du nombre d'allogreffes pour traiter des pathologies de l'hémoglobine (type drépanocytose), dont la fréquence croît fortement en France. En effet,

l'augmentation des populations porteuses de ces pathologies contribue à faire de cette maladie génétique un enjeu pour tous les centres spécialisés, la prise en charge de ces patients étant très complexe avec des aspects pédiatriques, hématologiques, transfusionnels. L'allogreffe représente le seul traitement curateur pour l'instant.

### 3- Diversification des sources de greffon de CSH

Le maintien de l'accès pour l'ensemble des patients aux différentes sources de greffons de CSH fait partie intégrante des enjeux du plan prélèvement-greffe de CSH 2017-2021.

47% des allogreffes sont réalisées à partir de donneurs HLA compatibles intrafamiliaux et 53% à partir de donneurs non apparentés (inscrits sur des registres de donneurs). Les sources de CSH sont :

- à 73% des cellules souches prélevées dans le sang, par cytophérèse;
- à 17% des cellules de la moelle osseuse ;
- et à 10% des cellules provenant d'unités de sang placentaire.

L'enjeu concerne les patients qui n'ont pas de donneur HLA compatible, que ce soit dans la famille ou dans les registres de donneurs volontaires. La compatibilité HLA sur 10 antigènes (HLA 10/10) offre les mêmes chances de survie à long terme qu'un donneur familial compatible.

En l'absence de donneur compatible (HLA 10/10), Il faut recourir à un donneur dit alternatif : soit un donneur volontaire « moins compatible » en règle avec une incompatibilité 9/10, soit une unité de sang placentaire (qui permet une greffe moins compatible), ou encore à une procédure de greffe spécifique avec un donneur familial à moitié compatible (greffe haplo mismatch).

L'allogreffe avec un donneur présentant une incompatibilité HLA est bien connue et étudiée depuis longtemps. Elle offre des résultats fiables et reproductibles de survie à long terme de 10% à 15% inférieurs à un greffon compatible HLA 10/10.

La précédente décade a vu l'émergence de la greffe de sang placentaire, et la mise en place du Réseau français du Sang Placentaire à côté du registre national des donneurs volontaires de moelle osseuse (Registre France Greffe de Moelle de l'Agence de la biomédecine)

La place des greffes de sang placentaire a été mieux précisée. Elles ne constituent pas en effet une alternative équivalente au donneur vivant familial ou non apparenté compatible 10/10. L'engouement des débuts a été contrebalancé par plusieurs études cliniques qui ont montré des résultats inférieurs aux attentes dans certaines indications avec des taux de rechute plus importants qu'attendus dans les leucémies aiguës et une certaine proportion de non prise de greffe. Néanmoins, la greffe de sang placentaire a su trouver sa place en l'absence d'un donneur parfaitement compatible familial ou non apparenté, tout particulièrement en pédiatrie et constitue environ 10 % des allogreffes.

Plus récemment, plusieurs études ont remis en lumière une ancienne procédure d'allogreffe qui utilise un greffon issu d'un donneur familial mais à moitié compatible (greffe haplo mismatch ou haplo identique). Autrefois manipulé (déplétion en lymphocytes T), le greffon est désormais utilisé tel quel, après le conditionnement du patient, qui reçoit alors un traitement particulier après la greffe, visant à détruire les lymphocytes les plus agressifs du greffon.

Plusieurs études cliniques ont montré des résultats de toxicité liée à la procédure et de survie voisine de ceux connus avec les donneurs présentant une incompatibilité HLA.

Compte tenu des différentes possibilités représentées par ces donneurs alternatifs, des études scientifiques comparatives sont nécessaires afin de contribuer à une orientation stratégique et d'aider à la décision des équipes.

Les différentes sources de CSH sont complémentaires, aucune ne devant être remplacée ou abandonnée pour une autre : la diversité des pathologies et donc des programmes thérapeutiques adaptés, incluant les nouvelles molécules ciblées, la chimiothérapie et l'immunothérapie, incite à développer la recherche dans ces différents domaines pour mieux répondre aux besoins des patients candidats à une allogreffe de CSH.

### **1.3.4 Focus sur le sang placentaire**

#### **Développement du Réseau Français de Sang placentaire (RFSP)**

Suite à l'appel d'offres de l'Agence en 2007, à la mise en place d'un financement important par le plan cancer 2, et en raison d'une politique ambitieuse de développement du RFSP mise en œuvre par l'Agence de la biomédecine, le nombre de banques et d'unités de sang placentaire stockées a augmenté de manière importante de 2008 à 2013, et est parvenu à atteindre l'objectif de 30 000 unités de sang placentaire inscrites sur le registre national France Greffe de Moelle.

Le réseau français de sang placentaire, piloté par l'Agence de la biomédecine, s'appuie désormais sur 5 banques et 24 maternités, privilégiant des objectifs qualitatifs, adaptés aux besoins des professionnels de la greffe de cellules souches hématopoïétiques.

- Le stock actuel de greffons de sang placentaire validés et disponibles pour les patients est autour de 35.000 au 31 décembre 2016.
- Parmi les unités de sang placentaire stockées en 2016, 85% ont apporté de nouveaux phénotypes HLA par comparaison au stock précédemment disponible, et 60% n'avaient aucun haplotype ABDR générique fréquent, selon la liste de 25 haplotypes les plus fréquents du registre.
- La France reste le 2<sup>ème</sup> pays fournissant des greffons de sang placentaire au niveau mondial, après les USA.
- 

#### **Évolution des critères qualitatifs des greffons de sang placentaire**

L'Établissement français des Greffes puis l'Agence de la biomédecine pilotent le RFSP depuis sa création en 1999. Le critère principal retenu depuis cette date, concernant les greffons enregistrés et mis à disposition des patients, est celui de la richesse en cellules nucléées totales (CNT) et celle en cellules CD34+, marqueurs universellement reconnus pour les CSH.

Tous les greffons du stock français sont évalués sur leur quantité totale de CNT et de CD34+, avec un seuil obligatoire pour l'inscription d'un greffon sur le fichier français désormais fixé à  $\geq 160 \times 10^7$  CNT et  $\geq 2 \times 10^6$  CD34+. Cette exigence explique en partie le bon positionnement international des unités de sang placentaires françaises, malgré un stock total inférieur à celui de certains autres pays européens, et très loin du stock global des banques américaines.

Avec ces critères rigoureux, et dans le respect des contraintes réglementaires concernant la négativité des marqueurs infectieux de tous les greffons, actuellement environ 10% seulement des unités prélevées dans toutes les maternités du RFSP arrivent à l'étape finale de validation puis d'inscription sur le fichier du registre national.

Les recommandations de la SFGM-TC concernant le choix d'un greffon de sang placentaire, diffusées à tous les centres de greffes et s'appuyant sur les principales publications dans le domaine, donnent le chiffre **minimum** de 1.5 (double greffe) à  $2.5 \times 10^7$  (simple greffe) CNT/kg de poids du receveur pour optimiser les chances de prise de greffe.

Pour mémoire, le poids médian des patients adultes inscrits sur le fichier français est d'environ 70 kg (25 kg pour les patients pédiatriques).

En 2015, une MIG a été créée pour assurer le financement de prélèvements de sang placentaire dans les maternités partenaires des banques de sang placentaire, permettant ainsi :

- le maintien d'un réseau national de banques participant non seulement au renouvellement des unités de sang placentaire cédées, mais à l'enrichissement des unités stockées ;
- le maintien d'un maillage national de maternités choisies en fonction de la qualité des prélèvements effectués et de la diversité HLA des greffons susceptibles d'y être prélevés ;
- le renforcement des critères de qualité (CNT >  $160 \cdot 10^7$  après miniaturisation) des nouveaux greffons permettant de mieux répondre aux besoins des patients.

### **Conservation autologue du cordon (conservation pour son enfant) pour des maladies malignes ou génétiques**

En ce qui concerne l'éventuelle utilisation de sang placentaire autologue pour traiter les maladies hématologiques malignes, on se heurte à deux problèmes : Il est désormais bien établi que nombre de leucémies de l'enfant, quel que soit leur type, sont présentes sous la forme de quelques cellules malades dès la naissance et seraient donc congelées avec le sang placentaire éventuellement conservé, et donc réinjectées au moment de l'éventuelle greffe. Ensuite, il ne faut compter sur aucune activité immunologique du greffon contre la maladie, qui est la raison principale de la réalisation de greffes allogéniques pour ces pathologies. C'est pour ces deux raisons au moins que cette option n'a aujourd'hui aucune pertinence scientifique.

Pour les mêmes raisons, les cellules malades (gène déficient) étant présentes à la naissance, la greffe autologue n'a aucun intérêt pour le contrôle de maladies génétiques comme l'aplasie de Fanconi ou les déficits immunitaires combinés sévères.

Dans le cas de maladies néoplasiques, telles que le neuroblastome, le lymphome, le myélome, si une autogreffe de cellules souches hématopoïétiques doit être pratiquée pour contrebalancer les effets d'une chimiothérapie intensive à but thérapeutique, ce sont les cellules souches hématopoïétiques collectées dans le sang périphérique (plus grande richesse des greffons collectés) qui seront choisies, car la récupération hématologique est plus rapide.

Il n'y a donc pas à ce jour de preuve de l'intérêt d'une conservation autologue du sang placentaire d'un enfant pour des maladies malignes ou génétiques.

### **Utilisation de sang placentaire pour une médecine régénérative ?**

Le droit individuel à faire « un pari » sur l'avenir et sur une hypothétique avancée des recherches sur la médecine « régénérative » ne doit pas détourner des gestes de solidarité pour un usage allogénique bien réel et prouvé. Cette position de promotion des banques à visée allogénique est soutenue par de nombreuses instances et institutions françaises, européennes et américaines.

Il existe actuellement, dans des pays Européens et aux Etats Unis, des entreprises commerciales qui prélèvent et stockent les cordons contre rémunération et dans la seule optique d'un usage autologue, ou bien pour un usage « mixte » soit : conservation du sang placentaire pour une utilisation autologue (ou familiale) exclusive ou « autologue solidaire » (autologue ou allogénique si receveur identifié) avec remboursement des frais de conservation, si le sang placentaire est utilisé pour un malade. L'information qui est délivrée au public par ces sociétés est souvent incomplète, voire inexacte.

La législation concernant la conservation de sang placentaire, basée sur le principe de la solidarité et de l'utilisation thérapeutique exclusive des produits du corps humain, doit permettre de promouvoir et

protéger la conservation à visée thérapeutique allogénique, d'une utilité incontestable pour la santé publique, et interdire le détournement purement commercial du sang placentaire pour des visées autologues, totalement hypothétiques.

Enfin, en l'état actuel des travaux de recherches, il n'est pas possible de prédire une utilisation future de ces cellules dans le cadre de thérapies régénératives.

## **1.4. Thérapies innovantes**

La thérapie cellulaire est principalement représentée dans ses indications de routine, par la greffe de cellules souches hématopoïétiques (CSH). La thérapie cellulaire utilise des cellules issues du corps humain pour traiter des maladies spécifiques. Ces cellules remplissent les mêmes fonctions chez le donneur et le receveur. La transformation non substantielle des cellules doit être réalisée dans un établissement dûment autorisé (unité de thérapie cellulaire). Des essais cliniques utilisant, par exemple, l'injection chez le patient de cellules NK allogéniques triées, ont déjà démarré notamment au CHU Besançon dans le cadre du traitement de cancers du côlon, du rectum, de l'intestin grêle ou du pancréas.

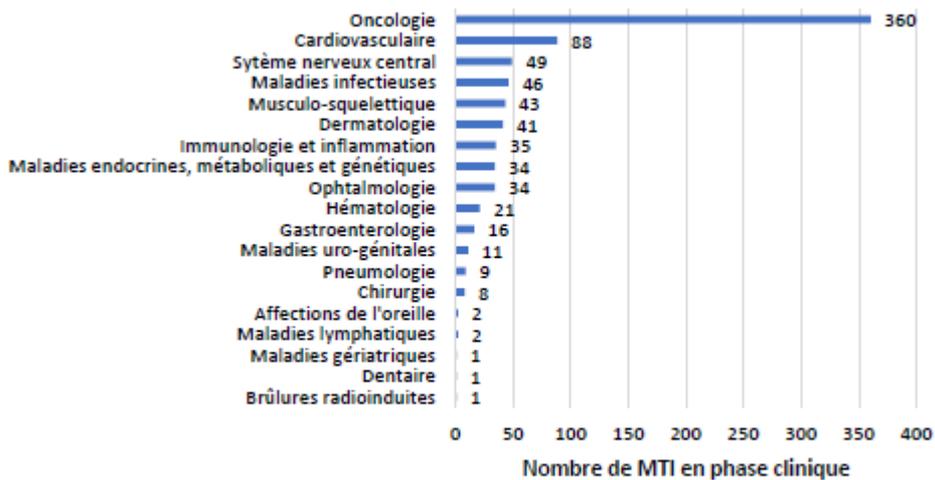
Les préparations de thérapie cellulaire se distinguent donc des médicaments de thérapie innovante (MTI) qui sont produits selon un procédé industriel dans un établissement, pharmaceutique ou non, dûment autorisé. Ces produits sont préparés à partir des tissus ou cellules d'un patient pour lui-même (MTI autologue) ou pour un ou plusieurs autres patients (MTI allogénique).

La réglementation distingue plusieurs types de MTI préparés à partir de cellules, MTI de thérapie cellulaire somatique ou MTI issus de l'ingénierie tissulaire ou MTI de thérapie génique.

Concernant les MTI de thérapies cellulaires somatiques, les progrès attendus concernent principalement l'immunothérapie des cancers (AMM européenne pour Provenge dans le cancer de la prostate ou AMM délivrée récemment par la FDA pour un CART (lymphocytes génétiquement modifiés) dans le traitement de la leucémie lymphoïde chronique réfractaire.

Les progrès attendus, notamment pour les MTI issus de l'ingénierie tissulaire, concernent principalement les domaines de l'oncologie, des maladies cardiovasculaires et des maladies neurodégénératives (système nerveux central) Le champ de l'innovation reste en ce domaine particulièrement vaste.

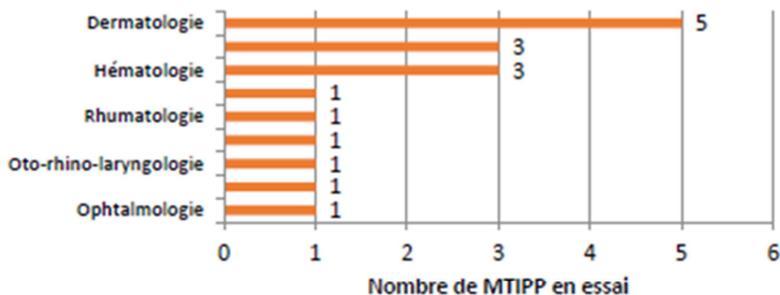
Figure 2- Répartition des essais cliniques de MTI en 2016 selon les aires thérapeutiques



Source: adapté de *Presentation at the Advanced therapies Summit in Barcelona. Alliance for Regenerative Medicine* 22/03/2017

Par ailleurs, un statut spécifique est prévu pour ces produits lorsqu'ils sont préparés par des structures hospitalières notamment (exemption hospitalière prévue par le règlement européen) et appelés en France MTI-PP (préparés ponctuellement).

Figure 3- Répartition des essais cliniques de MTIPP en France depuis 2012 selon les aires thérapeutiques



Source : agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé (ANSM)

Pour avoir une idée globale de ce domaine émergent, de nombreux autres produits sont actuellement en cours de développement dans le cadre des essais cliniques et nombre de demandes d'avis scientifiques sont enregistrées par l'agence européenne (site de l'EMA : [http://www.ema.europa.eu/ema/index.jsp?curl=pages/regulation/general/general\\_content\\_000049.jsp&mid=WC0b01ac05800229b9](http://www.ema.europa.eu/ema/index.jsp?curl=pages/regulation/general/general_content_000049.jsp&mid=WC0b01ac05800229b9)), ce qui rend compte d'un domaine très actif et très compétitif pour la recherche française et les start-up souvent à l'origine de ces développements. Ce champ présente également des enjeux majeurs dans le domaine économique au regard des coûts élevés de développement et en conséquence des possibilités d'accès à ces traitements pour les patients français. La direction générale de l'offre de soins mène actuellement une réflexion sur les différents modes de financement des MTI.

### 1.4.1. Domaine cardio-vasculaire

L'ensemble des études et méta-analyses rendent compte d'un apport modeste mais hautement probable de la thérapie cellulaire pour l'amélioration de la fonction cardiaque, justifiant pleinement la poursuite des études cliniques au regard notamment de la taille des populations concernées et des retombées éventuelles en termes de santé publique.

### **Thérapie cellulaire**

Malgré un développement continu de la recherche sur l'utilisation de la thérapie cellulaire dans le traitement de l'insuffisance cardiaque, son bénéfice reste à établir. Au cours de la dernière décennie, différents types cellulaires ont été administrés pour permettre la régénération cardiaque : cellules souches adultes ou myoblastes avec des résultats chez l'homme encourageants mais limités en particulier en termes d'amélioration de la fonction contractile. En 2014, un essai de phase 1 a démarré en France utilisant des dérivés de cellules souches embryonnaires. Les premiers résultats ont montré que la greffe était très bien tolérée par les patients et suggèrent que les cellules ont pu avoir une certaine efficacité. Ces observations sont encourageantes bien qu'elles soient à interpréter avec prudence et qu'il convienne d'attendre la fin de l'essai clinique pour conclure formellement.

Dans le registre du National Institute of Health ([clinicaltrials.gov](http://clinicaltrials.gov)) une trentaine d'études cliniques sur la thérapie cellulaire dans l'insuffisance cardiaque sont répertoriées en cours. Ces études doivent démontrer l'efficacité et la sécurité d'emploi de la thérapie cellulaire dans cette indication.

### **Thérapie génique**

L'insuffisance cardiaque est due à la fois à une perte de cellules (les cardiomyocytes) et à un dysfonctionnement des cellules restantes qui ne se contactent pas de façon adéquate. Le transfert à l'intérieur du cardiomyocyte d'un gène codant pour une enzyme impliquée par exemple dans l'homéostasie du calcium pourrait améliorer sa fonction contractile. L'utilisation de nouveaux vecteurs viraux a donné un nouvel élan à une approche thérapeutique qui avait été mise de côté pour des raisons principalement de sécurité. Une étude clinique de phase 1 va être initiée prochainement en Europe et sera la première étude de thérapie génique dans l'insuffisance cardiaque chez l'homme. Les enjeux scientifiques et financiers sont importants.

## **1.4.2. Greffe d'îlots de Langerhans**

La greffe d'îlots de Langerhans à partir de pancréas totaux prélevés est une technique en développement. Les îlots de Langerhans, cellules du pancréas qui sécrètent l'insuline, sont détruites ou inactives chez les diabétiques de type I ou insulinodépendant. La greffe de ces îlots constitue une des thérapeutiques de remplacement proposées à ces patients. Cette activité de greffe est encadrée en France par deux essais cliniques de thérapie cellulaire autorisés par l'ANSM, à Grenoble et à Lille. Les résultats à long terme de ces deux protocoles permettront de mieux préciser la place de la greffe d'îlots dans le traitement du diabète. La greffe d'îlots diffère de la greffe classique d'un organe car les patients reçoivent, en règle, plusieurs injections successives d'îlots, une seule injection n'assurant pas une production suffisante d'insuline. En 2015 47 patients ont bénéficié de cette technique innovante.

Cette thérapie cellulaire est particulière par le fait qu'elle exige un organe entier, le pancréas, pour être mise en œuvre et qu'elle se trouve, de ce fait, en compétition avec la greffe de l'organe entier, la greffe pancréatique, dans un contexte de pénurie d'organes. Ceci d'autant plus, qu'il est nécessaire de prélever plusieurs pancréas pour une seule greffe d'îlots. L'intérêt de cette thérapeutique par rapport à la greffe pancréatique, qui reste le traitement de référence mais est extrêmement délicate, repose sur sa simplicité technique (injections d'îlots en intra-hépatique *via* la veine porte) et son faible taux de complications.

Cependant, à ce jour, bien qu'elle soit apparue depuis 1974, et malgré les nombreux progrès réalisés puisque le taux de succès à un an est actuellement de 80%, la greffe d'îlots continue à se heurter à de

nombreuses difficultés qui limitent son développement clinique. La procédure est longue et coûteuse, avec une première étape d'isolement des îlots issus du pancréas, au cours de laquelle environ 50% des îlots sont éliminés. Il est ainsi nécessaire d'utiliser plusieurs pancréas pour obtenir la quantité d'îlots nécessaire à une greffe efficace. La deuxième étape-clé est la prise de la greffe après injection des îlots, avec à nouveau une perte estimée d'environ 50 % et la nécessité de plusieurs injections successives. Enfin, l'obstacle majeur réside dans la perte rapide de fonction des îlots, avec dans les équipes les plus expertes seulement un tiers des patients qui conservent leur insulino-indépendance à 3 ans alors que le taux de survie à 5 ans après greffe pancréatique est de 80%. Ces difficultés font que les greffes d'îlots de Langerhans ne sont pas encore réalisées en routine. Elles font l'objet d'un projet de recherche médico économique (PRME) dans son axe innovation.

