



HAL
open science

Les traitements innovants du diabète de type 1 : focus sur la greffe des îlots de Langerhans (son historique, son optimisation et ses défis réglementaires)

Layal Baalbaki

► To cite this version:

Layal Baalbaki. Les traitements innovants du diabète de type 1: focus sur la greffe des îlots de Langerhans (son historique, son optimisation et ses défis réglementaires). Sciences pharmaceutiques. 2012. dumas-00773110

HAL Id: dumas-00773110

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-00773110>

Submitted on 11 Jan 2013

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance et mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il n'a pas été réévalué depuis la date de soutenance.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt une poursuite pénale.

Contact au SICD1 de Grenoble : thesebum@ujf-grenoble.fr

LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 335.2- L 335.10

http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg_droi.php

<http://www.culture.gouv.fr/culture/infos-pratiques/droits/protection.htm>

Université Joseph Fourier
Faculté de Pharmacie de Grenoble

Année : 2012

N°

Les traitements innovants du diabète de type 1 :
Focus sur la greffe des îlots de Langerhans
(son historique, son optimisation et ses défis réglementaires)

THÈSE PRÉSENTÉE POUR L'OBTENTION DU TITRE
DE DOCTEUR EN PHARMACIE

DIPLÔME D'ÉTAT

Loyal BAALBAKI
Née le 18/07/1988

à NABATIEH

THÈSE SOUTENUE PUBLIQUEMENT A LA FACULTÉ DE PHARMACIE DE
GRENOBLE
Le Mardi 18 décembre 2012

JURY

Pr. Pierre-Yves BENHAMOU, UFR de médecine (Président du jury)
Dr. Walid RACHIDI, UFR de Pharmacie (Directeur de thèse)
Pr. Christophe Ribuot, Doyen UFR de Pharmacie
Pr. Michel Sève, UFR de pharmacie
Mme Isabelle Mingam, Laboratoires Génévrier (Responsable Affaires Réglementaires
Ingénierie Cellulaire)

La Faculté de Pharmacie de Grenoble n'entend donner aucune approbation ni improbation aux opinions émises dans les thèses ; ces opinions sont considérées comme propres à leurs auteurs

Liste des enseignants de l'UFR de Pharmacie de Grenoble

UFR de Pharmacie de Grenoble

DOMAINE DE LA MERCI
38706 LA TRONCHE CEDEX – France
TEL : +33 (0)4 75 63 71 00
FAX : +33 (0)4 75 63 71 70



Doyen de la Faculté : **M. Christophe RIBUOT**

Vice-doyen et Directeur des Etudes : **Mme Delphine ALDEBERT**

Année 2012-2013

ENSEIGNANTS A L'UFR DE PHARMACIE

PROFESSEURS DES UNIVERSITES (n=11)

BAKRI	Aziz	Pharmacie Galénique et Industrielle, Formulation et Procédés Pharmaceutiques (TIMC-IMAG)
BOUMENDJEL	Ahcène	Chimie Organique (D.P.M.)
BURMEISTER	Wim	Biophysique (U.V.H.C.I)
DECOUT	Jean-Luc	Chimie Inorganique (D.P.M.)
DROUET	Christian	Immunologie Médicale (TIMC-IMAG)
DROUET	Emmanuel	Microbiologie (U.V.H.C.I) -
GODIN-RIBUOT	Diane	Physiologie-Pharmacologie (HP2)
LENORMAND	Jean Luc	Ingénierie Cellulaire, Biothérapies (THEREX, TIMC, IMAG)
PEYRIN	Eric	Chimie Analytique (D.P.M.)
RIBUOT	Christophe	Physiologie – Pharmacologie (HP2)
WOUESSIDJEW	Denis	Pharmacotechnie (D.P.M.)

PROFESSEURS DES UNIVERSITES-PRATICIEN HOSPITALIER (n=6)

CALOP	Jean	Pharmacie Clinique (TIMC-IMAG, PU-PH)
CORNET	Murielle	Parasitologie – Mycologie Médicale (LAPM, PU-PH)
DANEL	Vincent	Toxicologie (SMUR SAMU / PU-PH)
FAURE	Patrice	Biochimie (HP2/PU-PH)
MOSSUZ	Pascal	Hématologie (PU-PH-THEREX-TIMC)
SEVE	Michel	Biochimie – Biotechnologie (IAB, PU-PH)

PROFESSEUR EMERITE (n=1)

GRILLOT	Renée	Parasitologie – Mycologie Médicale (L.A.P.M)
----------------	-------	--

MAITRES DE CONFERENCES DES UNIVERSITES (n=31)

ALDEBERT	Delphine	Parasitologie-Mycologie (L.A.P.M)
BATANDIER	Cécile	Nutrition et Physiologie (L.B.F.A)
BELAIDI-CORSAT	Elise	Pharmacologie Physiologie –(HP2)
BOURGOIN	Sandrine	Biochimie – Biotechnologie (IAB)
BRETON	Jean	Biologie Moléculaire / Biochimie (L.C.I.B – LAN)
BRIANCON-MARJOLLET	Anne	Physiologie Pharmacologie (HP2)
BUDAYOVA SPANO	Monika	Biophysique (I.B.S)

Dernière mise à jour : 24/10/2012

Rédacteur : LANTOU FAURE ; Secrétaire doyen Pharmacie

DOMAINE DE LA MERCI – 38706 LA TRONCHE CEDEX – France - TEL : +33 (0)4 75 63 71 00 – FAX : +33 (0)4 75 63 71 70

UFR de Pharmacie de Grenoble

DOMAINE DE LA MERCI
38706 LA TRONCHE CEDEX – France
TEL : +33 (0)4 75 63 71 00
FAX : +33 (0)4 75 63 71 70



CAVAILLES	Pierre	Biologie Cellulaire et génétique (L.A.P.M)
CHOISNARD	Luc	Pharmacotechnie (D.P.M)
DELETRAZ-DELPORTE	Martine	Droit Pharmaceutique (Equipe SIS « Santé, Individu, Société »-EAM 4128)
DEMEILLIERS	Christine	Biochimie (L.B.F.A)
DURMORT-MEUNIER	Claire	Biotechnologies (I.B.S)
GEZE	Annabelle	Pharmacotechnie (D.P.M)
GILLY	Catherine	Chimie Thérapeutique (D.P.M)
GROSSET	Catherine	Chimie Analytique (D.P.M)
GUIEU	Valérie	Chimie Analytique (D.P.M)
HININGER-FAVIER	Isabelle	Biochimie (L.B.F.A)
JOYEUX-FAURE	Marie	Physiologie - Pharmacologie (HP2)
KHALEF	Nawel	Pharmacie Galénique (TIMC-IMAG)
KRIVOBOK	Serge	Biologie Végétale et Botanique (L.C.B.M)
MOUHAMADOU	Bello	Cryptogamie, Mycologie Générale (L.E.C.A)
MORAND	Jean-Marc	Chimie Thérapeutique (D.P.M)
MELO DE LIMA	Christelle	Biostatistiques (L.E.C.A)
NICOLLE	Edwige	Chimie Thérapeutique (D.P.M)
PERES	Basile	Pharmacognosie (D.P.M)
PEUCHMAUR	Marine	Chimie Organique (D.P.M.)
RACHIDI	Walid	Biochimie (L.C.I.B)
RAVEL	Anne	Chimie Analytique (D.P.M)
RAVELET	Corinne	Chimie Analytique (D.P.M)
SOUARD	Florence	Pharmacognosie (D.P.M)
TARBOURIECH	Nicolas	Biophysique (U.V.H.C.I.)
VANHAVERBEKE	Cécile	Chimie (D.P.M)
<u>MAITRE DE CONFERENCE DES UNIVERSITES-PRATICIEN HOSPITALIER (n=3)</u>		
ALLENET	Benoit	Pharmacie Clinique (THEMAS TIMC-IMAG/MCU-PH)
BUSSER	Benoit	Pharmacie (MCU-PH-IAB-INSERM)
GERMI	Raphaëlle	Microbiologie (U.V.H.C.I/MCU-PH)
<u>PROFESSEUR CERTIFIE (PRCE) (n=2)</u>		
FITE	Andrée	P.R.C.E
GOUBIER	Laurence	P.R.C.E