Néanmoins, cette thérapie cellulaire continue à soulever de grands espoirs auxquels la France contribue de façon très active.

Les voies de recherche concernent chaque étape : mise au point de liquides de conservation plus adéquats pour le pancréas ; amélioration des techniques d'isolement ; mise au point de tests biologiques permettant de prédire la viabilité des îlots isolés avant leur injection ; prévention de la destruction des îlots injectés par réduction de la réaction inflammatoire immédiate (traitement par Exenatide®, essai d'autres sites d'implantation que le foie) ; mise au point de nouveaux protocoles d'immunosuppression moins toxiques.

Parmi les pistes plus lointaines mais qui pourraient apporter des réponses aux principaux obstacles, outre les xéno greffes d'îlots évoquées plus haut deux sont à retenir ; la première voie concerne le développement de méthodes d'encapsulation des îlots (alginate de calcium recouvert de polyornithine en particulier) pour les protéger et réduire voire éviter l'immunosuppression. La deuxième et sans doute la plus prometteuse concerne une thérapie cellulaire directe : soit par production en laboratoires de cellules bêta du pancréas, transplantées aux diabétiques, à partir de cellules souches embryonnaires, soit par stimulation *in vivo* aboutissant à la formation de cellules bêta chez le patient à partir de précurseurs ou même à partir de reprogrammation de cellules souches. Ces dernières techniques auraient l'avantage de régler le problème de pénurie d'organes que soulèverait le développement important de la greffe d'îlots à partir de pancréas.

### 1.4.3 Cellules CAR-T

L'immunothérapie du cancer à partir de cellules génétiquement modifiées appelées CAR-T (pour « chimeric antigen receptor » ou cellules T porteuses d'un récepteur chimérique) est un traitement combinant thérapie cellulaire et ingénierie génétique.

Les cellules CAR-T sont le résultat d'une modification génétique de lymphocytes T prélevés directement chez le patient, puis modifiés génétiquement *in vitro* afin de leur faire exprimer un récepteur artificiel, dit chimérique puisqu'il comporte trois parties :

- une partie extra-cellulaire qui reconnaît spécifiquement un antigène tumoral, comme par exemple l'antigène CD19 de la leucémie aiguë lymphoblastique (LAL) ;
- une partie transmembranaire ;
- une partie intra-cellulaire qui va se charger de l'activation des lymphocytes après fixation sur les cellules tumorales.

Une fois modifiés, les CAR-T sont amplifiées *in vitro* puis ré-injectés chez le patient.

Les premières constructions de ce type ont été décrites à la fin des années 80. Depuis, elles ont évolué afin d'en améliorer la spécificité et l'efficacité. Les derniers essais cliniques en date impliquent des CAR-T dits de « troisième génération ».

Les traitements par CAR-T semblent particulièrement prometteurs : les lymphocytes T sont initialement prélevés chez le patient, ainsi ils ne posent pas de problème de compatibilité, et ils sont génétiquement modifiés de sorte à reconnaître spécifiquement la tumeur et éviter toute réaction du greffon contre l'hôte. Afin d'améliorer la sécurité de ce type de traitement, un gène suicide spécifiquement inducible peut être ajouté dans les cellules, de façon à pouvoir les détruire en cas de réaction imprévue contre les organes du patient.

A ce jour, près de 150 essais cliniques sont référencés dans le monde utilisant des cellules CAR-T, principalement en Chine et aux Etats-Unis (aucun en France). Les premiers résultats particulièrement concluants de ces essais (jusqu'à 83% des patients ayant reçu une seule dose sont entrés en phase de rémission) ont conduit la Food and Drug Administration aux Etats-Unis à délivrer en août 2017 la première autorisation de mise sur le marché pour ce type de thérapie dans le cadre du traitement de la LAL, puis une deuxième au mois d'octobre dans le cadre du traitement des lymphomes non hodgkinien. Les espoirs suscités par ces traitements sont particulièrement grands, bien que leur coût demeure prohibitif .



**- 2 -**

## **Les progrès dans le champ de la procréation, de l'embryologie et de la génétique**



## **2. Les progrès dans le champ de la procréation de l'embryologie et de la génétique**

Les progrès médicaux, scientifiques et techniques qui concernent le champ de la procréation de l'embryologie et de la génétique sont tout particulièrement sensibles, parce qu'ils engagent des enjeux éthiques et sociétaux de première importance. Au-delà des progrès des techniques de l'assistance médicale à la procréation (2.1.), et alors que la prise en charge des familles est renforcée par les améliorations que connaissent les activités de diagnostic prénatal et préimplantatoire (2.4.), une attention toute particulière doit être portée aux bouleversements que pourraient entraîner les avancées en cours dans le champ des dépistages néonataux (2.2.) et des tests génétiques (2.3.).

### **2.1. Assistance médicale à la procréation**

Si les techniques mobilisées dans le cadre de l'assistance médicale à la procréation (AMP) ont connu des progrès majeurs depuis la naissance des premiers « bébés éprouvettes », leur efficacité n'en demeure pas moins susceptible d'améliorations (2.1.1.). C'est toutefois également au plan organisationnel et méthodologique que se préparent les réponses aux défis de demain (2.1.2.).

#### **2.1.1 Progrès attendus des techniques d'AMP**

L'effort de recherche est aujourd'hui concentré sur l'amélioration des connaissances concernant les bases moléculaires des infertilités, de façon à améliorer la classification des pathologies et de mieux sélectionner l'approche thérapeutique adaptée à chaque cas. Il est difficile d'anticiper sur les innovations possibles. Elles peuvent concerner les effets de l'âge, le « rajeunissement » ovarien, les déterminants de la croissance folliculaire, la maturation ovocytaire in vitro, les techniques de fécondation, les milieux de fécondation et de culture, les techniques de congélation embryonnaire et ovocytaire.

Une nouvelle procédure, introduite dans la loi de 2011, vise à offrir la possibilité d'améliorer les procédés biologiques d'AMP dans un cadre rigoureux et sécurisé. Elle repose sur la possibilité d'autoriser de nouvelles techniques visant à améliorer un procédé biologique d'AMP existant. Ces autorisations, délivrées par le directeur général de l'Agence de la biomédecine sur avis du conseil d'orientation, s'appuient sur un dispositif réglementaire tout en apportant des garanties spécifiques (décret 2012-360 du 14 mars 2012 relatif aux procédés biologiques utilisés en AMP, arrêté du 18 juin 2012 fixant la liste des procédés biologiques régulièrement utilisés en AMP).

La possibilité de mener des recherches en AMP comportant le transfert de l'embryon dans l'utérus à des fins de grossesse, a été introduite par un récent dispositif législatif et réglementaire ayant permis d'intégrer la recherche en AMP dans le cadre général des recherches biomédicales avec des garanties propres (décret 2015-155 du 11 février 2015 pris en application de la loi 2016-41 du 26 janvier 2016 de modernisation de notre système de santé). Les protocoles de vitrification ovocytaire ou embryonnaire ou les modifications des conditions de culture et les protocoles de préservation de la fertilité occupent aujourd'hui une place prépondérante.

### **La vitrification ovocytaire et embryonnaire**

Deux méthodes sont disponibles en matière de cryoconservation des embryons ou des ovocytes : la congélation lente et la vitrification. La vitrification est une méthode de congélation ultra-rapide par laquelle un liquide se transforme en solide sans formation de cristaux ; elle fait appel à des solutions de congélation différentes de celles utilisées dans les techniques classiques de congélation. Cette technique de vitrification est développée pour la conservation des ovocytes depuis 1995 en recherche fondamentale et est entrée dans la pratique de l'AMP depuis le milieu des années 2000 dans de nombreux pays, notamment en Europe. Si la congélation lente des embryons reste une technique largement utilisée dans le monde, la vitrification fait l'objet d'un réel engouement du fait des résultats observés notamment pour les stades les plus tardifs du développement embryonnaire préimplantatoire (blastocyste). Par ailleurs, la vitrification d'ovocytes s'est facilement substituée à la congélation lente des ovocytes en raison des résultats rapportés aussi bien en termes de taux de survie après décongélation que de grossesses cliniques après transfert.

Développée d'abord sur le plan technologique au Japon (dispositifs) la vitrification ovocytaire a été mise en œuvre à grande échelle en Italie en raison de l'interdiction initiale par la loi de congeler les embryons.

L'intégration de la vitrification ovocytaire dans la loi de bioéthique du 11 juillet 2011 a permis le déploiement de cette technique en France. Les années qui viennent vont permettre d'observer la montée en charge de cette technique notamment dans les deux situations suivantes :

- Dans le cadre du don d'ovocytes, la possibilité de conserver les ovocytes dans de bonnes conditions permet de dissocier l'acte du don et celui de l'utilisation de tout ou partie des ovocytes chez une receveuse. En outre, cette possibilité va être mise en œuvre dans le contexte d'un don réalisé par une femme n'ayant pas procréé dans le cadre d'un dispositif créé par la loi de bioéthique. Ce dispositif permet, sous certaines conditions, à la donneuse n'ayant pas procréé de conserver pour elle-même une partie des ovocytes prélevés en vue d'une éventuelle réalisation ultérieure, à son bénéfice, d'une assistance médicale à la procréation, si elle se trouve confrontée à une infertilité de nature médicale.
- Dans le cadre de la préservation de la fertilité chez la femme, la vitrification ovocytaire permet d'envisager une cryoconservation des ovocytes sous réserve de pouvoir mener une stimulation ovarienne dans le contexte de l'autoconservation (nature de la maladie, urgence du traitement, état de la fonction ovarienne). Il s'agit donc d'une procédure qui vient s'ajouter à la congélation de tissu ovarien et à la congélation embryonnaire, lorsque cette dernière est envisageable (femme vivant en couple, pouvant réaliser une stimulation ovarienne).

En dehors de ces situations, la vitrification d'une partie de la cohorte ovocytaire prélevée a également été envisagée au cours d'une fécondation in vitro. L'objectif poursuivi est de limiter le nombre d'embryons surnuméraires conservés.

L'efficacité de cette stratégie reste à évaluer, dans le cadre du suivi de la mise en place de la vitrification, de l'évaluation de son efficacité et des naissances qui en sont issues, tel qu'imposé par la loi de bioéthique de 2011.

### **Conservation de tissus germinaux**

Tissu ovarien :

- Elle s'est d'abord développée pour la conservation de tissu ovarien où elle s'est présentée comme une modalité de préservation de la fertilité applicable aussi bien chez la fille avant la puberté que chez la femme jeune. La capacité des follicules de petite taille à résister à la congélation, puis à reprendre leur développement après greffe soit dans la loge ovarienne soit dans un autre site a été largement confirmée, même si le nombre d'enfants nés à la suite d'une autogreffe de tissu ovarien reste limité. Depuis la première naissance rapportée en 2004, une centaine de naissances

a été rapportée à ce jour. Seules les greffes réalisées dans la loge ovarienne ont permis d'obtenir des naissances qu'elles soient issues de grossesse spontanée ou d'une assistance médicale à la procréation. En France, 2100 prélèvements de tissu ovarien ont été recensés et au 31 décembre 2016, 79 femmes ont réalisé une autotransplantation aboutissant à 19 naissances et 3 grossesses évolutives (FFER enquête Grecot 2017),

- Un enjeu majeur pour le futur concerne les situations de préservation de la fertilité comportant un risque de maladie résiduelle au niveau du tissu greffé. L'évaluation de ce risque sur le greffon ou la possibilité de le contrôler sont un préalable à l'autotransplantation chez la patiente dont l'affection initiale est maîtrisée au moment de sa demande de restauration de sa fertilité.
- La construction d'ovaire artificiel reste quant à elle purement expérimentale actuellement.
- L'alternative à ces situations repose sur la capacité à reproduire *in vitro* l'ensemble des étapes permettant la croissance des follicules du stade initial de follicule primordial au stade de follicule pré-ovulatoire.

Cette conservation de tissus germinaux permettrait de s'affranchir du risque de maladie résiduelle puisque la seule cellule réintroduite chez la patiente serait l'embryon résultant de la fécondation *in vitro*. Si la folliculogenèse *in vitro* est bien maîtrisée chez la souris, en revanche les travaux menés tant sur les étapes initiales que sur les étapes les plus tardives du développement folliculaire dans l'espèce humaine, même si très prometteurs, n'ont pas encore atteint le stade de l'application clinique. Une étape décisive a cependant été franchie par l'obtention d'un « rajeunissement » ovarien chez des femmes en insuffisance ovarienne prématurée, par une procédure de prélèvement ovarien, activation *in vitro* puis auto-transplantation.

Trois naissances ont été rapportées dans ce cadre. Une autre perspective a été ouverte par l'identification au niveau de l'ovaire chez la souris mais aussi chez la femme adulte de cellules ovogoniales à potentiel souche suggérant la possibilité d'une néoovogenèse ( *Monget P, Bobe J, Gougeon A. La néo-ovogenèse dans l'ovaire des vertébrés : une vision expérimentale et évolutive. mt Médecine de la Reproduction, Gynécologie Endocrinologie 2011 ; 13(1) : 4-10 doi:10.1684/mte.2011.0337.*

L'obtention d'ovocytes fécondables et de petits viables n'a été rapportée que chez la souris.

Tissu testiculaire :

- Autant l'autoconservation de spermatozoïdes a pu être, du fait de la capacité à les congeler, proposée très tôt chez le garçon pubère ou l'homme adulte confronté à un traitement stérilisant, autant la préservation de la fertilité chez le garçon avant la puberté garde un caractère expérimental. En effet, contrairement à la fille avant la puberté chez laquelle il est possible de préserver la population des petits follicules puisqu'elle a été constituée avant la naissance, le garçon avant la puberté n'a pas démarré sa spermatogenèse. La congélation de tissu testiculaire concerne alors seulement des spermatogonies, parmi lesquelles se trouve une population de cellules germinales véritablement souches. La restauration d'une spermatogenèse *in vivo* dépend dans ces conditions de la capacité à réintroduire cette population cellulaire dans les tubes séminifères désertés à la suite du ou des traitements stérilisants. Techniquement possible chez les murins, cette transplantation n'est pas encore réalisable chez l'homme, mais des résultats encourageants sont rapportés chez le primate non hominien.
- L'alternative à l'autotransplantation est le développement d'une spermatogenèse complète *in vitro*. Celle-ci se heurte à des difficultés méthodologiques incomplètement résolues dans les modèles expérimentaux animaux, même si les publications récentes attestent de la possibilité d'assurer une spermatogenèse *in vitro* efficace chez les murins aboutissant à la naissance de petits en bonne santé et fertiles.

### **La maturation ovocytaire *in vitro***

La maturation *in vitro* (MIV) est un procédé biologique consistant à permettre à des ovocytes prélevés à l'état immature d'acquies au cours de la culture la compétence à la méiose et au développement en vue d'une fécondation *in vitro* ou d'une cryoconservation. Après une étape de stimulation ovarienne à très faibles doses, un prélèvement ovocytaire est effectué.

Les étapes du procédé biologique de maturation des ovocytes *in vitro* consistent en :

- la mise en culture des ovocytes avec des milieux spécifiques pendant 1 à 2 jours après le prélèvement (le plus souvent la maturation est atteinte en moins de 36h) ;
- l'observation des ovocytes afin de repérer l'apparition du globule polaire, signe de compétence de l'ovocyte à la méiose.

Il est possible ensuite d'appliquer aux ovocytes matures les procédures habituelles de la fécondation *in vitro* avec ICSI.

La MIV est peu développée ; mise en place initialement dans certaines situations particulières (syndrome des ovaires polykystiques, contre-indication à l'hyperstimulation ovarienne du fait de risques cardiovasculaires, d'antécédents de tumeur hormonodépendante ou volonté de réduire les effets secondaires des traitements ou les coûts), elle a plus récemment été mise en œuvre dans le cadre de la préservation de la fertilité avec cryoconservation des ovocytes ayant mûri *in vitro*.

Ainsi en 2015, le recours à la MIV a concerné 5 centres avec 76 tentatives (FIV, ICSI et TEC) et 10 enfants en sont issus (données 2015 de l'Agence de la biomédecine).

Les chances de succès restent inférieures à celles des ICSI au cours desquelles sont prélevés des ovocytes matures. Si l'on s'en tient aux publications, ce seraient plus de 400 enfants qui auraient été conçus grâce à la MIV dans le monde. Les chiffres sont vraisemblablement 3 fois plus importants. Les enfants sont a priori bien portants ; les études disponibles sur leur état de santé sont rassurantes. Cependant, elles portent sur de petites séries.

### **Les améliorations techniques en attente de preuve de leur efficacité clinique :**

#### **L'IMSI (Intracytoplasmique magnified sperm injection)**

L'IMSI consiste à observer à un très fort grossissement et à choisir le spermatozoïde qui sera injecté au cours de la procédure d'ICSI. Aucune manipulation directe n'est faite en vue de modifier la qualité des gamètes ou la composition du milieu. La recherche consiste à évaluer l'efficacité comparée de l'IMSI et de l'ICSI classique. Cette technique peut être considérée comme une « amélioration technique » visant à augmenter les chances sans faire appel à des manipulations invasives des gamètes ou des embryons. Une évaluation a été menée en France dans le cadre d'un Programme Hospitalier de Recherche Clinique, impliquant 7 centres. Elle n'a pas apporté d'élément en faveur d'une supériorité de cette technique en première intention par rapport à l'ICSI conventionnelle quelles que soient les variables d'ajustement utilisées. L'intérêt de cette technique en cas d'échec d'implantation en ICSI ne pourra être évalué que par un essai randomisé.

#### **La mesure de la fragmentation de l'ADN des spermatozoïdes ou les traitements visant à réduire le stress oxydatif sur l'ADN**

Cette approche n'est pas consensuelle, la dernière méta-analyse à ce sujet n'ayant permis ni de conclure à la capacité de cet examen de prédire les chances de conception après une tentative de fécondation *in vitro*, ni d'orienter la prise en charge thérapeutique. Seul un essai randomisé pourra évaluer le bénéfice d'un traitement anti-oxydant.

### ***Les aménagements techniques destinés à améliorer les conditions de l'implantation.***

Sont visés les facteurs d'adhérence (fibrine, acide hyaluronique) pour lesquels on ne dispose d'aucune étude randomisée concluante ou l'éclosion assistée pour laquelle trois méta-analyses n'ont permis aucune conclusion quant à sa plus-value clinique.

### ***L'évolution des méthodes de culture embryonnaire***

Elle a été marquée ces dernières années par l'utilisation croissante d'incubateurs de taille réduite (mini-incubateurs) permettant une régulation plus fine et plus rapide de certains paramètres (pH, température, pression partielle des gaz). A ces dispositifs s'est ajouté un système d'observation en continu permettant d'appréhender les événements postérieurs à la fécondation avec une grande précision chronologique. La plus-value revenant respectivement aux conditions de culture mieux contrôlées (dans les deux cas ci-dessus) et à l'observation cinétique des événements (dans le dernier cas) reste à déterminer sur le plan scientifique. Cette dernière méthode fait l'objet d'une évaluation dans quelques centres.

L'identification de biomarqueurs d'intérêt à valeur pronostique fait l'objet de nombreux travaux depuis une quinzaine d'années sans que n'ait (aient) encore véritablement émergé le (ou les) biomarqueur(s) confirmant une réelle utilité clinique confirmée dans un essai randomisé contrôlé.

## **2.1.2 Perspectives organisationnelles et méthodologiques**

### ***Prévalence de l'hypofertilité et prospective de la demande d'AMP***

Depuis une quinzaine d'années, les épidémiologistes évoquent une possible détérioration de la fertilité masculine mesurée notamment par les caractéristiques spermatiques chez les candidats au don de sperme. Plus récemment une étude réalisée à partir des données du registre FIVNAT entre 1985 et 2005 a retrouvé une diminution significative de la concentration des spermatozoïdes chez des conjoints de patientes présentant une indication tubaire de fécondation *in vitro*, de 1,9% par an sur l'ensemble de la période. Cette détérioration serait susceptible d'altérer la fécondabilité des couples, c'est-à-dire les chances de conception pour un couple qui tente d'avoir un enfant. Par ailleurs, les démographes constatent que l'âge auquel les femmes souhaitent leur premier enfant ne cesse d'augmenter. Il a gagné près de 5 ans ces trente dernières années. La modélisation de la baisse de la qualité du sperme des hommes et de l'augmentation de l'âge des femmes lors de leur première grossesse démontre que ces variables ont un faible impact sur le nombre final d'enfants par femme, mais qu'elles risqueraient d'accroître fortement la demande de procréation médicalement assistée. Le modèle publié par des chercheurs de l'INED en 2008 révèle ainsi qu'une baisse de 15% de la fécondabilité des hommes entraînerait un bond de 73% d'éligibilité à l'AMP. Cette tendance serait encore plus marquée si l'on ajoute le report des grossesses ; sous l'hypothèse où l'âge moyen à la maternité passait à 33 ans, on constaterait ainsi une hausse de près de 80 % d'éligibilité à l'AMP, avec ainsi plus d'un couple sur cinq concerné. Ainsi, si la fécondité de la population française n'est pas menacée à court terme par la baisse de la fécondabilité et l'âge plus avancé des mères, ces études suggèrent que les difficultés individuelles à concevoir pourraient aller en augmentant, entraînant un recours accru à l'AMP (cf. rapport sur les troubles de la fertilité : état des connaissances et pistes pour la recherche. Rapport fourni par l'Inserm et l'Agence de la biomédecine au Parlement conformément à l'art. 51 de la loi n°2011-814 du 7 juillet 2011.)

### ***L'organisation du suivi des femmes et des enfants***

Les données de la littérature concernant les issues de grossesse et l'état des enfants font l'objet de controverses notamment pour ce qui concerne le lien entre morbidité néonatale et le statut d'infertilité des patients ou la pratique d'AMP par elle-même. De même, le lien éventuel avec certaines maladies très rares d'origine épigénétique reste une question sans réponse actuellement. Le suivi individuel et exhaustif des 25 000 enfants conçus chaque année par AMP en France, et ce jusqu'à l'âge adulte, n'est pas envisageable.

L'Agence de la biomédecine a validé la possibilité d'utiliser le **programme de médicalisation des systèmes d'information** pour mener des études épidémiologiques de suivi de cohortes de femmes ayant eu accès à la FIV. L'autorisation obtenue en 2017 de l'accès aux données de l'assurance maladie (SNIIRAM) permettra de compléter ce travail d'analyse avec les femmes ayant eu recours à l'insémination, de décrire le parcours des femmes et le suivi à long terme des donneuses d'ovocytes.

Les premières analyses ont confirmé les données de la littérature qui montrent que la morbidité maternelle et infantile sont augmentées dans cette cohorte par rapport aux femmes n'ayant pas eu recours à la FIV. L'interprétation de ces résultats fait l'objet de discussions pour ce qui concerne le lien avec le statut d'infertilité des patients ou la pratique d'AMP par elle-même. L'accès aux données du SNIIRAM devrait permettre d'identifier un groupe de femmes infertiles n'ayant pas eu recours à l'AMP et de quantifier leurs risques de morbidités.

## **2.2. Génétique**

Les examens génétiques visent à confirmer le diagnostic d'une affection génétique chez un sujet malade, à préciser les statuts des apparentés et le risque encouru par un enfant né ou à naître, ou à déterminer si un sujet à risque est ou non porteur du gène responsable avant que n'apparaissent les premiers symptômes. Ils peuvent permettre l'identification de facteurs de risque génétique ayant un impact sur la prise en charge thérapeutique de la personne (pharmacogénétique). En France, les tests génétiques sont faits uniquement dans des laboratoires autorisés par les agences régionales de santé par des praticiens agréés par l'Agence de la biomédecine; ils ne peuvent être prescrits et réalisés que dans l'intérêt d'une personne; ils doivent faire l'objet d'une explication préalable lors d'une consultation dédiée et d'un consentement écrit du sujet. Un effort d'information du public s'impose tout particulièrement, alors que de nouvelles technologies sont disponibles (2.3.1.) et que l'offre de tests génétiques explose sur Internet (2.3.2.). C'est pourquoi, l'Agence de la biomédecine a mis en ligne en septembre 2014 le site « [genetique-medicale.fr](http://genetique-medicale.fr) ». Ce site pédagogique grand public vise à apporter une information validée par les professionnels de la génétique.

### **2.2.1 De nouvelles technologies**

#### ***Les études « génome entier » et apparenté.***

Les technologies actuelles permettent des études sur le génome entier. Qu'il s'agisse des puces à ADN (*array CGH*) (plus anciennes) ou des méthodes de séquençage haut débit (NGS pour *Next Sequencing Generation*) par exemple. Elles ont en commun d'explorer le génome dans sa globalité (ou partie).

Elles ciblent en plus des gènes des régions non codantes qui sont pour certaines impliquées dans la pathogenèse. Elles sont un plus, pour toutes les maladies pour lesquelles la cause génétique n'est pas identifiée avec comme objectif de diminuer l'errance diagnostique.

Elles comportent néanmoins un certain nombre de difficultés.

D'une part, l'interprétation d'une mutation pathogène par rapport à une simple variation du génome est complexe car cette notion évolue au fur et à mesure de l'avancée des connaissances. Une variation du génome considérée aujourd'hui comme « normale » pouvant être considérée demain comme pathogène dans un contexte particulier, ou l'inverse.

D'autre part, ces nouvelles technologies augmentent considérablement le risque de découverte incidente, c'est-à-dire de diagnostiquer des pathologies non recherchées initialement et posent la question de la conduite à tenir face au résultat. L'enjeu aujourd'hui est notamment de définir la façon dont le patient doit en être informé, lorsque la pathologie identifiée n'est pas curable, lorsqu'il s'agit d'une mutation hétérozygote, ou encore lorsque le pronostic appelle une conduite préventive spécifique. L'évolution rapide des technologies doit s'accompagner de la volonté d'assurer aux patients une information fiable sur les bénéfices attendus de ces examens.

Par ailleurs, la gestion des données génétiques (big data) devient un enjeu majeur du développement de ces nouvelles technologies ainsi que l'intégration de nouveaux métiers comme les bio-informaticiens.

Le plan France médecine génomique 2025 prévoit la création de 12 plateformes de séquençage génomique à haut débit. Les deux premières devraient être opérationnelles en 2018.

Ces plateformes entraîneront probablement une réorganisation de l'offre de soins. Il sera important de maintenir une expertise et de ne pas aboutir à des laboratoires « producteurs » de données génétiques. Il est essentiel de garantir une génétique médicale de qualité en France et donc de préserver l'accès aux consultations de génétique sur l'ensemble du territoire.

### ***Examens de pharmacogénétique***

La pharmacogénétique est l'étude de l'origine génétique de la variabilité de réponse aux médicaments, les objectifs principaux sont d'identifier les sujets répondeurs et non répondeurs à un médicament donné, d'identifier les sujets à risque de survenue d'un effet indésirable pour un médicament donné et de prévoir la dose la plus adaptée à chaque individu pour un médicament donné.

En pratique, il convient de distinguer la pharmacogénétique somatique, qui correspond à la prédiction de réponse d'une tumeur à un traitement, et la pharmacogénétique constitutionnelle, où ce sont les caractéristiques génétiques de la personne qui permettent de prédire sa réponse au médicament.

Il s'agit d'un domaine en fort développement, il est important de s'assurer que derrière chaque examen de pharmacogénétique proposé se trouve une utilité clinique avérée. Lorsque tel est le cas, il faudra s'assurer d'un accès équitable sur l'ensemble du territoire.

### ***Examens préconceptionnels***

Les évolutions technologiques mentionnées plus haut ont notamment pour conséquence une diminution du coût des examens génétiques et de délais de réalisations. Avec cette démocratisation de l'outil de séquençage, certains s'interrogent sur la possibilité de réaliser des examens génétiques préconceptionnels pour des couples ayant un projet parental

Actuellement des examens génétiques préconceptionnels sont proposés pour des familles dites à risque, concernant par exemple les maladies récessives (en particulier les plus fréquentes comme la mucoviscidose) lorsque l'un des membres du couple est porteur d'une mutation pathogène.

La question actuellement posée est la réalisation en population générale de tests préconceptionnels pour des mutations responsables de maladies pour lesquelles il y aurait des mesures de prévention ou de soin.

Le CCNE (avis 107-809) a rappelé, dans une perspective commune à une proposition de dépistage préconceptionnel des futurs parents porteurs d'anomalies génétiques en cause et aux diagnostics

anténatals, que « l'interrogation sur la valeur prédictive de ces mutations en termes de gravité et d'incurabilité doit rester centrale. Elle constitue aujourd'hui une limite à la généralisation rapide de ces tests ». Cet avis date de 2009, mais la question reste d'actualité.

## 2.2.2 L'explosion de l'offre de tests génétiques sur Internet

La loi française encadre particulièrement la prescription, la réalisation et le rendu des résultats de tests génétiques. L'objectif de cet encadrement est de protéger les patients et de leur assurer l'information nécessaire, notamment par la mise en place de consultations pluridisciplinaires pour les patients asymptomatiques. Les tests proposés sur Internet sortent de ce cadre, ils sont interdits, la loi prévoit des peines y compris pour les personnes qui y ont recours pour des tiers et pour elles-mêmes.

Ces dernières années, de nombreuses sociétés se sont lancées sur le marché des tests génétiques individuels sur Internet. Ces entreprises proposent à leurs clients d'étudier leur génome et d'en déduire leur risque de développer des maladies courantes pour lesquelles des facteurs génétiques ont été identifiés. Elles proposent également à leur client de retracer sa généalogie, de comparer son information génétique à celle de proches, d'amis, de vedettes, pour une mise en réseau sur Internet par le biais de réseaux sociaux encore inédits. Le prix de l'analyse baisse régulièrement et devient accessible au grand public. Le plus souvent, les résultats sont fournis sous forme brute.

Les risques majeurs des tests sur Internet sont de faire croire aux personnes qui les utilisent qu'elles ne sont pas à risque de développer telle ou telle maladie ou, à l'inverse, de les angoisser à tort.

La compréhension du risque est complexe. A titre d'exemple, lorsqu'un examen de susceptibilité multiplie le risque de développer une maladie par 2, si au départ dans la population générale le risque est de 1/10000, pour l'individu qui réalise le test le risque est ramené à 1/5000 (le risque est multiplié par 2). En fait, à titre individuel le risque ne change pas d'ordre de grandeur par rapport à celui de la population générale et reste faible, mais peut inquiéter à tort une personne mal informée. Inversement, l'absence de « susceptibilité » génétique à une maladie ne protège pas contre la survenue de cette dernière. Le risque est alors d'être rassuré à tort et de ne pas adopter des mesures basiques de prévention telles qu'une bonne hygiène alimentaire ou la restriction tabagique par exemple.

Certains sites rendent de plus des résultats de prédisposition ou de diagnostic (cancer du sein, mucoviscidose) sans l'encadrement médical et psychologique indispensable pour ce type d'annonce.

Enfin, il est pertinent de s'interroger sur la confidentialité de données aussi sensibles que les caractéristiques génétiques.

### ***Prédiction, personnalisation : quelles conséquences sur l'organisation des soins et le rapport à la médecine ?***

- Un examen de prédisposition génétique à une maladie identifie un risque élevé de développer la maladie dans le futur sans que ce risque soit de 100% car l'anomalie génétique à l'origine de la maladie est nécessaire mais pas suffisante pour développer la maladie. Pour être légitimes, les tests de prédisposition doivent mettre en valeur un risque qui soit réellement plus important et supérieur aux influences environnementales, et face auquel une action préventive ou curative est possible.

Un bon exemple de gène de prédisposition utile cliniquement est celui des gènes de prédisposition aux cancers du sein familiaux (BRCA1 et BRCA2).

- Les gènes de susceptibilité ne modifient que faiblement un risque de maladie. L'anomalie génétique n'est ni nécessaire ni suffisante pour développer la maladie. L'utilité médicale des tests de susceptibilité n'est pas établie.

Le développement de ces examens de susceptibilité engage d'importants intérêts financiers. Par ailleurs, les conséquences individuelles de l'annonce d'une susceptibilité génétique soulèvent également des questions. Il convient de déployer un effort de formation et d'information, essentiellement pour porter à la connaissance des professionnels et du public les conséquences délétères du recours à des tests hors de toute utilité clinique avérée et de contrôles de qualité bien documentés.

L'Agence de la biomédecine a proposé en liaison avec les professionnels, des recommandations de bonnes pratiques qui prennent en compte la nécessaire protection des personnes auxquelles des tests génétiques sont prescrits. L'arrêté du 27 mai 2013 définissant les règles de bonnes pratiques applicables à l'examen des caractéristiques génétiques d'une personne à des fins médicales précise les conditions de prescriptions et de communication du résultat de ces examens.

Le développement des tests génétiques, qu'ils visent à prédire l'apparition d'une pathologie, à personnaliser la prescription d'un traitement, ou encore à favoriser la prévention de la pathologie anticipée, est susceptible de modifier en profondeur notre rapport à la médecine et l'organisation du système de soins.

En effet, d'un paradigme curatif dans lequel le système de soins prend en charge les patients dans la phase aiguë de leur pathologie ou bien pour minimiser son expression chronique, on passe à un paradigme d'anticipation, dans lequel la mission du système de soins se déplace vers l'amont de la pathologie. Les promesses de la prédiction et de la personnalisation de la médecine conduisent à une individualisation croissante des soins et de la prévention des maladies.

La question se pose de définir quels nouveaux métiers, quelles nouvelles formes d'information ou d'éducation thérapeutique inventer pour accompagner la diffusion de ces nouveaux outils et la prise en charge de patients se sachant malades en amont de toute expression pathologique.

### **2.2.3 Nouveaux développements dans la mise au point de techniques d'édition du génome : le système CRISPR-Cas9**

« Editer le génome » consiste à ajouter, enlever, modifier une ou quelques bases dans une séquence d'ADN. Si la séquence correspond à un gène ou une séquence permettant de moduler son expression, la conséquence en sera une modification de ce gène ou de son niveau d'expression : soit son « annulation », soit sa correction, selon le contexte.

La stratégie n'est pas nouvelle : il y a longtemps que les chercheurs essaient de mettre au point des techniques permettant de cibler une séquence précise du génome. Depuis 2013, une nouvelle technique, appelée CRISPR (*clustered regularly interspaced short palindromic repeat*), suscite un engouement sans précédent au sein de la communauté des chercheurs, et ce pour plusieurs raisons : précision, rapidité, fiabilité et accessibilité. Pour illustration, en 2017, plus de 2000 articles mentionnant cette technique sont référencés dans la base PubMed.

Bien que très simple et très spécifique, cette technique comporte des risques : celui du clivage de l'ADN dans un site non souhaité, celui du clivage d'un seul des brins d'ADN, et d'autres risques encore non évalués.

## **Exemples d'applications**

Les applications sont multiples et cette technique est aujourd'hui utilisée pour modifier le génome de cellules somatiques chez l'animal et chez l'Homme (aucune transmission à la descendance). Les génomes de cellules souches embryonnaires et de cellules souches pluripotentes reprogrammées (iPS) – y compris humaines - ont déjà également été modifiés par ces systèmes CRISPR-Cas9.

Trois essais cliniques utilisant cette technique ont déjà démarré : deux en Chine et un aux Etats-Unis. Pour une méthode décrite en 2013, il s'agit d'un délai extrêmement rapide. A ce jour, un seul patient a été inclus, en Chine, dans le cadre d'un traitement d'une forme de cancer du poumon particulièrement agressive.

Les enjeux financiers liés à cette technique sont très importants, plus d'une dizaine d'entreprises de biotechnologie ayant mis sur le marché des produits ou services dérivés des CRISPR.

## **Modification du génome au stade de zygote**

Une discussion a été lancée au sein de la communauté des chercheurs concernant l'utilisation de la technique CRISPR au sein de deux types de cellules emblématiques, puisque toute modification du génome (thérapeutique ou autre) se transmet à la descendance : l'embryon (stade une cellule, zygote) et les cellules germinales (précurseurs de l'ovocyte et précurseurs des cellules germinales mâles).

Chez l'animal, cette technique a déjà été utilisée avec succès avec pour objectif de créer des mutations dans le génome afin de modéliser des maladies humaines, ou d'explorer la fonction d'un gène donné. Les zygotes de plusieurs espèces (souris, rat, porc, poisson, ou vers) ont été modifiés avec le système CRISPR/Cas9 depuis 2013 (plus de 200 articles).

Chez l'Homme, la question est discutée au sein de la communauté scientifique depuis le début de l'année 2015. En 2015, plusieurs voix avaient ainsi appelé à un moratoire sur l'édition du génome nucléaire des cellules germinales dans une perspective clinique, ainsi que pour des recherches sur l'embryon humain. Notamment, ont appelé à un moratoire : l'ISSCR (international society for stem cell research) qui est la société porte-parole de la communauté scientifique académique ; un groupe de scientifiques de renom s'est exprimé à ce sujet dans la revue *Science* (*science express 19 Mars 2015*) et l'industrie, représentée par Sangamo et l'Alliance for Regenerative médecine (200 industriels biotechno).

En marge de ces discussions, deux publications par des équipes chinoises en 2015 et 2016, dont l'opportunité et l'intérêt ont été très contestés, rapportaient des expériences menées sur des embryons humains.

Depuis, le débat et les positions semblent avoir évolué : en février 2016, la Human Fertilisation and Embryology Authority (HFEA) britannique autorisait un protocole de recherche utilisant CRISPR/Cas9 chez l'embryon en vue d'étudier les conséquences de l'inactivation du gène codant la protéine Oct4 sur le développement embryonnaire précoce. Les premiers résultats de cette étude viennent d'être publiés dans la revue *Nature*. En avril 2016, l'Institut Karolinska de Stockholm autorisait également un protocole utilisant la technique CRISPR / Cas9 chez l'embryon humain, sans qu'aucune information sur les objectifs de cette étude ne soient communiquée.

En février 2017, un rapport de l'Académie des sciences aux Etats-Unis concluait notamment que « Les essais cliniques utilisant des techniques d'édition du génome de la lignée germinale humaine - l'ajout, l'élimination ou le remplacement de paires de bases d'ADN dans les gamètes ou des embryons précoces - pourraient être autorisés à l'avenir, mais seulement pour des situations graves et sous surveillance rigoureuse ».

L'ensemble de ces débats, et de ces publications, illustrent l'évolution rapide de cette technique et les questions qui vont nécessairement se poser sur les limites de son application.

En France, l'Académie de médecine, le Comité d'éthique de l'Inserm et l'Office parlementaire d'évaluation des choix scientifiques et technologiques ont publié des rapports sur les enjeux liés à la technique CRISPR/Cas9. Tous soulignent l'importance d'interdire toute modification du génome nucléaire à visée reproductive dans l'espèce humaine. Le Comité d'éthique de l'Inserm et l'Académie de médecine ouvrent toutefois la porte à une utilisation, chez l'embryon humain, à des fins de recherche.

## **2.2.4 La mise au point du transfert nucléaire dans le traitement des maladies mitochondriales**

La situation particulière des maladies mitochondriales dans le cas de mutations de l'ADN mitochondrial avec forte hétéroplasmie est à l'origine de tentatives de remplacement des mitochondries porteuses de mutation par des mitochondries indemnes issues d'ovocytes donnés. L'essai clinique en cours au Royaume Uni a fait l'objet avant son autorisation d'une large concertation dans ce pays. La question du dialogue (la coordination) entre l'ADN mitochondrial de la donneuse et l'ADN nucléaire de la receveuse reste posée et fait l'objet d'un projet de recherche sur l'embryon (sans transfert d'embryon) en France.

## **2.3. Diagnostic prénatal et diagnostic préimplantatoire**

### **2.3.1 Diagnostic prénatal**

Le diagnostic prénatal (DPN) d'une pathologie du fœtus *in utero* est encadré par la loi française. Cette pratique est ainsi bien suivie, notamment par l'Agence de la biomédecine qui recueille l'activité des laboratoires de diagnostic prénatal mais aussi celle des centres pluridisciplinaires de diagnostic prénatal. Elle peut ainsi ajuster le dispositif de prise en charge en fonction des évolutions technologiques ou médicales.

#### ***Place de l'imagerie***

Les performances des appareils d'échographie multiplient les actions de dépistages et rendent les actions diagnostiques plus fiables et les pronostics plus précis. De plus, les nouvelles techniques d'imagerie (imagerie par résonance magnétique, tomographie par exemple) s'appliquent désormais aussi au fœtus *in utero*. Dans des indications précises, elles apportent des précisions diagnostiques importantes pour le pronostic.

#### ***Dépistage plus précoce de la trisomie 21 par calcul de risque***

Depuis 1996, un dispositif national permet de proposer aux femmes enceintes qui le souhaitent, le calcul du risque de trisomie 21 au 2<sup>nd</sup> trimestre de la grossesse. Les progrès des matériels échographiques et les engagements de formation des professionnels qui les utilisent ont permis depuis 2010 de modifier ce calcul de risque notamment en le rendant plus précoce (entre la 9<sup>ème</sup> et la 13<sup>ème</sup> semaine de développement embryonnaire) et plus spécifique. Le dispositif qui a été mis en place associe pour ce calcul la mesure de la clarté nucale du fœtus, la longueur crânio-caudale, l'âge de la femme enceinte et le dosage de deux marqueurs présents dans son sang (PAPP-A et  $\beta$ hCG). Les objectifs sont, outre un dépistage et donc un diagnostic plus précoce, de diminuer les faux positifs du dépistage et le nombre de prélèvements invasifs, sans diminuer la sensibilité de la méthode.