UFR de Pharmacie de Grenoble



DOMAINE DE LA MERCI
38706 LA TRONCHE CEDEX – France
TEL : +33 (0)4 75 63 71 00
FAX : +33 (0)4 75 63 71 70

PROFESSEURS ASSOCIES (PAST) (n=4)

BELLET	Béatrice	Pharmacie Clinique
RIEU	Isabelle	Qualitologie (Praticien Attaché – CHU)
TROUILLER	Patrice	Santé Publique (Praticien Hospitalier – CHU)
DON	Martin	Laboratoire TIMC-IMAG

PROFESSEUR AGREGE (PRAG) (n=1)

GAUCHARD	Pierre-Alexis	(D.P.M)
----------	---------------	---------

ASSISTANTS HOSPITALO-UNIVERSITAIRES (AHU) (n=2)

SUEUR	Charlotte	Virologie (U.V.H.C.I)
VAN NOOLEN	Laetitia	Biochimie Toxicologie (HP2-DBTP-BGM)

ATER (n= 6)

DAYDE David	ATER	Parasitologie Mycologie (J.R)
FAVIER Mathieu	ATER	Pharmacologie - Laboratoire HP2 (JR)
HADDAD-AMAMOU Anis	ATER	Laboratoire de Pharmacie Galénique
HENRI Marion	ATER	Physiologie – Laboratoire HP2 (JR)
LEHMANN Sylvia	ATER	Biochimie Biotechnologie (JR)
REGENT-KLOEKNER Myriam	ATER	Biochimie (LECA-UJF)

MONITEUR ET DOCTORANTS CONTRACTUELS (n=9)

CAVAREC	Fanny	(01-10-2011 au 30-09-2014)	Laboratoire HP2 (JR)
GRAS	Emmanuelle	(01-10-2010 au 30-09-2013)	Laboratoire HP2 (JR)
LESART	Anne-Cécile	(01-10-2009 au 30-09-2013)	Laboratoire (TIMC-IMAG)
MELAINE	Feriel	(01-10-2011 au 30-09-2014)	Laboratoire HP2(JR)
NASRALLAH	Chady	(01-10-2011 au 30-09-2014)	Laboratoire HP2(JR)
THOMAS	Amandine	(01-10-2011 au 30-09-2014)	Laboratoire HP2 (JR)
LECERF-SHMIDT	Florine	(01-10-2012 au 30-09-2015)	Pharmacochimie (DPM)
BERTHOIN	Lionel	(01-10-2012 au 30-09-2015)	Laboratoire (TIMC-IMAG-THEREX)
MORAND	Jessica	(01-10-2012 au 30-09-2015)	Laboratoire HP2 (JR)

CHU : Centre Hospitalier Universitaire
CIB : Centre d'Innovation en Biologie
DPM : Département de Pharmacochimie Moléculaire
HP2 : Hypoxie Physiopathologie Respiratoire et Cardiovasculaire
IAB : Institut Albert Bonniot, Centre de Recherche « Oncogenèse et Ontogenèse »
IBS : Institut de Biologie Structurale
LAPM : Laboratoire Adaptation et Pathogenèse des Microorganismes
LBFA : Laboratoire Bioénergétique Fondamentale et Appliquée
LCBM : Laboratoire Chimie et Biologie des Métaux
LCIB : Laboratoire de Chimie Inorganique et Biologie
LECA : Laboratoire d'Ecologie Alpine
LR : Laboratoire des Radio pharmaceutiques
TIMC-IMAG : Laboratoire Technique de l'Imagerie, de la Modélisation et de Cognition
UVHCI : Unit of Virus Host Cell Interactions

Dernière mise à jour : 24/10/2012

Rédacteur : LANTOU FAURE ; Secrétaire doyen Pharmacie

DOMAINE DE LA MERCI – 38706 LA TRONCHE CEDEX – France - TEL : +33 (0)4 75 63 71 00 – FAX : +33 (0)4 75 63 71 70

Remerciements

Je tiens tout d'abord à exprimer ma profonde reconnaissance à mon directeur de thèse, mon maître de stage, mon responsable de master Dr Rachidi pour son encadrement, pour les précieux conseils qu'il m'a toujours prodigués, pour sa bonne humeur, merci de m'avoir soutenue et encouragée tout au long de ma vie étudiante en France. Merci de m'avoir toujours poussée à aller de l'avant, merci d'avoir toujours eu confiance en mes capacités de réussir tous les projets qui m'étaient confiés.

Je suis également reconnaissante au Professeur Benhamou pour le grand honneur qu'il m'a accordé en acceptant de présider le jury de ma thèse.

Merci également au Pr. Ribuo, Doyen UFR de Pharmacie à Grenoble, et au Pr. Sève Professeur à l'UFR de pharmacie à Grenoble et à Madame Mingam d'avoir fait le déplacement jusqu'à Grenoble. Merci Pr. Ribuo pour les cours de P1 que vous nous avez octroyés avec humour dans une ambiance agréable.

Je tiens à témoigner ma reconnaissance toute particulière au Dr. Schweitzer et au Dr. Abou Taam pour leur aide généreuse ! Merci d'avoir relu la première version de ma thèse.

Merci à M. Christian Scheneider (président du CAT à l'EMA) et à Mme Sophie Lucas-Samuel (ANSM) pour leur aide.

Un merci spécial à ma chère maman qui a consacré la majeure partie de son temps auprès de nous (mon frère et mes sœurs) afin de nous assurer une bonne éducation.

Merci à mon père, à mon frère Soun, mes sœurs Tima et Zizou, mes beaux-frères Mohamed et Ali, merci à tante Azza et à toutes mes autres tantes... pour ce que vous avez fait, ce que vous faites. Merci de m'avoir soutenue lors des moments difficiles que j'ai traversés récemment...

A mes petites nièces Tia et bébé Alizé et mon neveu Wael, vous êtes ma joie de vivre!