L'Agence de la biomédecine a assuré l'évaluation de la montée en charge de ce. Parallèlement, les actions d'information, notamment pour laisser les femmes libres d'y recourir ou non, et des actions d'accompagnement des familles sont favorisées.

### **Examen non invasif**

Une évolution majeure en matière de DPN est la possibilité future d'examen génétique non invasif. Si d'un point de vue médical, il s'agit d'une réelle avancée pour les femmes car l'examen contrairement aux prélèvements invasifs (amniocentèse, choriocentèse, sang de cordon) n'entraîne pas de risque de fausse couche, ces examens soulèvent un certain nombre de questions éthiques. Le CCNE (comité consultatif national d'éthique) apporte son éclairage dans son avis n°120 « Questions éthiques associées au développement des tests génétiques fœtaux sur sang maternel ».

### **ADN fœtal dans le sang maternel**

La présence de fragments d'ADN du fœtus dans le sang de la femme enceinte est connue depuis plusieurs années. Les techniques d'amplification et d'analyse permettent maintenant d'envisager des diagnostics sur le fœtus sans utiliser de prélèvement fœtaux invasifs (amniocentèse, biopsie de villosités chorales ou prélèvement de sang placentaire). Actuellement, deux diagnostics sont proposés « en routine » : la détermination du sexe fœtal dans le cadre du diagnostic prénatal de maladies associées au chromosome X et la détermination du rhésus fœtal lorsque la femme enceinte est rhésus négatif (dans l'objectif de prévenir les allo-immunisations fœto-maternelles ou de surveiller la grossesse de femmes déjà allo-immunisées).

L'extension au dépistage de la trisomie 21 a fait l'objet de travaux internationaux et français sur des populations à risque identifiées sur la base du dépistage du premier trimestre. La validation de cette approche et son positionnement dans le cadre du dépistage de la trisomie 21 ont été évalués récemment par la Haute autorité de santé et font l'objet de recommandations publiées le 18 mai 2017. Le dosage de l'ADN fœtal libre circulant dans le sang maternel est recommandé chez les femmes enceintes dont le risque évalué par le dépistage combiné du premier trimestre se situe entre 1/1000 et 1/51. Il est important de rappeler que cette démarche s'inscrit dans le dépistage de la seule trisomie 21, et sera complétée par une démarche diagnostique invasive (caryotype fœtal). L'encadrement de ces pratiques, la place cruciale de l'information aux patientes méritent d'être soulignés.

Par ailleurs, le diagnostic de certaines maladies monogéniques par le dosage de l'ADN fœtal fait l'objet de mises au point, notamment dans le cadre des affections autosomiques d'origine paternelle, mais aussi certaines affections récessives lorsque les parents ne portent pas la même mutation. Elles commencent à être proposées en situation d'antécédents familiaux.

Au final, l'évolution des connaissances, et l'avènement de nouvelles technologies vont donner accès au génome fœtal par une simple prise de sang maternel. Par conséquent les enjeux éthiques sont nombreux en particulier sur ce qui sera réalisé dans le cadre d'un dépistage sur antécédent familial, d'un dépistage en population ou en situation de diagnostic.

## **2.3.2 Diagnostic préimplantatoire**

Le diagnostic préimplantatoire (DPI) est proposé aux couples qui risquent de transmettre à leur enfant une maladie génétique d'une particulière gravité au moment où la démarche de DPI est initiée. L'intérêt de cette technique est de pouvoir réaliser un diagnostic génétique sur un embryon - obtenu par fécondation *in vitro* - avant qu'il ne soit porté par la femme. Le couple peut débuter une grossesse avec un embryon non atteint de la maladie recherchée. Le DPI exigera toujours de disposer des embryons *in vitro* avant la réimplantation de l'embryon chez la femme. Ce type de diagnostic est donc conditionné par la pratique d'une fécondation *in vitro* (FIV), ce qui le différencie du DPN.

Les évolutions technologiques ouvrent la perspective de l'analyse du génome entier sur la seule cellule embryonnaire. Il sera alors plus simple et moins coûteux d'avoir à disposition l'information sur l'ensemble du génome que de mettre au point un examen pour une maladie ciblée.

Il est important de distinguer :

- La pratique du screening d'aneuploïdie notamment pour les indications d'âge maternel avancé ou les échecs répétés d'implantation (non intégrés dans le DPI en France) pour lesquels la réalisation d'essais randomisés contrôlés est soutenue par une large partie de la communauté scientifique internationale ;
- Le fait que la pratique du diagnostic pré-implantatoire (pour des maladies monogéniques par exemple) va de plus en plus recourir à des technologies de séquençage à haut débit qui vont rendre artificielle la séparation entre recherche de maladie monogénique et découverte d'une aneuploïdie (ou d'une autre pathologie).

L'enjeu sera alors de « dégrader » l'information obtenue par la technique pour ne connaître le résultat que sur la maladie d'une particulière gravité qui fait l'objet du DPI.



**- 3 -**

## **Cellules souches : état des lieux et perspectives**



## 3. Cellules souches : état des lieux et perspectives

### 3.1. Etat de l'art

Au cours des dernières années, plusieurs découvertes dans le domaine de la biologie des cellules souches (CS) ont fait progresser le domaine de façon spectaculaire, et ont bouleversé notre façon d'appréhender la thérapie cellulaire. Depuis les années 1975 et encore de nos jours, l'utilisation en routine de cellules souches thérapeutiques est restreinte à quelques indications (maladies hématologiques, immunologiques, brûlures graves) utilisant des cellules souches adultes. Un changement radical dans notre façon d'appréhender l'utilisation des CS en recherche clinique s'est imposé depuis quelques années, avec la disponibilité de lignées de cellules souches pluripotentes, pouvant être amplifiées de façon illimitée tout en étant capables de se différencier en cellules spécialisées des différents tissus. Deux populations de CS pluripotentes sont aujourd'hui disponibles :

- les cellules souches embryonnaires, dérivées d'embryons humains (CSEh), seules cellules souches pluripotentes « physiologiques » et dont l'utilisation à des fins de recherche a été interdite mais avec la possibilité d'autorisations dérogatoires en France entre 2004 et 2013, puis autorisée et encadrée depuis 2013 ;
- les iPS, cellules souches pluripotentes obtenues par « reprogrammation » de cellules somatiques différenciées (cellules iPS). Les iPS ont été décrites pour la première fois en 2006 chez la souris et en 2007 chez l'Homme, en s'inspirant de techniques de reprogrammations nucléaires publiées dès 2001.

La maîtrise de la connaissance, et donc de la manipulation, de ces CS pluripotentes ouvre un vaste champ de recherche, et bouleverse d'ores et déjà la vision à long terme de la thérapie cellulaire. Les applications dépassent largement la seule transplantation de cellules à but substitutif - objectif encore lointain et incertain - et concernent dans l'immédiat le support de modélisation de maladies humaines, le criblage de molécules pharmaceutiques et l'évaluation de la toxicité de molécules diverses, dont les médicaments. Les possibilités sont donc vastes, et les enjeux énormes : la communauté scientifique internationale, académique comme industrielle, l'a bien compris, ce d'autant qu'à terme, il est probable que se mettra en place une gestion internationale des ressources en cellules thérapeutiques. La vigueur de la compétition dans ce domaine en témoigne, ainsi que les moyens mis en jeu et la participation d'intervenants nouveaux et extrêmement dynamiques que sont les pays asiatiques. L'accumulation rapide des résultats qui caractérise la période actuelle s'explique aussi par le développement concomitant de technologies d'analyse sophistiquées et puissantes, qui représentent également un enjeu économique. Enfin, l'attente du public est immense, aiguisée par un discours médiatique souvent très optimiste.

Enfin, il est important de souligner que l'ensemble de ces recherches sur ces cellules souches pluripotentes (CSP) et leur potentiel rapprochent les disciplines et nourrissent plusieurs champs de recherche parallèles et très fructueux : citons les technologies « omiques », mais aussi la modélisation, l'imagerie *in vivo*, et surtout l'ingénierie cellulaire, tant il est évident que ces cellules ne seront pas greffées sans le support d'un environnement matriciel (bio-matériaux) et cellulaire conçu par ingénierie.

### 3.1.1 De quelles cellules souches dispose-t-on en 2017 ?

Plusieurs aspects caractérisent le domaine des cellules souches en 2017 :

- a. Leur diversité, et surtout la possibilité qu'a aujourd'hui l'expérimentateur de « créer » des cellules souches à partir de cellules différenciées.  
Ainsi, à côté des cellules souches adultes (CSA) physiologiques fonctionnant *in vivo*, difficiles à isoler du tissu et encore plus à cultiver *in vitro*, on dispose maintenant de cellules souches « artificielles », au potentiel très varié, nées de la reprogrammation de cellules déjà différenciées.  
Cette riche palette de cellules au potentiel varié offre ainsi de multiples possibilités au chercheur comme au clinicien, lui permettant d'adapter la cellule souche à l'objectif recherché, et excluant la notion d'une cellule souche « universelle ». Il faut insister sur la nécessité de conserver cette diversité de sources thérapeutiques, voire de l'élargir, et sur les conséquences négatives qu'aurait la restriction – sous prétexte de redondance – de l'accès à certaines d'entre elles.
- b. Une deuxième caractéristique est le degré de sophistication auquel sont parvenus les chercheurs dans l'analyse du fonctionnement des cellules souches, que ce soit *in vivo* ou *in vitro*. Celui-ci découle de la disponibilité de technologies perfectionnées, devenues indispensables, opérant sous forme de plateformes mutualisées, souvent à financement mixte public/privé. *In vivo*, ce sont les performances de l'imagerie qui permettent de voir fonctionner les cellules souches dans leur « niche » tissulaire ou de les suivre après transplantation, un prérequis avant d'imaginer des stratégies de thérapie cellulaire efficaces ; *in vitro*, c'est le décryptage raffiné de tous les réseaux de gènes et de protéines à l'œuvre dans le fonctionnement des cellules souches et de leur différenciation, qui permet notamment de comparer les potentialités et, à terme, de guider et évaluer le choix thérapeutique qui sera fait de telle ou telle cellule souche.
- c. Il apparaît donc que la recherche sur les cellules souches fait intervenir de multiples disciplines et en particulier des plateformes technologiques d'envergure, par exemple d'analyses à haut débit. Pour cette raison, ce domaine ne pourra progresser que dans une collaboration entre laboratoires académiques et industriels, et à une échelle qui est plus internationale que nationale. Ce changement d'échelle – qui caractérise toute la recherche actuelle comme en témoignent les résultats des consortiums ayant récemment caractérisé les séquences d'ADN non traduites (ENCODE) ou séquencé le microbiome intestinal humain - est une troisième évolution caractéristique.

### 3.1.2 Cellules souches pluripotentes

Les deux caractéristiques d'une cellule souche pluripotente, que ne partagent pas les cellules souches adultes ou fœtales, sont : (1) de pouvoir potentiellement se différencier à la demande dans n'importe quel types de cellules constituant les tissus de l'organisme, et (2) de proliférer indéfiniment sous forme pluripotente (autorenouvellement). Ces deux propriétés requièrent de placer les cellules souches dans des conditions adéquates de culture qui doivent être définies.

Chez l'homme, deux catégories de CS pluripotentes sont accessibles : les cellules souches embryonnaires (CSEh) et, depuis 2007, les cellules souches reprogrammées, ou iPS (*induced pluripotent cells*). La découverte des iPS repose sur les connaissances des mécanismes de pluripotence accumulées en étudiant les CSEh qui dérivent de cellules normales présentes chez l'embryon préimplantatoire. La maîtrise de cette technologie de reprogrammation et l'évaluation du fonctionnement de ces cellules *in vivo*, deux aspects encore imparfaitement maîtrisés, ne se

conçoivent que par référence à la fois aux CSEh et aux cellules souches adultes. Si les efforts de recherche de ces 15 dernières années ont permis d'aboutir depuis 2011 aux premiers essais cliniques avec les CSEh, et depuis 2014 avec les iPS, une utilisation à large échelle n'est pas envisageable avant plusieurs années. La communauté scientifique dans sa quasi-totalité considère donc CSEh et iPS comme deux entités complémentaires, et non comme des « rivales ».

### **3.1.2.1 Cellules souches embryonnaires humaines**

Les lignées de CSEh proviennent de la prolifération *in vitro* d'une fraction des cellules de la masse interne d'un blastocyste, embryon préimplantatoire au cinquième jour de développement obtenu au terme d'une procédure de fécondation *in vitro* (FIV).

Leur extraction, puis les conditions de culture *in vitro* « gèlent » ces cellules dans l'état pluripotent transitoire et fugace qui est le leur *in vivo*, avant la spécification des différents organes. *In vitro*, dans des conditions très précises, cette pluripotence peut se perpétuer à l'identique de façon indéfinie au cours de leurs divisions. L'expérimentateur, en changeant ces conditions et en sélectionnant des combinaisons appropriées de molécules et de substrats, peut déclencher et orienter leur différenciation dans une voie tissulaire donnée. Cette double propriété, de prolifération indéfinie (auto-renouvellement), et de différenciation dans tous les types de tissus (pluripotence), offre un nombre illimité de cellules capables de multiples destins cellulaires. Plusieurs centaines de lignées de CSEh ont été dérivées et caractérisées dans le monde, et sont utilisées par de très nombreux laboratoires.

#### **Quels sont les apports fondamentaux de l'étude des CSEh ?**

- La disponibilité d'un outil cellulaire tel que les CSEh, seules cellules souches pluripotentes physiologiques, a permis un bond en avant considérable dans notre connaissance des gènes et des réseaux moléculaires qui définissent et contrôlent non seulement l'état pluripotent, mais aussi engagent une cellule souche dans un programme de cellule différenciée. Grâce à la rapidité des progrès technologiques d'analyse à large échelle (collectivement appelées techniques « omiques ») du génome, de l'épigénome (on nomme ainsi l'ensemble des modifications de la chromatine qui dirige l'expression des gènes), et des produits de ce génome (ARN par le transcriptome et protéines par le protéome), on a pu définir la carte d'identité moléculaire précise d'une cellule ou d'un groupe de cellules. Ces techniques ont été appliquées à la caractérisation des cellules souches d'origine diverse, et ont clairement démontré que la « signature » génique et épigénétique (c'est à-dire l'expression spécifique des gènes et modifications épigénétiques, modifications réversibles ne touchant pas la séquence nucléotidique, exclusivement exprimés par des cellules) des CSEh n'a rien de commun avec celle que l'on observe dans les cellules souches adultes ou fœtales, ce qui reflète bien le caractère unique et très spécifique de ces cellules pluripotentes. En revanche, certaines caractéristiques sont partagées par les cellules de l'embryon précoce et les cellules germinales. L'identification de cette « signature pluripotente » a ouvert la voie à la possibilité du processus de reprogrammation conduisant aux iPS par transfert de ces gènes pluripotents dans des cellules différenciées. Une question fondamentale est de déterminer quel est le degré d'identité entre CSEh et iPS, non seulement sur le plan moléculaire, mais aussi en termes de fonction.
- Deux autres aspects de la recherche sur les CSEh ont beaucoup progressé : un grand nombre de protocoles ont été mis au point qui permettent la différenciation de CSEh pluripotentes en types cellulaires différenciés : hépatocytes, neurones (dopaminergiques, GABAergiques), épiderme, cellules rétinienne, etc. L'une des leçons de ces travaux est qu'il est fondamental de connaître l'embryologie pour progresser dans la maîtrise de la différenciation des CSEh.

L'efficacité de l'obtention de cellules différenciées dépend en effet de la reproduction, *in vitro*, de la succession des étapes du développement embryonnaire tel qu'il se produit *in vivo*, aboutissant, à partir du blastocyste, à la formation du tissu fonctionnel adulte. Travailler sur les CSEh enrichit

donc indiscutablement notre connaissance de l'embryologie humaine, et donc, par ricochet, la compréhension des possibles anomalies de ce développement. Une seconde leçon est l'observation d'une très grande variabilité des lignées de CSEh : elles ne sont pas équivalentes en termes de conditions de culture, ni en termes de potentiel de différenciation, ce qui impose de tester un grand panel de lignées existantes, voire d'en créer de nouvelles, afin de sélectionner celles qui se différencient dans la voie choisie avec la plus grande efficacité et la meilleure reproductibilité. Ce problème se posera dans les mêmes termes avec les iPS.

### **Les perspectives thérapeutiques des CSEh**

Dix-sept ans après la publication de la première lignée de CSEh aux Etats-Unis (1998), la lignée H1, treize essais cliniques sont en cours dans le monde dans des pathologies utilisant des précurseurs dérivés de CSEh. Les essais cliniques en cours en 2015 concernent trois types de maladie : rétinienne, cardiaque post-ischémie et diabète. Ces trois maladies représentent un problème majeur de santé publique. Les deux premières n'ont pas de possibilités thérapeutiques alternatives. La troisième a une alternative de substitution, la greffe d'îlots pancréatiques qui pallie l'absence d'insuline, mais malgré des progrès considérables au cours des dernières années, elle demeure en cours de développement. En France, le premier essai clinique utilisant des précurseurs cardiogéniques dérivés de CSEh dans une indication cardiovasculaire a débuté en 2014. Il est mené par le professeur Philippe Menasché et son équipe.

Les essais cliniques utilisant des dérivés de CSEh sont des essais de phase I ou I/IIa, le paramètre principal étant l'absence d'effet toxique, et le paramètre secondaire une éventuelle efficacité.

Les trois pathologies qui font l'objet d'essais cliniques en cours avec des cellules dérivées de CSEh illustrent bien la diversité des situations cliniques, et donc la complexité de l'approche thérapeutique : chaque maladie requiert le développement d'une stratégie particulière en ce qui concerne le type de cellules à greffer, les modalités de la greffe, l'association (ou non) des cellules à un biomatériau, et chaque situation expose à des risques spécifiques.

Le nombre croissant d'essais cliniques utilisant des produits dérivés de CSEh illustrent le potentiel thérapeutique de ces cellules et la finalité médicale des recherches.

### **Que peut-on anticiper pour les prochaines années dans ce domaine ?**

En marge des études fondamentales qui vont continuer à décrypter le fonctionnement cellulaire, une perspective clinique devra surmonter plusieurs obstacles :

- Il est toujours très difficile, même après plus de 15 ans d'efforts de recherche, d'obtenir à partir de CSEh des cellules différenciées de type « adulte » répondant aux stimuli qu'un organisme adulte émet. Par exemple, on sait obtenir des cellules pancréatiques sécrétrices d'insuline à partir de CSEh, mais la quantité d'insuline qu'elles produisent est insuffisante et les cellules répondent mal à une charge en glucose, le stimulus physiologique essentiel. De même, il est difficile d'obtenir des hépatocytes ayant toute la panoplie d'enzymes leur permettant de détoxifier des métabolites produits par l'organisme ou la dégradation de toxiques. Néanmoins, ces difficultés ne sont pas considérées comme insurmontables. Lorsque ces cellules sont greffées *in vivo*, il semble qu'elles poursuivent leur maturation alors qu'elles en sont peu capables dans une boîte de culture.

Il est encourageant de remarquer la publication récente dans des journaux très prestigieux de plusieurs articles rapportant des succès indiscutables dans 4 voies de différenciation ayant un intérêt thérapeutique majeur : démonstration que des cardiomyocytes issus de CSEh sont fonctionnels *in vivo* (activité électrique), succès de la différenciation de CSEh en neurones auditifs (surdités), premiers résultats de différenciation en cellules épithéliales respiratoires, et confirmation de l'obtention de neurones moteurs capables d'envoyer des prolongements axonaux sur de très longues distances et de s'intégrer dans un réseau fonctionnel (un espoir pour les lésions de la moelle épinière). Il faut noter que 3 de ces 4 études ont utilisé exclusivement des CSEh et non pas des iPS.

- Un second défi, qui devra être résolu à l'échelle internationale, est celui de la nécessaire mise au point de tests pour définir et analyser les critères requis avant l'utilisation clinique de ces produits cellulaires. Or, ces cellules créent une situation nouvelle : aucun test standardisé n'est actuellement validé pour évaluer la sécurité, la distribution dans l'organisme et l'efficacité des produits cellulaires issus de ces CSEh (comme des iPS d'ailleurs).

### **3.1.2.2 Cellules souches pluripotentes obtenues par un processus de reprogrammation (cellules souches pluripotentes induites, ou iPS)**

Cette catégorie de cellules souches se distingue fondamentalement de tout ce qui a été décrit précédemment parce que le potentiel de ces cellules est « créé » par l'expérimentateur alors qu'elles n'ont aucune contrepartie physiologique. Reprogrammation signifie en effet l'action par laquelle on modifie le programme en cours dans une cellule, et donc son destin et sa fonction. Un programme donné se définit par un réseau de gènes actifs et de protéines, produits de ces gènes, qui établissent l'identité de la cellule et donc sa fonction. Changer certains de ces éléments revient à modifier le destin de la cellule. C'est l'aspect très novateur de la publication princeps de S.Yamanaka au Japon en 2006 (qui lui a valu de recevoir le prix Nobel en 2012) : montrer que le simple transfert, dans une cellule aussi « banale » qu'un fibroblaste de peau, de 4 gènes exprimés spécifiquement par les CSEh, peut reprogrammer cette cellule et lui conférer des propriétés pluripotentes, en faisant une iPS. La découverte du Pr. Yamanaka provient de l'essai systématique de combinaisons de gènes contrôlant la pluripotence des cellules souches embryonnaires murines, puis humaines. Il a prouvé que l'induction de la pluripotence dans une cellule complètement différenciée (fibroblaste) ne nécessitait que l'expression de 4 gènes pluripotents que n'exprime pas le fibroblaste. Hormis les fibroblastes, on sait aujourd'hui que presque toute cellule de l'organisme peut être « reprogrammée », y compris les cellules sanguines, faciles d'accès. Ces cellules, adultes ou fœtales, une fois reprogrammées de façon stable, ont un comportement proche de celui des CSEh. Elles se présentent sous la forme de lignées immortelles et peuvent être induites à leur tour en de multiples voies de différenciation tissulaires, à l'instar des CSEh.

Cette découverte a soulevé un engouement extraordinaire dans la communauté scientifique par l'étendue des possibilités qu'elle suggère, et sa relative « facilité ». Cependant, comme toute technique artificielle qui modifie un organisme vivant, elle n'est pas dénuée d'inconvénients et de risques :

- a. l'expression forcée des séquences d'ADN codant pour des protéines pluripotentes, passe par l'utilisation d'un vecteur viral « intégratif », s'insérant directement dans l'ADN de la cellule cible, ce qui peut causer des altérations graves de cette dernière. Toutefois, il est aujourd'hui (2017) possible de parvenir au même degré de reprogrammation en utilisant non pas les séquences ADN, mais les ARN, produits de transcription des gènes, ensuite traduits en protéines, qui, eux, ont une durée de vie courte et ne s'intègrent pas dans le génome. D'autres méthodes alternatives sont à l'étude, dont l'utilisation directe de protéines, ou de petites molécules chimiques.
- b. Il n'est pas anodin d'entraîner à nouveau un cycle de prolifération dans une cellule différenciée qui ne se divisait plus : le risque d'instabilité et de cancérogenèse créé par ce procédé doit être évalué, et tout facteur oncogénique éliminé de la combinaison utilisée pour la reprogrammation.
- c. L'induction de programmes de différenciation efficaces à partir des iPS obtenues se heurte manifestement à quelques difficultés, dont la possible « mémoire » que pourraient avoir les cellules reprogrammées de leur tissu d'origine, qui serait un obstacle à une reprogrammation complète vers un programme de type « cellules souches embryonnaires », ou une propension à la sénescence précoce des iPS et leur moindre pouvoir prolifératif.

## **Quelles conséquences de la disponibilité de cellules souches pluripotentes reprogrammées (iPS) ?**

### **Analyse comparée iPS/CSEh**

Reprogrammer une cellule est un processus artificiel qui force la cellule à adopter un destin et un comportement qui ne sont initialement pas les siens. Une question importante, évaluée au cours de ces dernières années, est celle de l'identité, ou de la divergence, entre CSEh et iPS. Cette question est l'objet d'un important traitement scientifique.

La comparaison CSEh/iPS est bien sûr d'importance pour évaluer si la reprogrammation iPS est complète (avec perte de l'identité moléculaire et épigénétique antérieure de la cellule utilisée pour la reprogrammation) ou non et si elle diverge d'une pluripotence « physiologique ». La masse des résultats accumulés – avec une caractérisation exhaustive du transcriptome (ARN transcrits par les cellules) et des modifications épigénétiques des CSEh et des iPS par les analyses à haut débit - permet de conclure que les iPS ne sont pas strictement équivalentes à des cellules CSEh. Il reste à démontrer avec certitude si ces divergences – faibles – retentissent ou non sur le potentiel de ces iPS et sur leur possible exploitation thérapeutique. Seule l'utilisation à large échelle dans des modèles précliniques offrira une réponse pertinente. Un autre point non résolu est que si toutes les CSEh sont dérivées d'un même stade de développement (blastocyste), les iPS peuvent être obtenues de sources cellulaires extrêmement variées et d'individus d'âges très différents, sans que l'on connaisse bien encore le retentissement de ces paramètres. De plus, elles sont extrêmement hétérogènes quant à leur degré de pluripotence : nous ne disposons pas encore de critères robustes permettant de distinguer la qualité des iPS.

### **Perspectives thérapeutiques**

Un essai clinique utilisant les iPS a démarré au Japon en octobre 2014 dans l'indication de la DMLA. Les cellules iPS proviennent de la reprogrammation de fibroblastes dermiques autologues, prélevés chez le patient lui-même. Un premier patient a été inclus en septembre 2014, sans qu'aucune complication n'ait été rapportée. Toutefois, le centre RIKEN a suspendu l'essai, notamment suite à l'apparition de mutations au sein des cellules différenciées à partir des iPS de la deuxième patiente. Cet essai a repris en 2016 avec une stratégie différente impliquant l'utilisation d'iPS provenant d'une bio-banque (source allogénique) plutôt que du patient lui-même (source autologue).

Compte tenu du peu de recul dont nous disposons depuis leur découverte (10 ans) et bien qu'un essai clinique ait débuté, il est impossible d'anticiper aujourd'hui l'avenir des iPS en thérapie cellulaire, même s'il est présenté – souvent de façon optimiste - comme très prometteur. En théorie, les iPS pourraient en effet permettre une approche de greffe autologue ou patient-spécifique, puisqu'elles peuvent être dérivées à partir d'un petit échantillon de peau ou d'un prélèvement de sang, entre autres. Cette situation de greffe autologue est favorable puisqu'elle évite l'administration d'immunosuppresseurs que requiert l'utilisation thérapeutique de cellules dérivées de CSEh allogéniques. Toutefois, comme l'illustre la suspension de l'essai mené par le centre RIKEN au Japon, on peut douter de sa faisabilité en pratique, à court ou moyen terme, pour deux raisons : (1) notre méconnaissance des risques réels que font courir des cellules « artificielles » dont on ne connaît par définition ni la réelle stabilité génétique *in vivo*, ni l'efficacité en termes de réparation ; (2) des raisons économiques et logistiques, qui sont énormes.

Citons en particulier l'absence totale de standardisation des préparations d'iPS en conditions GMP, et le coût de la préparation et de l'évaluation de multiples lignées iPS pour chaque patient concerné. En revanche, comme évoqué ci-dessous, les iPS sont d'ores et déjà un outil incomparable de modélisation de maladies humaines (plus de 150 lignées issues de maladies différentes) et de criblage en pharmacologie ou toxicologie (voir plus loin), avec des résultats tangibles.

### **Reprogrammation partielle / transdifférenciation**

Si la reprogrammation en cellules souches pluripotentes paraît séduisante, il n'est pas sûr qu'elle soit la plus appropriée ni la plus réaliste d'un point de vue thérapeutique, en raison de ses contraintes et des risques inhérents à l'utilisation de cellules pluripotentes. Il faut donc insister sur les essais récents de reprogrammation « partielle » : l'objectif n'est pas le « retour » à un état pluripotent, mais plus modestement à un état de cellule souche tissulaire multipotente, voire de progéniteur tissulaire déjà différencié (on peut parler dans ce cas de transdifférenciation). De très nombreux exemples ont été publiés récemment : transdifférenciation de fibroblastes directement en neurones, en hépatocytes, etc. Cette démarche pourrait s'avérer fructueuse à l'avenir, ce d'autant qu'on peut envisager induire cette transdifférenciation directement *in situ* (par exemple transdifférenciation de cellules alpha du pancréas en cellules bêta sécrétrices d'insuline).

## **3.1.3 Cellules souches adultes et fœtales**

### **3.1.3.1 Comprendre le fonctionnement *in situ* des cellules souches adultes : un prérequis pour le succès de la thérapie cellulaire**

Les iPS représentent les seules cellules souches pluripotentes provenant de cellules « adultes » (hors cellules germinales) ce qui explique l'enthousiasme que leur obtention a provoqué.

En effet, les autres cellules souches adultes ne sont que « multipotentes » (capables de donner naissance aux cellules différenciées d'un nombre restreint de tissus), et surtout, à de très rares exceptions déjà mentionnées (CS hématopoïétiques ou de la peau, CS mésenchymateuses), leur difficulté d'accès et leur faible nombre ont conduit les thérapeutes à abandonner l'idée de les utiliser comme matériel de « remplacement » de cellules lésées dans le cadre de thérapies cellulaires à large échelle. Néanmoins, leur étude est fondamentale : en effet, toute cellule thérapeutique greffée chez un patient devra s'intégrer dans l'environnement local et répondre aux réseaux de régulation qui fonctionnent chez l'adulte. Or, cet environnement n'est pas celui des CSEh, ni des iPS, ce qui risque de compromettre leur survie et la fonction des cellules greffées. Il est donc crucial pour le succès futur des thérapies cellulaires utilisant les CSEh ou les iPS de poursuivre la dissection *in vivo* de la « niche » des cellules souches dans leur tissu. Ces analyses sont aujourd'hui possibles grâce au développement de techniques d'imagerie et de marquage cellulaires très performantes. Celles-ci permettent aujourd'hui de suivre *in vivo* le devenir de cellules individuelles (particulièrement utile dans une perspective de greffe), et de disséquer les interactions au sein de la « niche ». Il est particulièrement important que les cellules souches thérapeutiques (ou leurs dérivés) se relocalisent dans leur environnement « naturel » pour éviter un comportement aberrant aboutissant à une instabilité et à de possibles effets délétères.

### **3.1.3.2 Perspectives thérapeutiques utilisant les cellules souches adultes**

Hormis les cellules souches hématopoïétiques (CSH, issues de la moelle osseuse, du sang périphérique après mobilisation ou du sang de cordon) et les cellules souches épidermiques, reconnues comme produits thérapeutiques en routine, peu d'autres types de cellules souches adultes sont en cours d'essais cliniques pour une thérapie de remplacement cellulaire, et le domaine devrait peu évoluer. L'effet thérapeutique indirect des cellules souches mésenchymateuses sera abordé ci-dessous. En revanche, les progrès des connaissances concernant leur fonctionnement *in vivo* ont ouvert des perspectives concernant une approche de stimulation locale, *in situ*, de leur fonctionnement qui pourrait être très bénéfique : celle-ci fait intervenir des petites molécules biologiques (cytokines ou hormones), éventuellement apportées par des cellules exogènes (cellules souches mésenchymateuses par exemple), activant les cellules souches locales ou agissant sur leur environnement. On peut aussi envisager de reconstruire une « niche » défectueuse. Certaines maladies neurologiques pourraient en bénéficier. Il faut enfin mentionner à la frontière de ce champ, les efforts importants de recherche dans le domaine des matrices d'organes, ou des organes décellularisés, où les cellules souches adultes pourraient trouver un domaine d'application.

### **3.1.3.3 Les cellules souches mésenchymateuses**

Seul type cellulaire (hors CSH) faisant actuellement l'objet de très nombreux essais cliniques dans le monde (environ 30 % des essais cliniques utilisant des cellules souches déclarés sur *clinicaltrials.gov*), les cellules souches mésenchymateuses (CSM) se distinguent nettement des cellules souches adultes tissulaires au moins par deux critères : elles sont présentes dans tous les tissus (on pense que la cellule d'origine est une cellule périvasculaire, peut-être un péricyte), et elles peuvent être amplifiées *ex vivo* et donc être disponibles en grand nombre (mais leur durée de vie reste limitée). Elles sont le plus souvent isolées à partir de moelle osseuse ou de tissu adipeux. Elles peuvent se différencier en précurseurs osseux ou du cartilage, peut-être en d'autres types cellulaires, mais leur caractère « souche » n'est pas établi avec certitude et on les désigne plus volontiers sous le terme de cellules stromales mésenchymateuses. Elles peuvent être utilisées dans des protocoles de réparation osseuse (en association à des biomatériaux) pour leur potentiel de différenciation en progéniteurs osseux, mais leur intérêt principal en thérapeutique vient de leurs propriétés immunomodulatrices et anti-inflammatoires, et de leur fonction de support, qui donnent l'espoir de pouvoir les utiliser dans des pathologies liées au rejet de greffes (moelle osseuse, organes, thérapies cellulaires), ou aux maladies auto-immunes, comme la maladie de Crohn ou la sclérose en plaques.

A ce titre, elles pourraient être utilisées en complément de cellules souches embryonnaires ou adultes dans des stratégies de greffe, mais ne pourront pas les remplacer. Une utilisation allogénique, via des banques de cellules validées et typées, est la plus envisageable, mais les greffes autologues sont également possibles.

Les propriétés de pluripotence qu'on a parfois attribuées aux cellules souches/stromales mésenchymateuses doivent être considérées avec prudence. Les critères utilisés pour démontrer cette « pluripotence » restent flous (souvent limités à l'expression de marqueurs phénotypiques dont on connaît la variabilité), et sont très rarement validés par des analyses génétiques à large échelle ou dans des expériences de greffe *in vivo*, seule démonstration irréfutable de cette propriété (formation de tératomes). Ce d'autant que, après greffe, ces cellules ne survivent que de façon très transitoire. Il est donc très improbable que ces cellules puissent être un jour utilisées à des fins thérapeutiques pour un potentiel autre que celui, osseux, discuté ci-dessus.

### **3.1.3.4 Cellules souches fœtales**

Plusieurs études ont fait état de propriétés particulières des cellules souches fœtales, notamment isolées du sang placentaire ombilical ou du tissu conjonctif du cordon. A la période fœtale, les tissus sont déjà parfaitement spécifiés, les cellules souches qui les constituent ont un comportement proche de celui des cellules souches adultes et n'ont plus les attributs des cellules souches embryonnaires pluripotentes. Seule une plus grande faculté de prolifération, liée à leur immaturité, les distingue des cellules souches adultes. Il reste cependant possible que quelques rares cellules puissent exprimer des propriétés particulières (comme mentionné ci-dessus pour les CSM), mais si c'est une question importante en recherche, elle paraît aujourd'hui sans conséquence thérapeutique importante.

D'un point de vue thérapeutique, hormis les greffes de CSH issues de sang de cordon dans les indications hématologiques et immunologiques bien codifiées, peu d'autres applications ont vu le jour, et il ne semble pas y avoir de supériorité évidente à utiliser des cellules souches/stromales mésenchymateuses issues de sang de cordon, par rapport à celles de moelle osseuse ou de tissu adipeux (qui peuvent, elle, être utilisées en situation autologue). Les essais ponctuels, parfois médiatisés à l'excès, ne sont généralement pas inclus dans une démarche de recherche clinique rigoureuse, et il est peu probable qu'ils débouchent, dans un futur proche sur un protocole à large échelle.

## **3.2. Perspectives d'utilisation thérapeutique des cellules souches**

### **3.2.1 Considérations générales**

Si les cellules souches représentent pour le chercheur un outil incomparable pour disséquer les mécanismes du vivant, elles sont souvent citées pour le potentiel thérapeutique qu'on leur attribue, la possibilité de remplacement de cellules lésées ; cette application, la plus médiatisée, sera probablement la plus longue à être concrétisée, et peut-être la plus décevante en termes de santé publique. Il faut insister sur le contraste entre l'accélération du rythme avec lequel on découvre (ou façonne) de multiples catégories de cellules souches au cours de ces dernières années et la longueur requise pour l'évaluation préclinique et clinique de leur intérêt thérapeutique chez les patients. De fait, seuls trois types de cellules souches ont aujourd'hui franchi les étapes d'essais cliniques rigoureux démontrant leur efficacité et ce, parce qu'elles ont toutes trois des particularités uniques qui facilitent leur application : les CSH, les CS de peau, et les CSM.

Indépendamment des aspects médicaux, la thérapie cellulaire à large échelle se heurte à plusieurs obstacles (voir ci-dessous) dont certains sont d'ordre économique.

En revanche, les cellules souches pluripotentes ont deux applications plus immédiates dont les implications thérapeutiques sont évidentes : la modélisation de maladies humaines et le criblage pharmacologique et toxicologique de molécules chimiques.

### **3.2.2 Cellules souches en thérapeutique : Etat des lieux en 2017**

#### **3.2.2.1 La thérapie cellulaire**

##### **3.2.2.1-1 Etat des lieux actuels**

Les découvertes liées aux avancées exposées précédemment ont fait évoluer les conceptions de la communauté scientifique et médicale concernant les approches thérapeutiques. L'existence d'une diversité beaucoup plus vaste des types cellulaires utilisables, la confirmation de la plasticité inhérente à beaucoup de cellules (dont le potentiel pourrait alors être modulé), permettent d'envisager des stratégies cliniques elles-mêmes plus diversifiées : adaptation du produit de thérapie cellulaire à la pathologie ciblée (type de cellules, préparation autologue ou allogénique, contrôle qualité), type d'administration (injection, patch, encapsulation), stratégie de préparation. Outre la coopération multidisciplinaire entre chercheurs travaillant sur des types cellulaires différents, il sera nécessaire d'associer à la conception et au déroulement des essais cliniques des compétences supplémentaires : qualitatifs, ingénieurs, spécialistes des biomatériaux, mathématiciens spécialistes de la modélisation, entre autres. On peut regretter que les acteurs de ces disciplines essentielles au succès futur des cellules souches soient encore peu visibles.

De fait, peu de nouvelles cellules souches ont prouvé leur utilité par une action directe, qui exploite leur fonction de production de cellules différenciées remplaçant des cellules lésées : les CSH (adultes et fœtales) et cellules souches épidermiques et les cellules souches de cornée, restent toujours les trois seules classes de cellules souches dont l'utilisation thérapeutique à large échelle est validée en routine. D'autres essais plus ponctuels (phase I ou phases I/II) sont en cours, utilisant des progéniteurs osseux, des progéniteurs neuraux (neurosphères) ou des progéniteurs cardiaques (issus de biopsies cardiaques adultes).

Mais la majorité des essais cliniques randomisés double aveugle contre placebo dans de grandes séries de patients utilisent des cellules dites « souches mésenchymateuses » ou encore « stromales mésenchymateuses » issues généralement de moelle osseuse ou de tissu adipeux dans des indications d'immunomodulation. Les cellules pourraient alors agir via la sécrétion de cytokines inhibitrices de la réaction immune, ou anti-inflammatoires. C'est aussi par leur possible stimulation de l'angiogenèse ou la sécrétion d'autres facteurs de croissance, qu'elles auraient une action bénéfique sur la réparation cellulaire spontanée. Enfin, leurs possibles propriétés immuno-modulatrices permettrait de les co-transplanter avec des organes ou d'autres cellules réparatrices, afin d'atténuer les phénomènes de rejet du greffon dans le cas de greffe allogénique. Dans ce cas, les cellules sont utilisées pour leur action « adjuvante » des cellules souches injectées. L'objectif n'est pas de remplacer les cellules défectueuses, mais d'agir indirectement en favorisant une réparation tissulaire endogène (provenant de mécanismes mettant en jeu les cellules du patient) ou l'établissement d'un autre greffon. Les CSM, facilement amplifiables, trouvent ici leur indication de choix, ce d'autant qu'elles exposent à un faible risque, puisqu'elles ne perdurent probablement pas à long terme dans l'organisme.

Avec un recul de plus de dix ans maintenant, on ne peut que constater que seuls de très rares essais ont évalué l'intérêt thérapeutique des cellules souches mésenchymateuses issues de sang de cordon (les CSH issues de sang de cordon étant couramment utilisées en routine dans des indications hématologiques/immunologiques), ce qui semble confirmer le peu d'avenir de cette source dans des indications autres qu'hématologiques ou immunologiques.

Il faut faire preuve de prudence car il y a une contradiction entre l'enthousiasme médiatique qui prédit une utilisation thérapeutique rapide des cellules souches adultes et fœtales (citons les controverses touchant le sang de cordon) et la réalité des essais cliniques actuels puisque, même dans le cas des cellules stromales mésenchymateuses, les conclusions des essais d'efficacité ne sont pas encore disponibles.