A mes amis Hanan, Imene, Cyrine, Ola, Talel, Sarah, Emilie, Rayan... je vous dis grand grand merci également d'avoir toujours été auprès de moi dans les durs moments que j'ai subis et pour les bons moments qu'on a passés ensemble.

Delphine, Oriane, Lolo, Seyou,... les doctors en pharma !! Le projet marteau me manquera...

A tous les enseignants de l'université Joseph Fourier qui m'ont enrichi de connaissances, je vous suis très reconnaissante...et vous dit grand merci.

Sommaire

Liste des enseignants de l'UFR de Pharmacie de Grenoble	3
Remerciements.....	6
Liste des figures	10
Liste des tableaux.....	10
Liste des principales abréviations	12
1. Introduction.....	15
2. Le diabète.....	16
2.1. Généralités	16
2.1.1. Définitions et contexte	16
2.1.2. Epidémiologie	17
2.1.3. Différents types de diabètes	18
2.2. Complications du diabète de type 1	27
2.2.1. Les complications aiguës	27
2.2.2. Les complications chroniques	30
2.3. Traitement du diabète de type 1	35
2.3.1. Traitement palliatif : Insulinothérapie du diabète de type 1	35
2.3.2. Traitement curatif : greffe du pancréas	40
2.3.3. Traitements innovants du diabète de type 1	41
3. La greffe des îlots de Langerhans	54
3.1. Historique.....	54
3.2. Technique.....	55
3.1. Site de transplantation et prise en charge du patient greffé.....	64
3.2. Registre CITR	65
3.3. Autres registres	70
4. Optimisation de la greffe des îlots de Langerhans	72
4.1. L'encapsulation.....	73
4.1.1. Types d'encapsulation.....	74
4.1.2. Comment améliorer la survie des îlots encapsulés ?.....	77
4.1.3. Les études précliniques d'encapsulation.....	78
4.1.4. Les études cliniques	79

4.2.	Source des îlots	80
4.2.1.	Les Xénogreffes :	80
4.2.2.	La transdifférenciation	81
4.2.3.	La différenciation.....	82
4.2.4.	L'expansion des cellules β	84
5.	Cadre réglementaire des thérapies à base d'îlots de Langerhans	85
5.1.	Généralités : Les dispositions législatives et réglementaires régissant les biothérapies.....	85
5.2.	Définitions : Médicaments de thérapie innovante (MTI), les médicaments combinés de thérapie innovante, les préparations de thérapie cellulaire (PTC).	86
5.2.1.	Les MTI.....	86
5.2.2.	Les préparations de thérapie cellulaire.....	89
5.3.	Rôle du CAT dans la classification des biothérapies.....	89
5.4.	Les « produits frontières »	90
5.4.1.	MTI versus PTC :	91
5.4.2.	MTI versus MTI combinés :	92
5.4.3.	sCTMP versus TEP	93
5.4.4.	MTI versus MTI-pp.....	94
5.5.	Principales différences réglementaires entre MTI, MTI-pp et PTC.	94
5.6.	Statuts réglementaires appliqués à la greffe des îlots de Langerhans.....	96
6.	Conclusions et perspectives	97
	Références bibliographiques	100
	Annexes.....	110
	Serment de Galien.....	130

Liste des figures

Figure 1 : La prévalence mondiale du diabète en 2012.	17
Figure 2 : Incidence du diabète de type 1 en Europe entre 1989-1998.	22
Figure 3 : La Prévision en 30 ans du diabète.	25
Figure 4 : Prise en charge du diabète de type 2.	27
Figure 5 : La cétogénèse.	28
Figure 6 : Rétinopathie diabétique.	31
Figure 7 : Pied diabétique.	33
Figure 8 : Plaque d'athérome.	34
Figure 9 : Rétrécissement des vaisseaux suite à une artériosclérose.	35
Figure 10 : Structure primaire de l'insuline humaine.	36
Figure 11 : Nombre de pancréas transplantés entre 1973 et 2004.	41
Figure 12 : Modèle d'un pancréas artificiel.	48
Figure 13 : Le pancréas.	51
Figure 14 : Bloc pancréaticoduodénosplénique.	58
Figure 15 : Canulation sans forcer du canal de Wirsung.	58
Figure 16 : A : Décontamination du pancréas. B : Canulation du pancréas.	60
Figure 17 : Perfusion du pancréas par la collagénase.	60
Figure 18 : Digestion du pancréas.	62
Figure 19 : Procédure de greffe des îlots de Langerhans.	65
Figure 20 : L'insulino-indépendance après la greffe.	69
Figure 21 : Principe de l'encapsulation.	73
Figure 22 : Les 3 types d'encapsulation.	76
Figure 23 : A : îlots encapsulés B : agrégats d'îlots.	78
Figure 24 : Les sources potentielles de cellules β	80
Figure 25 : La transformation de cellules hépatiques en cellules pancréatiques.	81

Liste des tableaux

Tableau 1 : Risque de survenue de diabète de type 1.	23
Tableau 2 : Les différentes classes d'insuline.	39
Tableau 3 : Les essais cliniques d'immunothérapie.	44
Tableau 4 : Voies alternatives d'administration de l'insuline.	47
Tableau 5 : Variables influençant le rendement de la technique d'isolement des îlots.	64
Tableau 6 : Indications de la greffe et caractéristiques des receveurs.	66
Tableau 7 : Liste des immunosuppresseurs utilisés suite à la greffe des îlots de Langerhans.	67
Tableau 8 : Type d'induction utilisée suite à la greffe des îlots de Langerhans.	68
Tableau 9 : Type d'immunosuppresseur utilisé pour le maintien de la greffe.	68

Tableau 10 : Les différents matériaux utilisés pour l'encapsulation.	75
Tableau 11 : Comparaison entre la microencapsulation et la macroencapsulation.....	76
Tableau 12 : Les études précliniques d'encapsulation.....	79
Tableau 13 : Les études cliniques d'encapsulation.....	79
Tableau 14 : Cadre législatif des biothérapies.	85
Tableau 15 : MTI vs PTC	92
Tableau 16 : sCTMP vs TEP	94
Tableau 17 : Différences réglementaires entre MTI, MTI-pp et PTC	95

Liste des principales abréviations

Ac : Anticorps

ADA : American Diabetes Association

ADN : Acide désoxyribonucléique

ADO : Antidiabétiques oraux

ALFEDIAM : Association de Langue Française pour l'Etude du Diabète et des Maladies Métaboliques

ANSM : Agence Nationale de Sécurité du Médicament et des produits de santé

ARN : Acide Ribonucléique

AVC : Accident Vasculaire Cérébral

CAT : Committee for Advanced Therapy

CE : Communauté Européenne

CITR : Collaborative Islet Transplant Registry

CMH : Complexe Majeur d'Histocompatibilité

CNGOF : Collège National des Gynécologues et Obstétriciens Français

CSM : Cellules Souches Mésoenchymateuses

DM : Dispositif Médical

DT1 : Diabète de Type 1

ES : cellules Souches Embryonnaires

FDA : Food and Drug Administration

GAD : Glutamate acide décarboxylase

Gragil : Groupe de Recherche Rhin Rhône-Alpes Genève pour la transplantation d'Ilots de Langerhans

HAS : Haute Autorité de Santé

HbA1C : hémoglobine glyquée

HGPO : Hyperglycémie Provoquée Par voie Orale

HLA : Human Leucocytes Antigens

HTK : Histidine-Tryptophan-Ketoglutarate

IAG : Inhibiteurs des Alphaglucosidases intestinales

IAK : Islet After Kidney

ICA : Islet Cell Antibody

IEQ : nombre d'îlots équivalent

IGF : Insulin Growth Factor

IMC : Indice de Masse Corporelle

IP : Intra-Péritonéale

ITA : Islet Transplant Alone

IV : Intra-veineux

JDRF : Juvenile Diabetes Research Foundation

MAGE : Mean Amplitude of Glycemic excursions

MafA : v-maf musculoaponeurotic fibrosarcoma oncogene family, protein A.