### **3.2.2.1-2 Prospective liée aux cellules souches pluripotentes**

- **Les premiers essais cliniques** de phase I sont en cours avec les CSEh (voir plus haut), et les premières évaluations disponibles en 2017 n'ont pas montré d'effet indésirable. Parmi les essais cliniques qui pourraient voir le jour avec des cellules dérivées de CSEh, les essais cliniques étant concluants, on peut citer deux protocoles du laboratoire iSTEM à Evry : l'un vise à produire des kératinocytes qui seront utilisés pour construire un substitut épidermique, pansement transitoire pour des lésions cutanées ; l'autre à produire des cellules de l'épithélium rétinien pigmentaire destinées à être greffées sous forme de patch dans des pathologies rétinienne. Une autre application qui suscite beaucoup d'intérêt en raison des besoins transfusionnels est la production de cellules sanguines comme les globules rouges ou les plaquettes. Une équipe (L. Douay) progresse dans cette direction pour la production de GR, et une seconde pour la production de plaquettes.

Par ailleurs, l'essai clinique utilisant des cellules rétinienne dérivées d'iPS qui avait démarré fin 2014 au Japon dans la DMLA, puis été suspendu en 2015, a repris avec des modifications substantielles dans la préparation du produit de thérapie cellulaire qui sera issu d'une banque allogénique d'iPS et non plus d'un prélèvement réalisé chez le patient.

- **Le besoin de structures adaptées pour un produit cellulaire adapté, fonctionnel et sûr**

CSEh et iPS posent des problèmes très spécifiques pour une utilisation thérapeutique : il ne s'agit plus d'un couple donneur-receveur et de petits nombres de cellules comme dans le cas de CSH ou de cellules stromales mésenchymateuses, mais d'une source illimitée de cellules amplifiées *in vitro*, et pouvant être utilisée pour un grand nombre de receveurs. Cela impose une logistique et des critères de qualité et de sécurité très nouveaux et qui ne sont pas encore définis, mais devront l'être non pas à l'échelle d'un service hospitalier, ni même d'un pays, mais dans le cadre d'une réflexion internationale.

En effet, si l'on envisage une application clinique large, répondant à un besoin de santé publique, et réaliste sur un plan économique, il faut répondre à plusieurs impératifs : un produit cellulaire disponible en quantité non limitée, standardisé, reproductible, et validé sur le plan de la sécurité et de l'efficacité, peut-être stocké dans quelques biobanques. Or un très gros travail doit être fait pour répondre à ces impératifs, qui demandera plusieurs années.

### **3.2.2.1-3 Enjeux éthiques : un tourisme médical lié aux cellules souches ?**

L'enjeu thérapeutique et l'excès d'optimisme des médias ont stimulé l'émergence d'entreprises d'escroquerie sous la forme de cliniques proposant – *via* Internet et moyennant une somme importante - des traitements utilisant des cellules souches (mésenchymateuses, de sang de cordon, neurosphères) plus ou moins manipulées *ex vivo*, et qui n'ont pas été approuvés par les agences réglementaires des pays dans lesquels opèrent ces cliniques. Outre leur danger potentiel, ces traitements n'ont en général aucune efficacité. La communauté scientifique internationale, via l'ISSCR (*international society for stem cell research*) et la publication de multiples articles, s'est mobilisée pour informer les patients et les mettre en garde<sup>1</sup>. La FDA américaine est aussi intervenue activement depuis quelques mois aux Etats-Unis, et la Chine tente de contrôler ces offres.

Il est donc important de délivrer aux citoyens une information juste et réaliste, sans faire miroiter des progrès thérapeutiques dont on sait qu'ils ne pourront pas être tenus. C'est le ferment le plus sûr du développement de ces dérives du « stem cell tourism ».

### **3.2.2.2 Modélisation de maladies humaines**

Un prérequis important pour soigner est de comprendre, donc de modéliser, la maladie car l'exploration directe chez le patient est souvent très difficile et l'accès aux cellules primaires impossible, en particulier dans le domaine des pathologies du système nerveux et du cerveau. La souris a été et reste un modèle précieux, et nombre de maladies ont été comprises grâce aux constructions de souris transgéniques chez lesquelles on créait un gain ou une perte de fonction d'un gène incriminé dans une pathologie humaine. Mais, outre que certaines maladies complexes et multigéniques peuvent difficilement être modélisées, dont l'émergence de tumeurs, la souris n'est pas un modèle représentatif de la physiologie humaine, et ne peut pas toujours prédire un effet délétère. La disponibilité de lignées de cellules CSEh porteuses d'une mutation délétère et dérivées d'embryons préimplantatoires récusés en raison d'un diagnostic préimplantatoire (DPI) positif a permis, dans les années 2000, de modéliser avec succès certaines maladies monogéniques (due à la présence de mutations sur un seul gène) humaines : citons l'amyotrophie spinale, la mucoviscidose, la maladie de Huntington, etc.

La relative facilité d'obtention d'iPS, et ce chez tout patient quelle que soit sa maladie – contrairement aux restrictions imposées aux indications de DPI pour les CSEh - ouvre des perspectives importantes dans ce domaine, en particulier dans les pathologies neurologiques où l'accès aux cellules primaires malades est quasi-impossible.

Depuis 2007, la liste des iPS établies à partir de cellules de patients ne cesse de s'allonger (des lignées iPS ont été établies à partir d'environ 50 d'entre elles). On peut citer quelques exemples parmi les études les plus significatives car mimant certaines des anomalies caractéristiques de la maladie

---

<sup>1</sup> A ce propos voir : [http://www.isscr.org/About\\_Stem\\_Cell\\_Treatment.htm](http://www.isscr.org/About_Stem_Cell_Treatment.htm)

chez l'homme : des iPS ont ainsi été dérivées dans plus d'une dizaine de maladies neurologiques monogéniques et idiopathiques, et dans certains cas (Parkinson, syndrome de Rett, sclérose latérale amyotrophique, maladie de Huntington, etc.) des anomalies représentatives de la situation *in vivo* ont été identifiées. Un exemple très informatif dans un autre domaine est celui des cardiomyocytes dérivés d'iPS établies à partir de patients atteints du syndrome du QT long (arythmie cardiaque entraînant un risque de mort subite) par mutation d'un gène identifié (KCN). Ces cardiomyocytes expriment l'anomalie rythmique et répondent comme ceux des patients aux différentes drogues testées. C'est donc un bon modèle de la maladie, et qui plus est, miniaturisable pour des tests pharmacologiques. Beaucoup d'efforts se sont focalisés dans les maladies neurologiques, dont le pronostic est très sombre et pour lesquelles aucun traitement n'est disponible, et où les modèles animaux ne miment que partiellement les déficits humains. Le rythme des publications s'est beaucoup accéléré, avec par exemple les avancées récentes décrites dans la maladie de Huntington : avec les CSEh, différenciées avec succès en neurones striataux, avec les iPS mimant le défaut moléculaire qui a pu être corrigé par manipulation génétique. De même dans la sclérose latérale amyotrophique, plusieurs travaux publiés essaient de découvrir des molécules chimiques capables d'améliorer la fonction des neurones moteurs. De multiples autres exemples ont été publiés depuis 2008, dont ceux développés par des équipes françaises. Il faut cependant insister sur la nécessité d'une analyse rigoureuse des données, d'une réplication des résultats sur de nombreuses lignées et en comparaison de contrôles appropriés pour valider la représentativité du modèle. Beaucoup d'études manquent de rigueur, ce qu'explique en partie la compétition dans ce domaine.

### **3.2.2.3 Recherche de traitements pharmacologiques par criblages de molécules**

La disponibilité de modèles cellulaires mimant le dysfonctionnement de maladies humaines représente une avancée considérable pour la recherche de molécules capable de restaurer un fonctionnement normal, et donc de déboucher sur un médicament efficace. Cela peut être réalisé par criblage à haut-débit de banques de composés chimiques actuellement disponibles. Ce criblage peut aussi être conçu pour évaluer la toxicité de molécules destinées à une application chez l'homme, et/ou rechercher des substances susceptibles d'altérer la différenciation ou la prolifération de différents types de précurseurs différenciés à partir de cellules souches pluripotentes normales. Cette stratégie de criblage étant robotisée compte tenu des milliers de molécules à tester, elle implique de miniaturiser les cultures et de disposer de marqueurs aisément décelables (étiquettes fluorescentes, expression protéique, etc.) lorsque la cellule passe par un état donné de différenciation ou de prolifération susceptible d'être influencé par la molécule d'intérêt.

Prenons quelques exemples publiés récemment :

- Recherche de médicaments corrigeant les conséquences d'une mutation délétère. Les cellules souches embryonnaires sont dérivées d'embryons porteurs de cette mutation (issus d'un diagnostic préimplantatoire) et les iPS de biopsies de patients atteints de la maladie. On identifie dans des cellules une anomalie de différenciation reproduisant certains aspects des maladies, et on teste, comme précédemment, des milliers de molécules chimiques à la recherche de celles qui corrigeront cette anomalie.
- Un essai clinique a récemment été mené en France sur la Maladie de Steinert suite à la mise en évidence d'une action de la metformine (un anti diabétique couramment prescrit pour le diabète de type II) sur des cellules souches embryonnaires porteuses d'une mutation à l'origine de la maladie. Les études ont en effet montré que cette molécule pouvait agir sur d'autres voies moléculaires et être efficace dans le traitement de cette maladie neuromusculaire. Utilisation en toxicologie prédictive. Ce domaine pose un défi majeur lors du développement pharmacologique : il induit des coûts importants, et les méthodes actuelles

d'analyse ne sont que très partiellement satisfaisantes, que ce soit pour analyser les effets toxiques de molécules commerciales à des fins médicales ou cosmétiques, ou pour l'analyse de la détoxification de produits ou le métabolisme de médicaments. Dans les deux cas, les cellules utilisées sont surtout des cardiomyocytes (exemple ci-dessus) et des hépatocytes, et la disponibilité de cellules dérivées de CSEh ou d'iPS pourrait bouleverser le champ d'action, ce d'autant que ces lignées peuvent refléter l'ensemble de la diversité génétique des individus. Mais l'utilisation en routine est encore très prématurée et les obstacles principaux à résoudre sont l'obtention d'hépatocytes différenciés fonctionnels, en particulier induisant les enzymes de détoxification, et la reproductibilité des critères de fonctionnalité d'une lignée à l'autre, objectifs qui sont encore loin d'être atteints de façon satisfaisante. Surtout, dans ces applications industrielles, beaucoup d'obstacles restent à franchir, en particulier dans le choix des lignées, la standardisation des méthodes de culture et des tests, la miniaturisation et la définition des marqueurs, l'automatisation des tâches, mais comme précédemment, les succès sont déjà tangibles.

### **3.3. Enjeux organisationnels et internationaux**

Outre qu'elle change notre vision de la thérapie cellulaire et a permis des avancées fondamentales considérables, la recherche sur les cellules souches pluripotentes (CSEh et iPS) a d'autres répercussions dans le domaine économique, social et éthique qui doivent être anticipées et nourrir une réflexion.

Un autre changement de taille est survenu : cette recherche, et demain peut-être ses applications thérapeutiques, se discutent et se réalisent à l'échelon international (Il faut en particulier signaler l'implication très active des pays asiatiques dans ce domaine), et en impliquant de multiples équipes de recherche et plateformes technologiques. C'est vrai en particulier des bonnes pratiques, de la standardisation des critères de sécurité, de la définition des tests, de l'établissement de registres de cellules souches et du projet éventuel d'une banque de cellules HLA-typées. C'est une difficulté, car il n'y a pas d'harmonisation des réglementations nationales.

Comme l'a souligné l'Office parlementaire d'évaluation des choix scientifiques et technologiques dès 2006, il est nécessaire également d'anticiper les conséquences que l'introduction des thérapies cellulaires pourrait avoir sur les systèmes de protection sociale et sur leur financement. Outre qu'il resterait à préciser leurs modes de financement, ces traitements strictement individualisés paraîtraient susceptibles d'induire une logique d'assurance individuelle qui contreviendrait aux principes de solidarité qui fondent notre protection sociale. Les coûts gigantesques que demandent ces thérapies pourraient être le principal frein à leur implémentation éventuelle ce d'autant que les sociétés privées n'y voient pas forcément une rentabilité importante (Géron a récemment abandonné l'essai des dérivés de CSEh dans les lésions spinales pour des raisons financières).



**- 4 -**

## **Neurosciences**



## 4. NEUROSCIENCES

La loi n°2011-814 du 7 juillet 2011 relative à la bioéthique étend les compétences de l'Agence de la biomédecine en lui confiant la mission d'assurer une information permanente du Parlement et du Gouvernement sur le développement des connaissances et des techniques dans le domaine des neurosciences. La loi prévoit par ailleurs que soit inclus, dans le rapport annuel d'activité de l'Agence, un chapitre concernant les « principaux développements des connaissances et techniques dans le domaine des neurosciences ».

Les neurosciences se définissent par l'étude du fonctionnement du système nerveux depuis les aspects les plus élémentaires : moléculaires, cellulaires et synaptiques jusqu'à ceux, plus intégratifs, qui portent sur les fonctions comportementales et cognitives. Elles constituent donc une vaste famille de disciplines de recherche, rassemblant des spécialités plus ou moins cliniques ou fondamentales, ces disciplines pouvant être extrêmement éloignées les unes des autres aussi bien au niveau des technologies que des méthodologies : l'éthologie et la neurobiologie moléculaire par exemple.

Au moment où cette nouvelle mission lui a été confiée, l'Agence ne disposait pas de l'expertise interne nécessaire pour la mener de façon satisfaisante : les neurosciences n'ont en effet aucun lien avec le prélèvement et la greffe, ainsi qu'avec les disciplines de la procréation, l'embryologie et la génétique humaines et très peu avec la recherche sur l'embryon (quelques autorisations ont nécessité le recours à un évaluateur dans ces disciplines). Il s'agit par ailleurs d'un domaine vaste, multidisciplinaire et actuellement assez sensible.

En 2012, l'Agence a constitué un comité de pilotage composé d'experts français de haut niveau et chargé de définir les deux à trois grands axes de réflexion autour desquels s'articulera le rapport annuel et de veiller à sa qualité. La production des synthèses est assurée par des groupes de travail constitués autour des axes définis. Les missions du comité de pilotage sont les suivantes :

- Définir les différentes thématiques à aborder chaque année dans le rapport de l'Agence ;
- Nommer un rapporteur du comité de pilotage pour chacun des thèmes définis et constituer un sous-groupe de travail ;
- Discuter et fusionner les documents rédigés par les différents groupes de travail afin de produire un rapport final ;

Le comité de pilotage est composé des experts suivants : Bernard Bioulac (professeur de neurosciences à l'université Bordeaux 2 - directeur de l'ITMO Neurosciences entre 2009 et 2012) ; Marie-Germaine Bousser (chef du service de neurologie de l'hôpital Lariboisière - membre du CCNE) ; Alexis Brice (directeur de l'Institut du cerveau et de la moelle) ; Hervé Chneiweiss (Centre de psychiatrie et neurosciences) ; Anne Fagot-Largeault (Collège de France) ; Etienne Hirsch (directeur de l'ITMO Neurosciences) ; Olivier Oullier (professeur de neurosciences à l'université d'Aix Marseille - Centre d'analyse stratégique).

Les réflexions du comité de pilotage ont conduit à retenir les thèmes suivants :

2013 : imagerie cérébrale : information du patient ;

2014 : état des connaissances sur le développement des traitements pharmacologiques de l'autisme ;

2015- 2016 : correction du handicap par des instruments pilotés par le cerveau

Les groupes de travail autour de ces thématiques ont été constitués, et les rapports rédigés en 2013 et 2014 ont été inclus dans les rapports annuels d'activités. Le rapport concernant la correction du handicap par des instruments pilotés par le cerveau est joint en annexe.



## **5. ANNEXE**



# NEUROSCIENCES

## La correction des handicaps par les interfaces cerveau-machine

Version 2 – Décembre 2016

### 1. Introduction : qu'est-ce qu'une interface Cerveau-Machine et comment le cerveau peut-il interagir avec ce type de dispositifs ?

Une interface cerveau-machine (ICM) est un dispositif qui permet d'établir un canal de communication direct entre le cerveau d'un individu et un ordinateur ou une machine. On peut catégoriser les ICM selon que les informations qui circulent sur ce canal sont reçues ou émises par le cerveau.

#### 1.1. Interface cerveau-machine émettant des signaux vers le cerveau

Les ICM envoyant des signaux vers le cerveau sont principalement les neuroprothèses sensorielles qui visent à suppléer une déficience auditive ou visuelle (voir paragraphe 2). Avec ces ICM, qualifiées de réactives, c'est la machine qui initie la communication en soumettant l'individu à des stimulations auditives, visuelles ou tactiles. Lorsqu'il réagit volontairement à certaines de ces stimulations, l'activité mentale de l'individu se trouve modulée spécifiquement, faisant alors apparaître dans les signaux cérébraux des motifs que l'ICM peut identifier.

#### 1.2. Interface cerveau-machine captant des signaux venant du cerveau

Avec les ICM enregistrant les signaux du cerveau (qualifiées d'actives), l'individu est à l'initiative du processus de communication. Lorsqu'il exécute certaines tâches mentales très particulières (calcul mental, imagination motrice, etc.), les signaux physiologiques enregistrés sur l'individu présentent des caractéristiques spécifiques que l'ICM peut mettre en évidence puis reconnaître. Ces ICM analysent l'activité cérébrale de l'individu en vue d'élaborer des signaux de contrôle d'un ordinateur ou de tout autre système dédié. Les interfaces enregistrant les signaux moteurs permettent de s'affranchir du besoin de recourir à une activité motrice physique pour exécuter les actions de l'utilisateur (par exemple cliquer sur une souris ou taper sur un clavier d'ordinateur) en captant les signaux moteurs directement au niveau du cerveau. Les applications médicales principales de telles interfaces sont de permettre à des patients souffrant de déficits moteurs importants de retrouver une autonomie motrice, voire une capacité à communiquer (Mattout et al. 2015). De plus, ce type d'interfaces actives peut aussi enregistrer des signaux cognitifs (tels que la planification d'une tâche, la mémorisation à court terme d'informations, ou la fixation de l'attention dans l'environnement (Astrand, Wardak, et Ben Hamed 2014).

Quatre techniques d'électrophysiologie permettent d'enregistrer l'activité électrique du cerveau en utilisant des électrodes placées à des distances plus ou moins grandes des neurones dont on veut enregistrer l'activité (Schwartz et al. 2006).

1. **L'électroencéphalographie (EEG)** est la technique la plus éloignée des neurones ciblés. L'EEG consiste à apposer, de façon temporaire, des électrodes sur le cuir chevelu à des endroits définis par la zone du cerveau ciblée. C'est la technique la plus sûre puisque c'est la seule technique électrophysiologique ne nécessitant pas de chirurgie (technique dite non-invasive). Toutefois, le cuir chevelu humain est à une distance de 2-3 cm de la surface du cortex cérébral. Les signaux électriques captés sont donc faibles et correspondent à la somme d'une large surface du cortex (6 cm<sup>2</sup>). Cette technique ne permet pas d'enregistrer les signaux dans des aires cérébrales de contrôle indépendantes. Elle a donc une faible résolution spatiale (de l'ordre du centimètre).

2. **L'électrocorticographie (ECoG)** réduit la distance entre les électrodes et les neurones ciblés en plaçant les électrodes directement sur la surface du cortex sous les méninges. La distance entre les électrodes et les neurones cibles est alors d'environ 0.5mm. Cette technique invasive améliore la résolution spatiale qui est dès lors de l'ordre du millimètre.
3. **Les potentiels de champ local (LFP)** sont mesurés en insérant des électrodes directement dans le cortex. Les électrodes peuvent être implantées dans des structures profondes du cerveau. Avec cette technique invasive la résolution est de l'ordre de 0.5 millimètre.
4. **Les potentiels d'action de neurone unique** s'appuient sur l'implantation de microélectrodes de 1 à 5 mm sous la surface du cortex. C'est ce type d'électrode qui est généralement utilisé pour contrôler des prothèses de membre robotisées. La majorité de ces électrodes sont implantées de façon permanente dans le cortex cérébral. L'accès au cerveau se fait en enlevant un petit morceau de l'os du crâne (environ 2 cm). La résolution spatiale est maximale avec cette technique (0.05 mm) Ce genre de technique est actuellement utilisé uniquement sur des patients tétraplégiques.

D'autres techniques non invasives permettent aussi de détecter les variations d'activité du cerveau incluant l'imagerie par résonance magnétique fonctionnelle (IRMf : basée sur la détection des changements de débit sanguin localement dans le cerveau), par spectroscopie proche de l'infrarouge (NIRS, détectant les changements métaboliques cérébraux liés à l'activité neuronale), par magnétoencéphalographie (MEG mesurant l'activité magnétique du cerveau) et par tomographie par émission de positron (PET, mesurant les niveaux de glucose sanguin dans les différentes régions du cerveau), (Bamdad, Zarshenas, et Auais 2015). Néanmoins, la complexité technique de l'IRMf, du MEG et du PET rend pour le moment ces techniques impropres à une utilisation hors du laboratoire de recherche.