MHD : Mesures Hygiéno-Diététiques

MIDD : Maternally Inherited Diabetes and Deafness

MTI : Médicament de Thérapie Innovante

MTI-pp : Médicament de Thérapie Innovante préparée ponctuellement

Ngn3 : Neurogenin 3

NIDDK : National Institute of Diabetes, Digestive and Kidney Diseases

NOD : Non Obese Diabetic

NPH : Neutral Protamine Hagedorn

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

Pax4 : Paired box 4 gene

PDX-1 : Pancreatic duodenal homeobox-1

PTC : Préparation de Thérapie Cellulaire

RD : Rétinopathie Diabétique

SC : Sous-cutanée

SCID: Severe Combined Immuno Deficiency

sCTMP : somatic Cell Therapy Medicinal Product

SIK : Islet simultaneoous with kidney

TEP : Tissue Engineered Product

UI : Unité internationale

VEGF : Vascular Endothelial Growth Factor

1. Introduction

Le nombre de patients diabétiques ne cesse de croître à travers le monde. Il existe plusieurs types de diabètes dont les plus répandus sont le diabète de type 1 et le diabète de type 2.

Le diabète de type 1 est une maladie auto-immune due à l'attaque immunitaire des cellules β du pancréas responsable de la sécrétion de l'insuline, hormone régulatrice de la glycémie.

Le diabète de type 2 se manifeste suite à un défaut sécrétoire de l'insuline associé à une résistance à l'action de l'insuline.

Cette maladie tous types confondus nécessite une prise en charge sérieuse car bien qu'elle soit facile à prendre en charge, un mépris ou une mauvaise prise du traitement peut engendrer des complications graves.

Les patients diabétiques de type 1 sont traités actuellement avec des injections quotidiennes sous-cutanées d'insuline visant à reproduire l'insulino-sécrétion physiologique.

Cependant ce schéma de traitement reste préventif d'une hyperglycémie et non curatif de la maladie. Il s'avère être un traitement lourd pour les patients, compliquant l'hygiène de vie, notamment celle des patients en bas âge et des adolescents qui sont plus vulnérables et donc plus enclins à échapper à un contrôle approprié de leur diabète.

Les recherches dans le domaine des biothérapies ont conduit à la mise en place d'un nouveau protocole de traitement qui est plus curatif que le précédent : c'est celui de la greffe des îlots de Langerhans. Il consiste à pallier un défaut de sécrétion d'insuline en greffant dans l'organisme des îlots de Langerhans qui produiront de l'insuline en réponse au taux du sucre dans le sang. Il permet ainsi d'acquérir une insulino-indépendance.

Par ailleurs, beaucoup de progrès sont encore à réaliser dans ce domaine afin d'obtenir un traitement standardisé, efficace et sûr.

Après un rappel général sur le diabète, sa définition, ses complications et ses traitements, nous présenterons l'état actuel de la technique de greffe des îlots de Langerhans. Nous ferons également un tour d'horizon de quelques réseaux mis en place afin d'appliquer cette technique dans le monde et en France.

Nous présenterons ensuite les différentes options envisagées pour optimiser la technique en se focalisant sur l'encapsulation des îlots et nous tâcherons d'entrevoir le futur de cette technique et les challenges réglementaires rencontrés.

2. Le diabète

2.1. Généralités

2.1.1. Définitions et contexte

Le diabète est un groupe de maladies métaboliques caractérisées par la présence d'une hyperglycémie chronique qui apparaît lorsque le pancréas ne produit pas suffisamment d'insuline, ou que l'organisme n'utilise pas correctement l'insuline qu'il produit, ou l'association des deux (76).

L'insuline est l'hormone régulatrice de la concentration de sucre dans le sang. L'hyperglycémie, ou concentration sanguine élevée de sucre, est un effet fréquent du diabète non contrôlé qui conduit avec le temps à des atteintes graves de nombreux systèmes organiques et plus particulièrement des nerfs et des vaisseaux sanguins.

Le diabète est donc une pathologie définie par une hyperglycémie chronique [glycémies plasmatiques à jeun (>8 heures de jeûne) supérieures à 1.26 g/l (7 mmol/l)] (81), liée à une déficience soit de la sécrétion d'insuline, soit de l'action de l'insuline, soit des deux.

Selon l'organisation mondiale de la santé, un patient est diagnostiqué diabétique dès lors qu'il présente deux glycémies à jeun supérieures à 1.26 g/l, qu'une glycémie sur plasma veineux deux heures après ingestion de 75g de glucose (test d'hyperglycémie provoquée par voie orale : HGPO) est supérieur ou égale à 2,00 g/l, ou encore qu'une mesure de l'hémoglobine glyquée est supérieure à 6,5 % (81).

Notons que l'hémoglobine est le transporteur sanguin de l'oxygène. Elle peut se fixer sur le sucre, c'est ce que l'on appelle le processus de glycation. Ainsi une

augmentation du taux sanguin de sucre entrainera une élévation de l'hémoglobine fixée au sucre, appelée alors hémoglobine glyquée. L'hémoglobine glyquée permet de juger l'équilibre de la glycémie au cours des 2 à 3 mois qui précèdent un dosage sanguin.

2.1.2. Epidémiologie

Avec 347 millions de diabétiques dans le monde (81), le diabète est considéré actuellement comme un véritable problème de santé publique. Le diabète de type 2 concerne 90% de ces malades. Même si le diabète de type 1 est en légère augmentation, c'est avant tout le diabète de type 2 qui fait peser la menace. L'augmentation alarmante des cas de diabète 2 est liée au vieillissement de la population, aux changements du mode de vie (faible activité physique, alimentation de plus en plus riche en graisses saturées avec diminution des fibres), et à l'obésité(1). Le diabète touche le monde entier mais il est plus fréquent dans les pays développés (en particulier le diabète de type 2) (Figure 1).

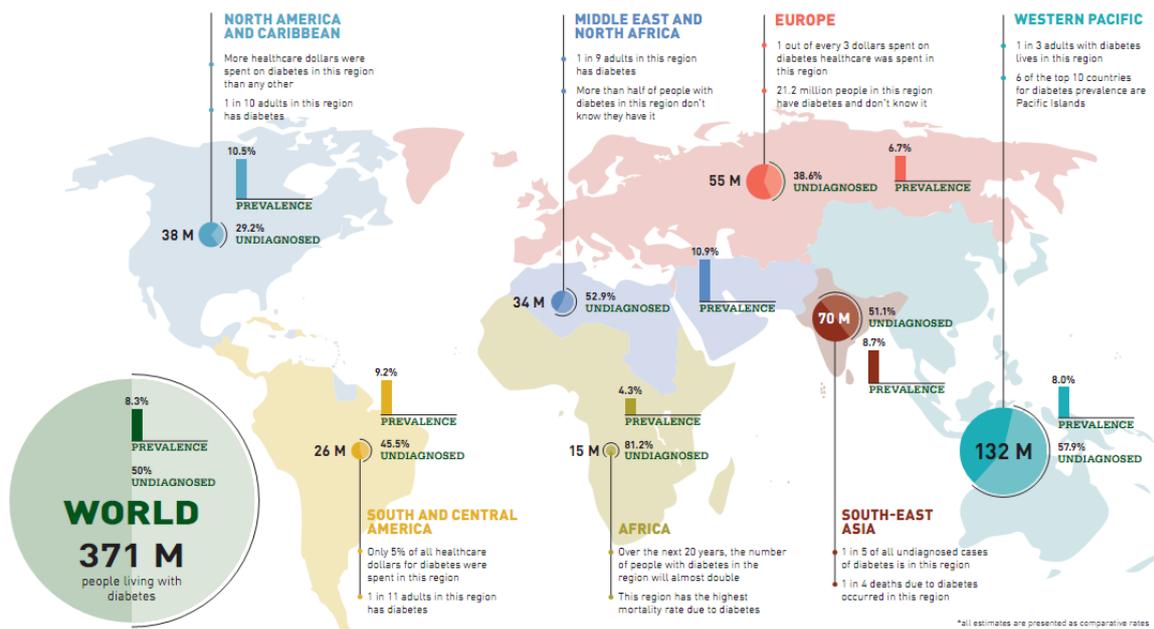


Figure 1 : La prévalence mondiale du diabète en 2012. (82)

2.1.3. Différents types de diabètes

Le terme de diabète regroupe plusieurs maladies, ayant en commun l'hyperglycémie et les complications dégénératives, mais de pathogénie d'expression et de traitements différents.

La nouvelle classification des diabètes proposée par l'organisation mondiale de la santé (OMS) en 1997 distingue **quatre types de diabète** : le diabète de type 1 (anciennement diabète insulino-dépendant), le diabète de type 2 (qui regroupe la majorité des diabètes non insulino-dépendants), les « autres diabètes spécifiques » (ou diabètes secondaires) et le diabète gestationnel (2).

Le **diabète de type 1** résulte d'une insuffisance totale en insuline liée à la destruction de la plupart des cellules sécrétrices d'insuline du pancréas (cellules endocrines β des îlots de Langerhans). Il se caractérise par un syndrome cardinal de début brutal associant polyuro-polydipsie (l'augmentation de la quantité d'eau bue par jour et l'augmentation de la quantité d'urines émise par jour), polyphagie (sensation excessive et insatiable de faim), amaigrissement et asthénie. Il apparaît le plus souvent chez l'enfant et l'adolescent mais de plus en plus de cas sont diagnostiqués à l'âge adulte (76).

Le **diabète de type 2** est un trouble de l'assimilation, de l'utilisation et du stockage des sucres apportés par l'alimentation. Ce diabète se caractérise par une hyperglycémie dont la symptomatologie est souvent moins bruyante que dans le diabète de type 1 (3). C'est la conséquence d'une anomalie sécrétoire de l'insuline par les cellules endocrines associée à une résistance à l'action de l'insuline. A l'opposé du diabète de type 1, il se caractérise par la découverte fortuite d'une hyperglycémie chez un adulte ayant le plus souvent un surpoids. Le diabète de type 2 est souvent associé à une hypertension artérielle essentielle et/ou à une hypertriglycémie. Bien qu'il soit également appelé "diabète de la maturité", le diabète de type 2 est de plus en plus fréquent chez les enfants et les jeunes adultes à cause du mode de vie actuel (manque d'exercice, nourriture trop riche) (76).

Par ailleurs, le groupe de **diabètes secondaires** est composé de plusieurs sous-groupes, à savoir :

-Les diabètes secondaires à une endocrinopathie : La majorité des endocrinopathies s'accompagnent d'anomalies de la tolérance glucidique. Parmi ces endocrinopathies, on peut citer : l'acromégalie, le syndrome de Cushing, le phéochromocytome, l'hyperthyroïdie, l'hyperaldostérénisme et l'hyperparathyroïdie. Cette intolérance glucidique peut rarement évoluer vers un diabète qui disparaît quand la maladie endocrinienne est traitée (76).

-Le diabète médicamenteux : Il peut survenir après un traitement médicamenteux tel que les corticoïdes, les immunosuppresseurs ou les anti-protéases.

En ce qui concerne les corticoïdes, ils peuvent conduire soit à une hyperglycémie aiguë succédant à l'injection intraveineuse ou intra-articulaire de corticoïdes, soit à la survenue d'un diabète à long terme au cours d'une corticothérapie chronique. Les glucocorticoïdes ont en effet une action sur toutes les composantes du métabolisme glucidique. Ils peuvent moduler les réponses hépatiques et extra-hépatiques à l'insuline. Cet effet peut être direct (action sur la transcription d'enzymes du métabolisme, inhibition des signaux intracellulaires) mais aussi indirect, contrôlé par exemple par les acides gras libres, les acides aminés, ou l'adiponectine. Le mécanisme essentiel en est une hyperproduction hépatique de glucose puis la survenue d'une insulino-résistance liée à une prise de poids de caractère androïde (76).

Son traitement ressemble à celui du diabète de type 2, mais il existe souvent des contre-indications aux anti-diabétiques oraux liées à la présence de maladies ayant motivé la corticothérapie. Les mesures diététiques et l'activité physique ont une part très importante dans le traitement. Le recours à l'insulinothérapie est privilégié. L'adjonction d'insuline lente est beaucoup plus rare car la glycémie au réveil dans cette forme de diabète est souvent normale. On observe surtout des hyperglycémies postprandiales majeures (76).

- Le diabète hémochromatosique : L'hémochromatose génétique est une maladie génétique conduisant à l'hyperabsorption du fer responsable d'une surcharge tissulaire en fer qui peut entraîner des complications : cirrhose, cardiomyopathie, diabète et

arthropathie. L'étiologie de cette maladie est une mutation du gène HFE, la mutation la plus fréquente étant la mutation Cystéine 282 Tyrosine. 50 % des patients ayant des signes cliniques sont diabétiques (4). Ce diabète est essentiellement lié à l'existence d'une cirrhose. En l'absence de cirrhose, il est plus rare (20 %).

Le traitement du diabète hémochromatosique est similaire à celui d'un diabète de type 2 : diététique, activité physique, et traitements hypoglycémisants au stade d'insulino-résistance puis insulinothérapie (76).