Contrairement à ce que laissent entendre de nombreux articles de vulgarisation, une ICM active ne peut pas « lire les pensées » d'un individu et encore moins établir un lien de communication de type « télépathie ». Les ICM actuelles permettent tout au plus de classer l'état mental de l'individu dans un nombre limité de catégories définies *a priori*. L'état mental est catégorisé en analysant quelques signaux physiologiques cérébraux enregistrés puis converti en une commande de contrôle utilisable par le dispositif qui doit être piloté. La classification nécessite un apprentissage, au cours duquel l'association quantitative entre les signaux et l'état mental est établie.

Néanmoins une phase d'adaptation est nécessaire afin que la communication établie entre le cerveau et la machine soit efficace aussi bien pour les ICM actives que réactives. Dans les ICM actives, l'individu doit apprendre à contrôler précisément son état mental afin que les motifs qui apparaissent dans ses signaux cérébraux puissent être reconnus par la machine avec un faible taux d'erreur. Ce processus d'apprentissage peut durer plusieurs jours sinon plusieurs semaines. En revanche, dans les ICM réactives, l'adaptation est réalisée principalement au niveau de la machine et nécessite en général assez peu de temps.

A l'heure actuelle, les applications humaines des ICM actives se limitent à des applications médicales dont le but ultime est d'aider des patients, avec des déficits moteurs sévères, à avoir une interaction efficace avec leur environnement avec l'aide de dispositifs externes (des ordinateurs, un synthétiseur vocal, des appareils d'aide ou des neuroprothèses). Ces dispositifs pourraient améliorer de façon significative la qualité de vie de ces patients. Mais, il existe d'autres applications non-médicales possibles qui soulèvent doré et déjà des questions éthiques (voir paragraphe 6).

## **2. Prothèses sensorielles :**

Les exemples les plus aboutis d'ICM réactives sont les prothèses sensorielles auditives et visuelles. La première démonstration chez l'homme de la faisabilité de contourner l'organe sensoriel défectueux a été réalisée en 1957 par Djourno et Eyriès qui ont rendu la perception du son à un patient sourd au moyen d'une électrode implantée dans son oreille interne (premier implant cochléaire) (Macherey et Carlyon 2014).

### **2.1. Audition**

Les implants cochléaires sont des implants électroniques qui permettent de rétablir un certain niveau d'audition chez des patients sourds ou malentendants pour lesquels le nerf auditif est au moins partiellement préservé. Cette technique est utilisée couramment depuis les années 80 et il y aurait à ce jour, dans le monde, plus de 300 000 porteurs d'implant cochléaire (Macherey et Carlyon 2014). L'utilisation de ces prothèses est indiquée dans les formes les plus sévères d'atteintes auditives.

Les implants sont composés de deux parties : un porte-électrode interne (placé chirurgicalement dans la cochlée) et un processeur externe comprenant un microphone et un système de traitement du signal. Les informations sont transmises par voie transcutanée du processeur externe au porte électrode (Bouccara et al. 2012).

Les implants cochléaires impliquent que la transmission de l'information de la cochlée vers le cortex auditif soit intacte. Or, des pathologies comme la neurofibromatose de type 2 conduisent à une interruption de la conduction du signal en aval de la cochlée. Dans ce cas, il est possible d'implanter l'électrode dans une structure plus profonde dans le cerveau (les noyaux cochléaires du tronc cérébral) (Bouccara et al. 2012). Basé sur le même principe que l'implant cochléaire, l'implant auditif du tronc cérébral s'est développé moins rapidement. Néanmoins, il y avait tout de même 600 patients dans le monde porteurs de ce type de prothèse en 2009 (Lim, Lenarz, et Lenarz 2009). L'implant auditif du tronc cérébral est aussi considéré comme une électrode de stimulation du cerveau profond.

Ces deux types d'implants auditifs invasifs conduisent tout de même à des complications chez 10 à 16% des patients implantés (Bouccara et al. 2012). La moitié de ces complications sont mineures (vertiges, infection cutanée...). Les complications majeures incluent un déplacement du récepteur mais aussi une panne du récepteur. De plus, ces prothèses nécessitent une phase de réglage dans les semaines qui suivent l'activation ainsi qu'une rééducation orthophonique centrée sur l'intégration des informations fournies par l'implant. Le bénéfice pour le patient devient maximal 3 à 6 mois après l'implantation.

### **2.2. Vision**

Les implants visuels ou prothèses rétinienne sont des implants électroniques qui permettent de rétablir une forme de vision chez des patients non-voyants dont l'infirmité est causée par une maladie de la rétine telle que la dégénérescence maculaire liée à l'âge ou les rétinopathies pigmentaires, (représentent environ la moitié des cas de cécité dans les pays industrialisés). Ces maladies se caractérisent par une altération des photorécepteurs formant la couche externe de la rétine.

Les implants rétinien consistent en une grille de micro-électrodes qui stimule la rétine résiduelle. La prothèse est implantée soit à la place d'origine des photorécepteurs (implantation sous-rétinienne), soit à proximité des cellules ganglionnaires (implantation épi-rétinienne) (Bendali et al. 2013).

Les implants épi-rétiens sont constitués d'une caméra (montée sur des lunettes), d'un microprocesseur, d'un émetteur radio qui transfère les données du microprocesseur vers le dispositif implanté de stimulation électrique. La première génération de prothèses épi-rétiennes comportait 16 électrodes permettant aux patients d'identifier une cible lumineuse ou de reconnaître des objets blancs sur fond noir (Bendali et al. 2013). La deuxième génération d'implants épi-rétiens comprend 60 électrodes permettant la réalisation de tâches visuelles un peu plus complexes (localisation d'objet, discrimination du mouvement ...) avec plus ou moins de succès selon les patients (Bendali et al. 2013). Un dispositif de ce type est commercialisé en Europe depuis 2011. Mais son efficacité est liée au nombre d'électrodes (60) qui limite la représentation d'une image.

De plus, la position de l'implant en épirétinien ne permet pas de stimuler différenciellement les différentes classes de cellules ganglionnaires de la rétine.

Les implants sous-rétiniens pourraient pallier ou limiter cet inconvénient. A l'heure actuelle, l'implant sous-rétinien le plus efficace en clinique est composé de photodiodes, d'un amplificateur et de 1500 électrodes. Le dispositif circulaire est placé sous la rétine. Avec ce dispositif, certains patients ont pu percevoir des mires simples ou lire des lettres (Bendali et al. 2013). Malgré le plus grand nombre d'électrodes, les performances visuelles des patients équipés de cet implant sont du même ordre que ceux implantés avec l'implant épi-rétinien à 60 électrodes. Par conséquent, l'augmentation du nombre d'électrodes n'apparaît pas suffisante pour augmenter la résolution des images perçues, l'interface tissu/implant semble également devoir être prise en compte.

### **Développement futurs**

Différents types de prothèses rétiniennes sont actuellement en développement. Elles prévoient d'augmenter le nombre d'électrodes pour permettre une meilleure définition des images perçues. La difficulté de la chirurgie a orienté la recherche vers de nouvelles générations de matériaux photosensibles rigides ou souples. L'objectif est de réduire la chirurgie à l'introduction sous rétiniennne d'un élément photosensible aux rayons infrarouges ou aux rayons du spectre visible sans avoir à relier cet élément par une liaison filaire avec un dispositif externe à l'œil. Par ailleurs, l'interface cerveau/machine pourrait également passer par une interface optique. En effet, la thérapie optogénétique a pour objet de sensibiliser tout neurone à la lumière (Roska et al., 2013). La vision pourrait procurer la première application humaine de cette nouvelle approche d'interface cerveau/machine car la rétine, véritable fraction de cerveau délocalisée dans l'œil, bénéficie d'une fenêtre optique. La sensibilisation des neurones repose sur l'expression de protéines issues des algues ou de bactéries sensibles à la lumière. Cette expression de ces protéines microbiennes dans les neurones de la rétine est obtenue par thérapie génique. Cette approche est en cours de validation préclinique chez le primate. Elle implique le port d'un stimulateur visuel car la sensibilité à la lumière des protéines impose des expositions à des intensités fortes, équivalentes au soleil d'été. Les générations futures d'implants rétiniens ouvrent donc de nouvelles perspectives intéressantes pour la restauration visuelle des patients qui pourrait aussi bénéficier du développement rapide de la thérapie optogénétique.

Pour les pathologies affectant les cellules ganglionnaires comme le glaucome ou la rétinopathie diabétique, ces implants rétiniens n'ont pas d'application. La perte du lien entre rétine et cerveau impose de stimuler directement les aires visuelles supérieures comme le cortex visuel. Tout comme pour les implants auditifs, des premiers essais ont montré la pertinence de cette approche. Cependant, dans ce cas, les premiers dispositifs ne permettaient pas un maintien de la vision retrouvée dans le temps. Les nouvelles technologies, notamment les nouveaux matériaux conducteurs (diamant, graphène) pourraient apporter des solutions innovantes.

Il ne semble pas y avoir actuellement d'application non-médicale envisagée ou décrite avec ces prothèses sensorielles. Ceci s'explique peut-être par les performances relativement modestes des prothèses actuelles ainsi que par le caractère invasif et la technicité chirurgicale élevée nécessaire à l'implantation.

### **3. Dispositifs pilotés par le cerveau → ordinateur, exosquelette**

Les ICM actives utilisent les signaux électriques émis par le cerveau soit à la surface du scalp, soit sous la voûte crânienne, soit en intracérébral pour piloter par la « pensée » divers dispositifs, allant du curseur d'ordinateur au bras artificiel articulé. Les signaux sont enregistrés par des électrodes implantées dans le cerveau et transmis à des dispositifs extérieurs qui sont activés en temps réel.

La faisabilité de ce type de dispositif a initialement été établie chez l'animal. L'une des premières études chez l'homme impliquant un dispositif piloté par le cerveau fut rapportée en 1991 et le dispositif était un curseur d'ordinateur déplacé dans une seule dimension par un contrôle utilisant des enregistrements de l'activité électrique du cerveau à la surface du crâne (EEG) (Wolpaw et al. 1991).

Avec le temps, le contrôle du curseur s'est complexifié (deux dimensions) et a gagné en précision en utilisant des électrodes implantées dans le cerveau (Leuthardt et al. 2004). Le plus récent rapport d'un contrôle neuronal de curseur fait état de la capacité d'un patient tétraplégique à diriger un curseur et cliquer avec une efficacité d'atteinte de la cible de plus de 91% (Simeral et al. 2011).

Depuis ces premières avancées en termes de dispositifs pilotés par le cerveau, le nombre et la complexité des dispositifs contrôlés par des interfaces cerveau-machine n'a cessé d'augmenter. De nos jours, des études menées chez l'homme ont rapporté la capacité de patients à contrôler des neuroprothèses capables de provoquer l'ouverture et la fermeture de la main d'un patient paralysé (Lauer, Peckham, et Kilgore 1999) ainsi que des bras robotisés (Hochberg et al. 2012; Collinger et al. 2013) ou un prototype d'exosquelette (Pedrocchi et al. 2013).

Le contrôle de ces membres robotisés atteint suffisamment de précision pour que, dans l'étude de Hochberg parue dans la revue Nature de 2012, une personne paralysée depuis près de 15 ans ait été capable de boire dans une cannette avec une paille, indiquant que les circuits neuronaux moteurs restaient fonctionnellement engagés malgré l'absence prolongée d'interaction avec les muscles cibles. Ces travaux ont utilisé le bras robotisé DEKA développé dans le cadre du programme « révolutionner les prothèses » de l'Agence pour les Projets de Recherche Avancée en Défense de l'armée américaine (DARPA). Ce programme de financement vise notamment à rendre leur autonomie ou faciliter le retour à la vie active des blessés de guerre (Miranda et al. 2015).

En 2014, le bras DEKA a reçu l'approbation de la « Food and Drug Administration » aux USA. Ces bras robotisés de dernière génération, dits anthropomorphiques, sont capables d'être contrôlés pour effectuer 7 types de mouvements différents (déplacements du poignet en 3 dimensions, orientation du poignet dans 3 directions et ouverture-fermeture de la main) (Collinger et al. 2013).

Ces essais cliniques initiés aux Etats-Unis offrent un réel espoir pour des patients souffrant d'handicap moteur sévère et irréversible.

#### **4. Neurostimulation → maladie de Parkinson, syndrome de Gilles de La Tourette, troubles obsessionnels compulsifs, certaines pathologies mentales, douleur, etc.**

La stimulation cérébrale profonde est une technique neurochirurgicale invasive qui consiste à implanter au niveau d'une zone centrale de l'encéphale, les ganglions de la base, deux électrodes connectées par un câble sous-cutané à un générateur électrique (généralement situé sous la clavicule). Les électrodes délivrent ainsi en continu, dans une région sous-corticale choisie en fonction des symptômes à traiter, un courant dont il est possible de moduler l'intensité et la fréquence. Ces électrodes sont dites profondes car elles peuvent être implantées à des profondeurs dépassant la profondeur des électrodes corticales (1.5-2mm) utilisées dans les ICM.

La stimulation cérébrale profonde à haute fréquence a été développée en France à la fin des années 80 par le Pr Alim-Louis Benabib et le Pr Pierre Pollack pour le traitement de symptômes moteurs souvent résistants aux médicaments, tels que les tremblements, les dystonies, ou plus généralement les déficits observés dans la maladie de Parkinson (Pour revue, Alim Louis Benabid et al. 2011). L'application de la neurostimulation profonde à la maladie de Parkinson découle de l'observation fortuite de l'abolition des tremblements chez un patient souffrant de tremblements primaires intractables, durant l'exploration, par stimulation électrique, d'une structure cérébrale appelée le thalamus en vue de l'ablation d'une zone communément associée au tremblement (A. L. Benabid et al. 1987). En effet, la stimulation cérébrale profonde à haute fréquence éteint l'activité des neurones autour de l'électrode reproduisant ainsi les effets de l'ablation chirurgicale.

Du fait de la réversibilité, de l'adaptabilité et de la faible morbidité de la stimulation cérébrale profonde, l'utilisation de cette technique a été étendue depuis à de nombreuses pathologies neurologiques et psychiatriques en ciblant d'autres zones du cerveau. Les autres pathologies pour lesquelles la

stimulation cérébrale profonde apporte des bénéfices sont les troubles obsessionnels compulsifs (Alonso et al. 2015, Kisely et al. 2014), le syndrome de Gilles de la Tourette (Smith et Spindler 2015), la dépression ou dans le traitement de cas rebelles d'épilepsie (Alim Louis Benabid et al. 2011). Cependant, la stimulation cérébrale profonde n'est encore proposée qu'à un petit nombre de patients qui sont généralement sévèrement atteints, avec des répercussions sur la vie sociale et professionnelle car elle peut induire, dans 2 à 3% des cas, des effets indésirables : confusions mentales, hémiparésies, hématomes ou encore des infections.

Néanmoins, les travaux menés chez l'animal suggèrent que la stimulation cérébrale à haute fréquence pourrait être bénéfique pour modifier les habitudes alimentaires de l'animal et donc pourrait traiter l'obésité et l'anorexie mentale soulevant un problème éthique majeur pour son application chez l'homme (Alim Louis Benabid et al. 2011). Un autre problème éthique est aussi lié à l'observation que les dommages de la zone du cerveau appelée « insula » abolit l'addiction au tabac, suggérant que la stimulation cérébrale profonde à haute fréquence de cette structure pourrait offrir un traitement à l'addiction au tabac (Alim Louis Benabid et Torres 2012). Il est aussi tentant de vouloir appliquer cette technique pour traiter l'addiction aux stupéfiants (Carter et Hall 2011; Vorspan et al. 2011). Il serait nécessaire d'évaluer les bénéfices/risques dans ces cas avant de pouvoir réaliser des essais cliniques.

## **5. Evaluation et réhabilitation :**

L'évaluation et la réhabilitation de l'activité cérébrale après un accident sont deux domaines pour lesquels les interfaces cerveau-machine peuvent jouer un rôle déterminant.

Ces deux champs s'appuient sur la quantification de l'activité cérébrale. Cette évaluation/quantification de l'activité cérébrale peut être exploitée soit par le thérapeute, soit par le patient lui-même pour qu'il modifie l'activité de son propre cerveau au niveau d'une zone cible, c'est le neurofeedback. La quantification de l'activité cérébrale peut être obtenue de façon classique par un EEG mais cette technique ne permet pas de quantifier l'activité des zones profondes du cerveau. Récemment, le développement de l'imagerie cérébrale fonctionnelle a permis de quantifier l'activité cérébrale dans n'importe quelle zone du cerveau, ouvrant la voie vers de nouvelles modalités de réhabilitation.

### **5.1. Imagerie cérébrale fonctionnelle et réhabilitation**

#### **5.1.1. Qu'est-ce que l'imagerie cérébrale fonctionnelle ?**

L'imagerie cérébrale fonctionnelle permet de quantifier l'activité cérébrale, soit en mesurant les champs électro-magnétiques induits directement par l'activité des neurones (électro-encéphalographie, magnéto-encéphalographie) à l'aide d'électrodes ou de capteurs dédiés, soit en mesurant un corrélat métabolique de cette activité (les changements d'oxygénation du sang visibles en imagerie par résonance magnétique, IRM fonctionnelle, ou la consommation locale de glucose, mesurable en tomographie par émission de positons, TEP).

Les différentes modalités n'offrent pas les mêmes niveaux de résolution spatiale et temporelle: alors que l'IRM fonctionnelle permet de localiser l'activité cérébrale à 2mm de résolution, l'électro-encéphalographie ou la magnéto-encéphalographie offrent une image beaucoup moins précise spatialement, tandis que les électrodes implantées donnent une image précise, mais très localisée, de l'activité cérébrale. Inversement, les modalités mesurant l'activité électrique ou magnétique des neurones sont très résolues temporellement (à l'échelle de la milliseconde), tandis que les modalités qui reposent sur le métabolisme cérébral sont beaucoup plus lentes (cinq secondes environ).

Mis à part l'électro-encéphalographie de profondeur, qui utilise des électrodes implantées chez des patients épileptiques qui ne répondent pas aux traitements pharmacologiques, et la tomographie par émission de positons, qui nécessite l'absorption d'un agent radioactif, ces modalités sont non-invasives, c'est à dire sans effet de long terme sur l'organisme.

L'imagerie fonctionnelle est utilisée dans le cadre des neurosciences cognitives pour étudier la répartition spatiale et la structure temporelle de l'activité cérébrale accompagnant la réalisation de tâches cognitives, ainsi qu'en psychiatrie pour identifier des différences entre des populations de sujets contrôles et des sujets atteints de certaines maladies.

L'imagerie fonctionnelle est également utilisée dans le cadre de diagnostics pré-chirurgicaux, pour évaluer par avance les dommages fonctionnels causés par la résection éventuelle d'une zone du cerveau, par exemple d'un foyer épileptogène ou une tumeur.

#### *5.1.2. Comment l'imagerie cérébrale peut-elle donner des indices de réhabilitation ?*

L'imagerie cérébrale est aussi utilisée comme indicateur de réhabilitation: par exemple, après un accident vasculaire cérébral, l'activation locale ou son association statistique avec l'activité d'autres régions peut indiquer une évolution du fonctionnement du cerveau, par exemple un début de réhabilitation, ou des mécanismes de compensation. Cette recherche de marqueurs d'évolution reste un défi scientifique et médical à cause des dommages globaux posés par les maladies et altérations du fonctionnement cérébral, qui s'ajoutent à l'hétérogénéité déjà observée dans la population générale.

### **5.2. Réalité virtuelle, neurofeedback et réhabilitation**

En plus de permettre de contrôler des prothèses robotisées, les ICM permettent aussi de contrôler des objets virtuels sur un moniteur (curseur...). Cette sorte d'interface est connue comme le contrôle de la réalité virtuelle (VRC). Les premières applications de VRC consistaient à allumer ou éteindre un interrupteur à l'aide d'ondes cérébrales (Bamdad, Zarshenas, et Auais 2015). Elles s'étendent maintenant à la navigation sur internet, l'allumage d'appareil à distance (télévision...), la sélection de lettres pour la communication orale ou écrite.