-Le diabète secondaire à une pancréatite chronique calcifiante : Son diagnostic est spécifique : sujet de plus de 40 ans, dénutri, avec des antécédents d'alcoolisme chronique et des antécédents connus de poussée de pancréatite.

-Le diabète secondaire à un cancer du pancréas : Ses symptômes seront essentiellement une altération majeure de l'état général, des douleurs abdominales, un ictère, et un syndrome inflammatoire biologique.

-Le diabète dit de type 3, ou de type 1B ou « africain » : Les patients d'origine africaine peuvent présenter un véritable diabète de type 1 ou de type 2 typique. Mais à côté de ces diabètes, il existe une forme différente appelée diabète de type 3 ou de type 1B. Elle se manifeste plus fréquemment chez l'homme, autour de la quarantaine. Le diabète de type 1b, se caractérise par un début brutal compatible avec le diagnostic de diabète de type 1 et une évolution ultérieure comportant une rémission prolongée compatible avec le diabète de type 2 (76).

-Les diabètes par anomalies du génome mitochondrial : Différentes anomalies du génome mitochondrial, mutations et délétions, sont responsables de syndromes comportant un diabète sucré.

Le MIDD (*Maternally inherited diabetes and deafness*) (Mutation 3243A>G) est la forme mitochondriale la plus fréquente (76).

Le quatrième type de diabète est le **diabète gestationnel**. Il s'agit d'un trouble de la tolérance au glucose de sévérité variable, diagnostiqué pendant la grossesse, quelle qu'en soit l'ancienneté et l'évolution dans le postpartum. Cette définition communément admise regroupe, sous un même nom, des situations différentes : le diabète de type 2 (souvent révélé en cours du premier ou en début du deuxième

trimestre de la grossesse), avec persistance d'une intolérance au glucose après l'accouchement, et le véritable diabète gestationnel, révélé entre 24 et 28 semaines d'aménorrhée et suivi d'un retour à une glycorégulation normale dans le post-partum immédiat.

Dans certains cas, la grossesse révèle un authentique diabète de type 1. Il n'existe pas de consensus en terme de seuil de diagnostic. Les recommandations de bonnes pratiques de l'ALFEDIAM (Association de Langue Française pour l'Etude du Diabète et des Maladies Métaboliques) et du Collège national des gynécologues et obstétriciens français (CNGOF) (83) (84), préconisent d'effectuer un test de dépistage simplifié (test d'O'Sullivan) en dosant la glycémie veineuse une heure après absorption de 50 g de glucose, quelle que soit l'heure du dernier repas ou le moment de la journée.

Si lors du test de O'Sullivan la glycémie est :

- ≥ 2 g/l (11 mmol/l), le diagnostic est posé.

- $\geq 1,30$ g/l (7,2 mmol/l), un test diagnostique est réalisé le lendemain ou dans les jours qui suivent, en demandant à la femme de ne pas modifier son alimentation spontanée.

2.1.3.1. Le diabète de type 1

Prévalence du diabète de type 1

Selon l'OMS, le nombre de patients diabétiques de type 1 est estimé entre 15 et 22 millions de patients dans le monde. On ne trouve pas de différence significative sur la prévalence du diabète de type 1 entre les 2 sexes.

Des registres mondiaux (DIAMOND) et européens (EURODIAB) ont été mis en place afin d'étudier l'incidence du diabète en Europe et dans le monde (5). Il résulte de ces registres que la prévalence du diabète de type 1 (DT1) varie d'un pays à un autre. En Europe, l'incidence du DT1 présente des disparités géographiques importantes avec un gradient décroissant Nord-Sud :

Elle varie de 3,6/100000 en Macédoine à 43,9/100000 par an en Finlande. Globalement, les taux d'incidence élevés ont été retrouvés dans le Nord et le Nord-Ouest de l'Europe tandis que les taux plus bas ont été retrouvés en Europe centrale, de l'Est et du Sud. Cependant, la Sardaigne reste une exception avec un taux plus élevé que dans les pays voisins (Figure 2).

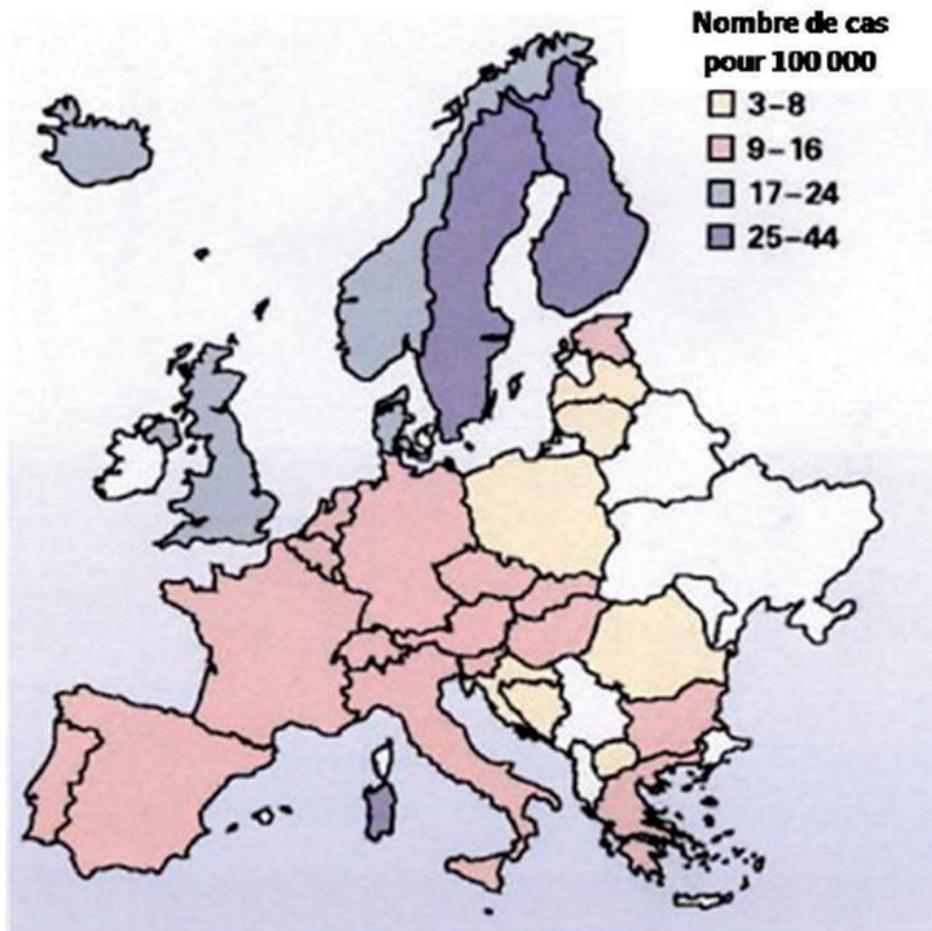


Figure 2 : Incidence du diabète de type 1 en Europe entre 1989-1998 (5).

La France se situe dans le groupe des pays les plus protégés avec une incidence annuelle chez les moins de 15 ans de 10,4 pour 100000 très proche des taux observés dans les pays du pourtour méditerranéen.

L'incidence du diabète de type 1 était restée stable entre 1988 et 1997 chez les sujets entre 15 et 19 ans, alors qu'une nette augmentation était observée chez les sujets de moins de 15 ans. Ceci laisse penser que l'augmentation de l'incidence est simplement due à un glissement de l'âge de début du diabète de type 1 qui atteindrait plus précocement les sujets prédisposés sans que le nombre total de personnes affectées n'ait réellement augmenté (6).

Dans le monde, la tendance globale de l'augmentation de l'incidence du diabète de type 1 est de plus de 3,2% par an [intervalle de confiance à 95 % (7) (DIAMOND project)].

Ethiopathologie du diabète de type 1

Le diabète de type 1 est dû à une destruction auto-immune des cellules β des îlots pancréatiques.

La réaction auto-immune survient sur un terrain de susceptibilité génétique à la suite des facteurs déclenchants et peut être dépistée avant l'apparition de l'hyperglycémie par des dosages sanguins d'auto-anticorps.

Terrain génétique de susceptibilité (97) :

Il s'agit d'une susceptibilité plurigénique avec environ 20 gènes en cause : le principal se situe sur le chromosome 6 au niveau des gènes du système HLA de classe II avec un risque relatif de 3 à 5, lorsqu'il existe un antigène HLA DR3 ou DR4. Le risque relatif atteint 20 à 40 lorsque les deux antigènes DR3 et DR4 sont associés, ce qui veut dire que l'association DR3-DR4 est fréquente dans la population diabétique alors qu'elle est exceptionnelle dans la population non-diabétique. Le second repère se situe dans la région du gène de l'insuline. Les autres régions demeurent inconnues.

Risque de survenue d'un diabète de type 1	
Population générale	0.2 %
Personnes DR3 DR4 (1 % de la population générale)	7 %
Enfant de mère DT1	2-3 %
Enfant de père DT1	4-5 %
Frère ou sœur d'un DT1	5 %
Frère ou sœur d'un DT1, HLA différent	< 1 %
Frère ou sœur d'un DT1, HLA identique	15 %
Frère ou sœur d'un DT1, HLA semi-identique	7 %
Jumeau homozygote d'un DT1	30-40 %

Tableau 1 : Risque de survenue de diabète de type 1 en fonction des prédispositions génétiques (97).

Facteurs déclenchants (97) :

Des facteurs environnementaux tels que les infections virales sont probablement à l'origine du déclenchement du processus auto-immunitaire. Ils pourraient expliquer « le gradient nord-sud » du diabète de type 1 : en effet, un enfant finlandais a 7 à 8 fois plus de risques de développer un diabète de type 1 qu'un enfant français. Ceci est en faveur de l'existence de facteurs environnementaux, bien que les facteurs génétiques puissent également agir en parallèle avec ce gradient.

Le rôle des virus dans la pathogénie du diabète de type 1 est suspecté mais non démontré. En faveur de cette hypothèse, la haute prévalence du diabète de type 1 (environ 20 %) en cas de rubéole congénitale, ou la présence du virus coxsackie B4 isolé dans le pancréas d'enfants décédés lors d'une acido-cétose inaugurale. Certains virus pourraient présenter un antigène commun avec des protéines de cellule B (virus Coxsackie ou Cytomégalovirus).

L'infection virale pourrait être responsable de la sécrétion de cytokines, en particulier d'interféron γ , favorisant par différents mécanismes le développement de la réaction auto-immune au niveau pancréatique.

Déroulement de la réaction auto-immune :

La destruction de la cellule β est essentiellement due à une infiltration des îlots par des lymphocytes T helper CD4 et des lymphocytes T cytotoxiques CD8 (76). La maladie peut se manifester quelques mois après le début de la destruction des îlots comme elle peut apparaître des années plus tard (8). Au cours de cette réaction sont produits 4 types d'auto-anticorps dirigés contre certains antigènes pancréatiques. Ces auto-anticorps sont des marqueurs fiables du déroulement du processus auto-immun pathologique (9).

Ces anticorps sont:

- Les anticorps anti-îlots (islet cell antibody: ICA)
- Les anticorps anti-GAD (glutamate acide décarboxylase). Ces anticorps sont dirigés contre une enzyme ubiquitaire mais qui est exprimée uniquement au

niveau pancréatique. Leur présence traduit l'existence d'un processus auto-immun dirigé contre les cellules β du pancréas.

- Les auto-anticorps anti-insuline, retrouvés surtout chez l'enfant
- L'anticorps anti-IA2 : c'est un anticorps dirigé contre une phosphatase membranaire des cellules β .

Le traitement du diabète de type 1

Le traitement actuel repose sur l'insulinothérapie qui vise à reproduire le schéma physiologique de la sécrétion d'insuline. Le traitement est détaillé dans la partie C de la thèse : Traitement du diabète de type 1.

2.1.3.2. Le diabète de type 2

Prévalence du diabète de type 2

Les pays comprenant le plus grand nombre de diabétiques sont aujourd'hui, dans l'ordre : l'Inde, la Chine et les Etats-Unis. D'après les prévisions de l'OMS, la prévalence du diabète restera plus élevée dans les pays développés mais l'accroissement du nombre des diabétiques proviendra surtout des pays en développement (Figure 3).

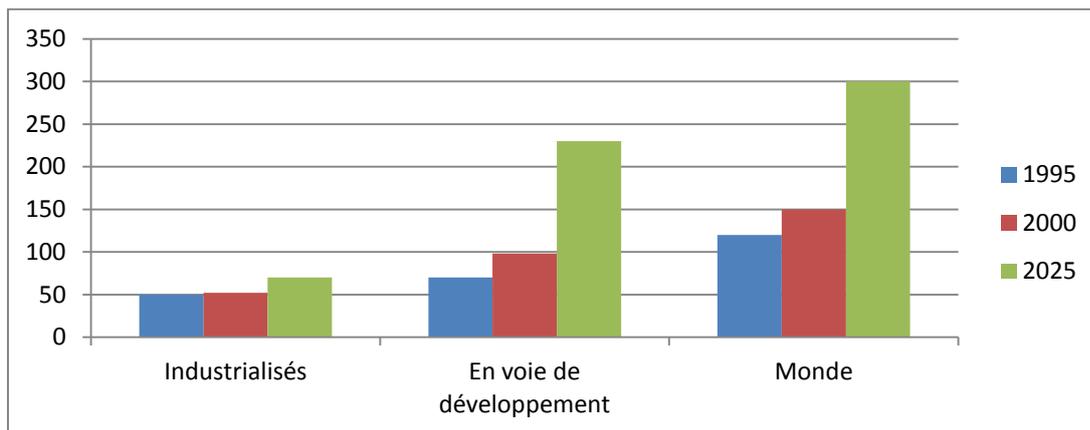


Figure 3 : La Prévision en millions d'habitants en 30 ans du diabète chez l'adulte (>20 ans) (10).