Certains auteurs ont défini la réalité virtuelle comme étant une technologie informatique fournissant un retour sensoriel artificiel à un utilisateur (Gatica-Rojas et Méndez-Rebolledo 2014). Ainsi, selon cette définition, le neurofeedback est une forme de réalité virtuelle. Le « neurofeedback » consiste à fournir à un utilisateur en temps-réel des informations concernant son activité cérébrale. L'accès à cette information va permettre au sujet d'apprendre à réguler une fonction physiologique qui, normalement, n'est ni perçue ni contrôlée consciemment. En pratique, le neurofeedback s'appuie sur l'utilisation d'un appareil (EEG ou IRM fonctionnelle) qui enregistre l'activité à un endroit particulier du cerveau. Des mesures physiologiques sont extrapolées du signal et converties en un signal visuel ou auditif, qui varie de façon cohérente avec les signaux cérébraux. L'utilisateur peut alors essayer de trouver des stratégies pour moduler spécifiquement certaines activités cérébrales. Les changements d'activité induits par le sujet dans la zone ciblée sont récompensés (au moins psychologiquement : changement de couleur ou augmentation du nombre de point sur un diagramme) et donc renforcés positivement. L'objectif est de réussir à modifier à long terme une activité cérébrale pathologique ou non optimale, afin de modifier (et souvent de corriger) le comportement associé à cette activité ou de réhabiliter une fonction perdue (en cas d'accident vasculaire cérébral par exemple).

Le neurofeedback basé sur l'EEG a été développé dans les années 70 et a été depuis utilisé dans un grand nombre de pathologies très diverses, tels que le trouble de déficit de l'attention avec hyperactivité, l'autisme, l'épilepsie ou la schizophrénie (Jean-Arthur Micoulaud-Franchi et al. 2014). Cependant, il y a encore très peu d'études cliniques randomisées (le type d'étude clinique offrant le plus haut niveau de preuve de l'effet d'une thérapie) sur le sujet. L'efficacité de cette technique reste donc encore soumise à discussion.

L'application de l'IRMf au neurofeedback permet d'élargir l'utilisation de cette technique à des pathologies impliquant des zones du cerveau dont l'activité n'est pas mesurable par EEG. En effet,

l'IRMf non seulement a une meilleure résolution spatiale que l'EEG, mais elle permet aussi de cibler des zones situées sous le cortex (peu accessible en EEG). Le ciblage de ces zones plus profonde par un neurofeedback avec IRMf pourrait permettre à des sujets d'apprendre à réguler des émotions telles que les émotions négatives, les réactions au stress et les troubles dépressifs et anxieux (J. -A. Micoulaud-Franchi et al. 2012). Le neurofeedback par IRMf a été montré comme étant capable de diminuer la perception douloureuse chez une personne souffrant de douleur chronique (deCharms et al. 2005). De plus, l'utilisation du neurofeedback couplé à l'IRMf, à des fins de recherche chez le sujet sain, pourrait permettre de découvrir l'existence de fonctions cognitives ou inconnues dans la région d'intérêt étudiée, et donc d'ouvrir la voie à de nouvelles thérapies.

Les ICM bidirectionnelles (captant et envoyant des signaux vers le cerveau) font aussi partie de la réalité virtuelle. En effet, ces ICM, dites en circuit fermé, délivrent une stimulation continue dépendante de l'activité du cerveau (Fetz 2015). Les ICM bidirectionnelles pourraient permettre de créer des connexions artificielles prenant la place de connexions biologiques qui ont été interrompues. Ainsi, avec ce type d'ICM, le cerveau pourrait apprendre à incorporer à long terme une connexion récurrente dans son fonctionnement normal. Cependant, les ICM bidirectionnelles sont encore au stade de développement chez le primate et touchent principalement les systèmes moteurs (Fetz 2015)

## 6. Questions éthiques

Actuellement, les applications humaines de ces ICM se limitent à des applications médicales ou à des fins de recherche scientifique (où elles permettent de tester des hypothèses en neurosciences cognitives par exemple) (Sanchez et al. 2014). Mais il existe d'autres applications non-médicales possibles incluant le monitoring de l'état mental et de l'attention, le monitoring de la capacité de performance ou de l'intensité de l'engagement cérébral, des applications récréatives (jeux vidéo) (Blankertz et al. 2010) et des applications militaires (Miranda et al. 2015) qui soulèvent d'ores et déjà des questions éthiques.

L'institut de recherche stratégique de l'école militaire a publié, en 2012, une réflexion sociétale sur les interfaces cerveau-machine pour l'homme et l'implication pour la Défense (<http://www.defense.gouv.fr/irsem/publications/laboratoire/laboratoire-de-l-irsem-2012/laboratoire-de-l-irsem-n-8-2012>) qui notait déjà l'intérêt des Etats-Unis pour des applications militaires des ICM, avec l'intention de développer (via DARPA) des ICM permettant une communication homme à homme sans parole, la commande de drones, la conduite d'exosquelette, le pilotage d'avions de combat à réaction, l'amélioration de systèmes d'alerte et la lecture dans les pensées (détection des mensonges et retranscription sur écran des images visuelles d'un individu). En 2015, une revue scientifique publiée par des membres de la DARPA faisait état de résultats des programmes :

- APPT : « Adaptive Peak Performance Trainer » utilisant des ICM pour accélérer l'apprentissage des soldats au cours de leur entraînement. Ce programme propose d'utiliser une ICM pour déterminer de façon objective les différents niveaux d'expertise (débutant, intermédiaire et expert).

- N2 : « Narrative Network » utilisant les ICM pour adapter un discours aux signaux EEG des personnes qui écoutent afin par exemple de maintenir un niveau d'attention minimum en permanence. Une utilisation de ce système est possible dans le domaine de l'éducation et de l'industrie des loisirs.

- NIA : « Neurotechnology for intelligence analysts » qui capte de façon non-invasive les signaux du cerveau afin d'augmenter significativement l'efficacité et le rendement de l'analyse d'image par l'humain. Dans ce programme, les images satellites à examiner défilent devant les yeux de l'opérateur au rythme de 10 images/seconde. A cette vitesse, l'opérateur n'a pas le temps d'initier une réponse comportementale suite à la détection d'une cible d'intérêt. Cependant, le cerveau modifie son activité et c'est ce changement d'activité capté par EEG qui est utilisé pour sélectionner les photos, qui sont ensuite représentées une par une à l'opérateur. L'utilisation de ce système a permis de décupler le rendement d'analyse sans aucune perte de sensibilité de détection.

- CT2WS : « Cognitive Technology Threat Warning System » qui de façon similaire au programme NIA, utilise une ICM non invasive pour identifier la signature cérébrale de la détection d'une cible d'intérêt pour repérer des menaces potentielles dans des opérations de surveillance vidéo.

DARPA a aussi financé un programme pour développer des électrodes d'EEG non invasives à bas coût (30\$) de qualité recherche qui pourront être utilisées par toute la communauté scientifique afin de promouvoir la recherche en neuroimagerie.

L'utilisation non-médicale des ICM ne se restreindra sûrement pas aux personnels militaires car l'émergence de casques d'EEG dédiés aux jeux vidéo ou le développement récent d'électrodes d'EEG qui peuvent être appliquées, de façon durable et non invasive, sur le lobe de l'oreille et l'os mastoïde de la mâchoire (Norton et al. 2015) laisse penser que l'utilisation des ICM non invasives peut, dans un futur proche, s'étendre à la population générale afin de développer de nouvelles applications professionnelles (nouveau mode d'interaction avec les outils de travail ou armement) ou personnelles.

L'utilisation des ICM pour des applications non-médicales et parfois même commerciales (jeux vidéo) laisse transparaître des risques d'atteinte à la vie privée en donnant accès aux fournisseurs à des données personnelles médicales (fonctionnement du cerveau). Certains employeurs pourraient chercher à obtenir ces données à des fins de sélection ou les enregistrements d'activité cérébrale lors de jeux vidéo pourraient être détournés à des fins de neuromarketing. Ces problèmes soulèvent des questions juridiques auxquelles il sera nécessaire de répondre.

D'un point de vue éthique, le Comité consultatif national d'éthique (CCNE) a rendu un avis en décembre 2013 alertant sur les risques liés à la neuro-amélioration chez la personne non malade. Si le ratio bénéfice/risque de l'utilisation des ICM invasives est indiscutablement en faveur de l'implantation chez les personnes souffrant de déficits moteurs ou sensoriels majeurs, il est toutefois largement en défaveur de l'implantation chez des personnes saines. Néanmoins, l'implantation d'ICM invasive chez le sujet sain pourrait être licite si le sujet a exprimé son consentement. Mais même dans le cas d'un « volontarisme » du sujet pour l'implantation d'une ICM invasive sur la base de la liberté individuelle, le CCNE soulève le risque de coercition. En effet, cette coercition peut être implicite. Ainsi, dans notre société compétitive, le sujet pourrait croire choisir librement de se faire implanter alors qu'il est sous l'effet d'une injonction à la performance. A cela s'ajoute le risque de coercition explicite par d'autres (parents sur leur enfant, l'armée) et la coercition sociétale exerçant une pression pour, par exemple, implanter des personnes agressives ou à comportement antisocial.

Comme le souligne le CCNE, les conséquences de l'utilisation d'ICM (invasives ou non) afin d'améliorer les performances de sujets sains ne sont pas qu'individuelles car le risque est grand d'aboutir à une classe sociale améliorée constituée d'une petite minorité d'individus bien informés et disposant des ressources financières suffisantes pour y accéder. Ceci aggraverait encore plus les inégalités entre les riches et les pauvres. Tous les arguments cités précédemment appellent donc à une « veille éthique » sur le sujet.

## **7. Conclusions**

Le champ d'application des interfaces cerveau-machine ne cesse de s'élargir pour les patients atteints de pathologies du système nerveux et du système moteur. La réalité ne rattrape pas encore la fiction mais les progrès réalisés dans les applications médicales afin de réhabiliter des patients souffrant de déficiences motrices, sensorielles ou psychologiques laissent entrevoir un risque de détournement de l'utilisation de ces machines pour améliorer le sujet sain. En France, la recherche est active et particulièrement compétitive, comme le montre le nombre important de publications issues d'équipes françaises reconnues internationalement. Des centres comme l'Institut de la Vision (Paris) ou le

Centre Clinattec (Grenoble) sont à l'origine de développements déjà en phase de recherche clinique chez le patient.

Dans un futur proche, il faudra vraisemblablement réfléchir à des mesures adaptées pour prévenir l'utilisation des ICM à des fins d'amélioration de performance d'un individu sain tout en continuant à permettre le développement de ces dispositifs à des fins de réhabilitation.

## 8. Bibliographie

Alonso, Cuadras, Gabriëls, Denys, Goodman, Greenberg, Jimenez-Ponce, Kuhn, Lenartz, Mallet, Nuttin, Real, Segalas, Schuurman, du Montcel, Menchon. « Deep brain stimulation for obsessive-compulsive disorder: A meta-analysis of treatment outcome and predictors of response. ». *PLoS One*. 2015 Jul 24;10(7).

Astrand, Elaine, Claire Wardak, et Suliann Ben Hamed. 2014. « Selective visual attention to drive cognitive brain-machine interfaces: from concepts to neurofeedback and rehabilitation applications ». *Frontiers in Systems Neuroscience* 8 (août). doi:10.3389/fnsys.2014.00144.

Bamdad, Mahdi, Homayoon Zarshenas, et Mohammad A. Auais. 2015. « Application of BCI systems in neurorehabilitation: a scoping review ». *Disability and Rehabilitation: Assistive Technology*, janvier, 1-10. doi:10.3109/17483107.2014.961569.

Benabid, Alim Louis, Thomas Costecalde, Napoleon Torres, Cecile Moro, Tetiana Aksenova, Andrey Eliseyev, Guillaume Charvet, et al. 2011. « Chapter 5 - Deep brain stimulation: BCI at large, where are we going to? ». In *Progress in Brain Research*, édité par Martin Garwicz and Nils Danielsen Jens Schouenborg, 194:71-82. Brain Machine Interfaces: Implications for Science, Clinical Practice and Society. Elsevier. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780444538154000169>.

Benabid, Alim Louis, et Napoleon Torres. 2012. « New targets for DBS ». *Parkinsonism & Related Disorders*, Proceedings of WFN XIX World Congress on Parkinson's Disease and Related Disorders, 18, Supplement 1 (janvier): S21-23. doi:10.1016/S1353-8020(11)70009-8.

Benabid, A. L., P. Pollak, A. Louveau, S. Henry, et J. de Rougemont. 1987. « Combined (thalamotomy and Stimulation) Stereotactic Surgery of the VIM Thalamic Nucleus for Bilateral Parkinson Disease ». *Applied Neurophysiology* 50 (1-6): 344-46.

Bendali, Amel, Henri Lorach, Milan Djilas, Olivier Marre, Ryad Bensoman, Lionel Rousseau, Gaëlle Lissorgues, et al. 2013. « Restaurer la vision de patients aveugles avec des prothèses rétinienne: Résultats cliniques et défis futurs ». *Biologie Aujourd'hui* 207 (2): 123-32. doi:10.1051/jbio/2013008.

Blankertz, Benjamin, Michael Tangermann, Carmen Vidaurre, Siamac Fazli, Claudia Sannelli, Stefan Haufe, Cecilia Maeder, et al. 2010. « The Berlin Brain-Computer Interface: Non-Medical Uses of BCI Technology ». *Frontiers in Neuroscience* 4. doi:10.3389/fnins.2010.00198.

Bouccara, D., I. Mosnier, D. Bernardeschi, E. Ferrary, et O. Sterkers. 2012. « Implants cochléaires chez l'adulte ». *La Revue de Médecine Interne* 33 (3): 143-49. doi:10.1016/j.revmed.2011.11.019.

Carter, Adrian, et Wayne Hall. 2011. « Proposals to Trial Deep Brain Stimulation to Treat Addiction Are Premature ». *Addiction* 106 (2): 235-37. doi:10.1111/j.1360-0443.2010.03245.x.

Collinger, Jennifer L, Brian Wodlinger, John E Downey, Wei Wang, Elizabeth C Tyler-Kabara, Douglas J Weber, Angus JC McMorland, Meel Velliste, Michael L Boninger, et Andrew B Schwartz. 2013. « High-performance neuroprosthetic control by an individual with tetraplegia ». *The Lancet* 381 (9866): 557-64. doi:10.1016/S0140-6736(12)61816-9.

deCharms, R. Christopher, Fumiko Maeda, Gary H. Glover, David Ludlow, John M. Pauly, Deepak Soneji, John D. E. Gabrieli, et Sean C. Mackey. 2005. « Control over Brain Activation and Pain Learned by Using Real-Time Functional MRI ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 102 (51): 18626-31. doi:10.1073/pnas.0505210102.

Fetz, Eberhard E. 2015. « Chapter 12 - Restoring motor function with bidirectional neural interfaces ». In *Progress in Brain Research*, édité par Sylvie Nadeau and Serge Rossignol Numa Dancause, 218:241-52. Sensorimotor Rehabilitation At the Crossroads of Basic and Clinical Sciences. Elsevier. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0079612315000023>.

Gatica-Rojas, Valeska, et Guillermo Méndez-Rebolledo. 2014. « Virtual Reality Interface Devices in the Reorganization of Neural Networks in the Brain of Patients with Neurological Diseases ». *Neural Regeneration Research* 9 (8): 888. doi:10.4103/1673-5374.131612.

Hochberg, Leigh R., Daniel Bacher, Beata Jarosiewicz, Nicolas Y. Masse, John D. Simeral, Joern Vogel, Sami Haddadin, et al. 2012. « Reach and Grasp by People with Tetraplegia Using a Neurally Controlled Robotic Arm ». *Nature* 485 (7398): 372-75. doi:10.1038/nature11076.

Kisely, Hall, Siskind, Frater, Olson, Crompton. « Deep brain stimulation for obsessive-compulsive disorder: a systematic review and meta-analysis. ». *Psychol Med.* 2014 Dec;44(16):3533-42.

Lauer, Richard T., P. Hunter Peckham, et Kevin L. Kilgore. 1999. « EEG-based control of a hand grasp neuroprosthesis ». *Neuroreport* 10 (8): 1767-71.

Leuthardt, Eric C., Gerwin Schalk, Jonathan R. Wolpaw, Jeffrey G. Ojemann, et Daniel W. Moran. 2004. « A Brain-computer Interface Using Electroencephalographic Signals in Humans ». *Journal of Neural Engineering* 1 (2): 63. doi:10.1088/1741-2560/1/2/001.

Lim, Hubert H., Minoo Lenarz, et Thomas Lenarz. 2009. « Auditory Midbrain Implant: A Review ». *Trends in Amplification* 13 (3): 149-80. doi:10.1177/1084713809348372.

Macherey, Olivier, et Robert P. Carlyon. 2014. « Cochlear implants ». *Current Biology* 24 (18): R878-84. doi:10.1016/j.cub.2014.06.053.

Mattout, Jérémie, Margaux Perrin, Olivier Bertrand, et Emmanuel Maby. 2015. « Improving BCI performance through co-adaptation: Applications to the P300-speller ». *Annals of Physical and Rehabilitation Medicine* 58 (1): 23-28. doi:10.1016/j.rehab.2014.10.006.

Micoulaud-Franchi, J. -A., E. Fakra, M. Cermolacce, et J. Vion-Dury. 2012. « Vers une nouvelle déclinaison de la neurophysiologie clinique en psychiatrie : le neurofeedback par imagerie par résonance magnétique fonctionnelle appliqué aux dysfonctions des processus émotionnels ». *Neurophysiologie Clinique/Clinical Neurophysiology* 42 (3): 79-94. doi:10.1016/j.neucli.2011.12.002.

Micoulaud-Franchi, Jean-Arthur, Pierre Alexis Geoffroy, Guillaume Fond, Rã©gis Lopez, StÃ©phanie Bioulac, et Pierre Philip. 2014. « EEG neurofeedback treatments in children with ADHD: an updated meta-analysis of randomized controlled trials ». *Frontiers in Human Neuroscience* 8 (novembre). doi:10.3389/fnhum.2014.00906.

Miranda, Robbin A., William D. Casebeer, Amy M. Hein, Jack W. Judy, Eric P. Krotkov, Tracy L. Laabs, Justin E. Manzo, et al. 2015. « DARPA-funded efforts in the development of novel brain-computer interface technologies ». *Journal of Neuroscience Methods*. Consulté le mars 25. doi:10.1016/j.jneumeth.2014.07.019.

Norton, James J. S., Dong Sup Lee, Jung Woo Lee, Woosik Lee, Ohjin Kwon, Phillip Won, Sung-Young Jung, et al. 2015. « Soft, Curved Electrode Systems Capable of Integration on the Auricle as a Persistent Brain-computer Interface ». *Proceedings of the National Academy of Sciences* 112 (13): 3920-25. doi:10.1073/pnas.1424875112.

Pedrocchi, Alessandra, Simona Ferrante, Emilia Ambrosini, Marta Gandolla, Claudia Casellato, Thomas Schauer, Christian Klauer, et al. 2013. « MUNDUS Project: MULTImodal Neuroprosthesis for Daily Upper Limb Support ». *Journal of NeuroEngineering and Rehabilitation* 10 (1): 66. doi:10.1186/1743-0003-10-66.

Roska, B., Busskamp, V., Sahel, J.A. and Picaud, S. 2013. Rétinopathie pigmentaire: la restauration visuelle par thérapie optogénétique. *Biol Aujourd'hui*, 207, 109-121.

Sanchez, Gaëtan, Jean Daunizeau, Emmanuel Maby, Olivier Bertrand, Aline Bompas, et Jérémie Mattout. 2014. « Toward a New Application of Real-Time Electrophysiology: Online Optimization of Cognitive Neurosciences Hypothesis Testing ». *Brain Sciences* 4 (1): 49-72. doi:10.3390/brainsci4010049.

Schwartz, Andrew B., X. Tracy Cui, Douglas J. Weber, et Daniel W. Moran. 2006. « Brain-Controlled Interfaces: Movement Restoration with Neural Prosthetics ». *Neuron* 52 (1): 205-20. doi:10.1016/j.neuron.2006.09.019.

Simeral, J D, S-P Kim, M J Black, J P Donoghue, et L R Hochberg. 2011. « Neural control of cursor trajectory and click by a human with tetraplegia 1000 days after implant of an intracortical

microelectrode array ». *Journal of Neural Engineering* 8 (2): 025027. doi:10.1088/1741-2560/8/2/025027.

Smith, Kara M., et Meredith A. Spindler. 2015. « Uncommon applications of deep brain stimulation in hyperkinetic movement disorders ». *Tremor and Other Hyperkinetic Movements* 5. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4314611/>.

Vorspan, Florence, Luc Mallet, Jean-Christophe Corvol, Antoine Pelissolo, et Jean-Pierre L epine. 2011. « Treating Addictions with Deep Brain Stimulation Is Premature but Well-Controlled Clinical Trials Should Be Performed ». *Addiction* 106 (8): 1535-36. doi:10.1111/j.1360-0443.2011.03450.x.

Wolpaw, J. R., D. J. McFarland, G. W. Neat, et C. A. Forneris. 1991. « An EEG-Based Brain-Computer Interface for Cursor Control ». *Electroencephalography and Clinical Neurophysiology* 78 (3): 252-59.



1, avenue du Stade de France  
93212 SAINT-DENIS LA PLAINE CEDEX  
Tél. : 01 55 93 65 50

[www.agence-biomedecine.fr](http://www.agence-biomedecine.fr)