Etiopathologie du diabète de type 2

Le diabète de type 2 résulte des effets combinés de plusieurs gènes de susceptibilité dont l'expression dépend de facteurs environnementaux, aux premiers rangs desquels, la consommation excessive de graisses saturées et de sucres rapides, et la sédentarité. La prédisposition héréditaire est importante dans le diabète de type 2 : lorsque l'un des parents est diabétique, le risque pour les enfants est de 30% mais lorsque les deux parents sont diabétiques, le risque est d'environ 50%. Pire encore, le risque est voisin de 100% chez les jumeaux homozygotes (76).

Le déficit en insuline responsable de l'hyperglycémie du diabète de type 2 est précédé par 10 ou 20 ans d'hypersécrétion insulinaire (hyperinsulinisme) suite à une insulino-résistance des tissus périphériques. L'anomalie métabolique fondamentale qui précède le diabète de type 2 est ainsi l'insulino-résistance. L'insulino-résistance se définit comme un état de diminution de la réponse cellulaire et tissulaire à l'insuline ou une diminution de la sensibilité à l'insuline (11).

La séquence d'événements conduisant au diabète de type 2 est en général: une insulino-résistance suivie d'une défaillance progressive des cellules β du pancréas puis d'une toxicité glucidique.

Traitement du diabète de type 2

Selon les recommandations de la Haute Autorité de Santé HAS, les patients diabétiques de type 2 sont d'abord traités par des mesures hygiéno-diététiques (MHD), qui doivent être appliquées à la lettre. Le recours aux antidiabétiques oraux (ADO) [quatre classes thérapeutiques : metformine, inhibiteurs des alphaglucosidases intestinales (IAG), insulinosécréteurs, glitazone] a lieu lorsque les MHD ne suffisent plus à contrôler la glycémie : HbA1c > 6 %. L'arbre décisionnel suivant résume les étapes de la prise en charge du diabète de type 2 :

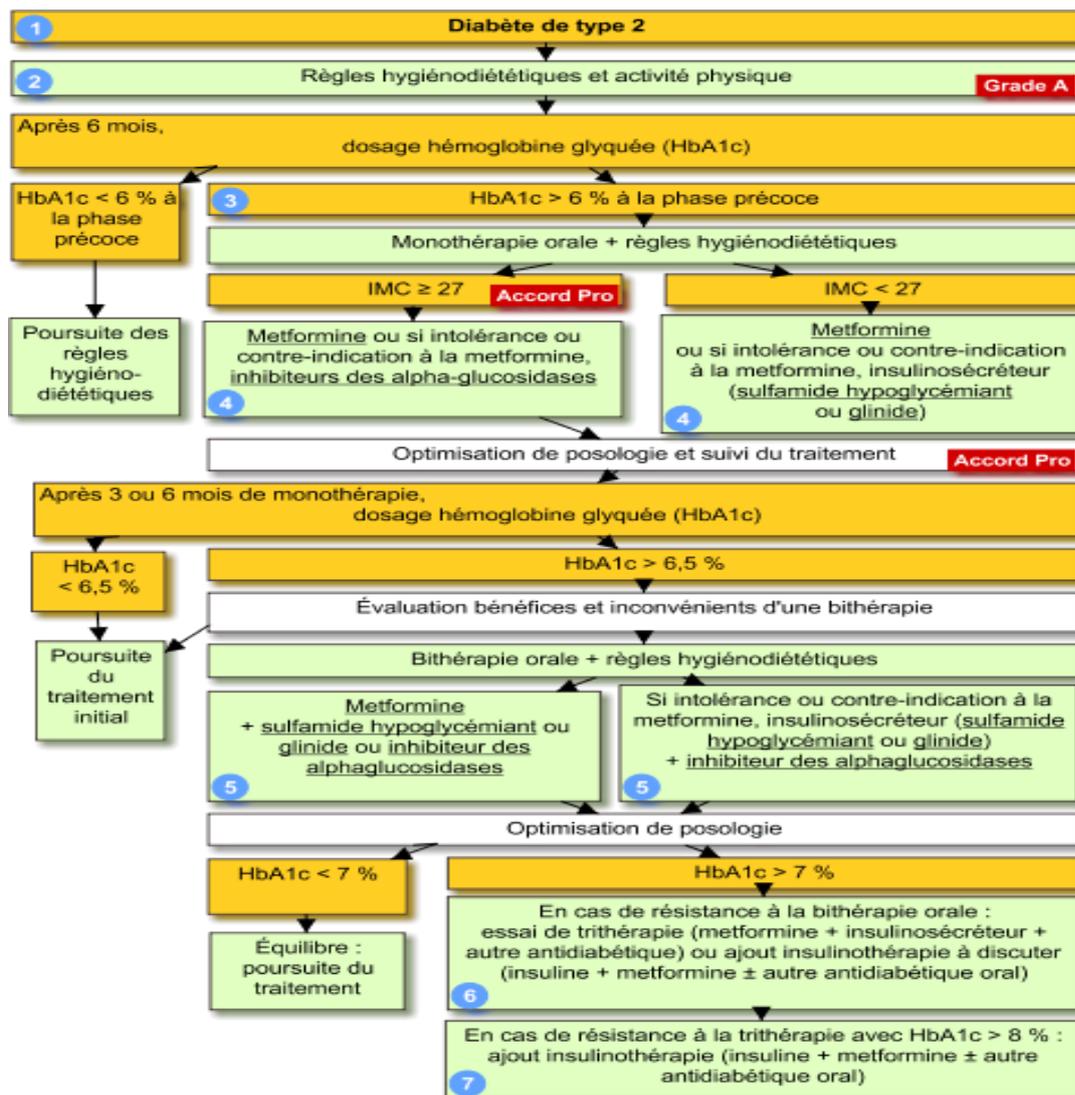


Figure 4 : Prise en charge du diabète de type 2 (77).

2.2. Complications du diabète de type 1

Les complications du diabète de type 1 se subdivisent en deux groupes : les complications aiguës qui sont d'une urgence vitale, et les complications chroniques qui s'installent progressivement.

2.2.1. Les complications aiguës

Les deux complications aiguës majeures du diabète de type 1 sont le coma hypoglycémique et l'acidocétose. Le coma hyperosmolaire est plus rare dans le cas du diabète de type 1.

L'acidocétose diabétique

L'acidocétose est un désordre métabolique qui traduit une carence relative ou absolue d'insuline empêchant la pénétration cellulaire du glucose.

Les circonstances de survenue de cette carence peuvent être un diabète méconnu dans 30 % des cas, ou la survenue d'un problème technique avec le dispositif insulinaire de traitement chez un patient diabétique traité, ou un diabète connu mais plus ou moins traité chez un patient dans le déni de sa maladie (76).

La carence insulinaire favorise la mise en place d'un état catabolique avec activation de la glycogénolyse et de la néoglucogenèse, ce qui contribue à augmenter la glycémie. Cette hyperglycémie est responsable de la glycosurie qui favorise une diurèse osmotique puis une déshydratation.

Pour compenser la carence insulinaire, le corps a recours aux acides gras (lipolyse des triglycérides en acides gras libres dans le tissu adipeux) comme source d'énergie. Captés par le foie, ces acides gras libres sont transformés en corps cétoniques qui abaissent le pH sanguin, d'où l'apparition d'une acidose aggravée par la déshydratation (76) (Figure 5).

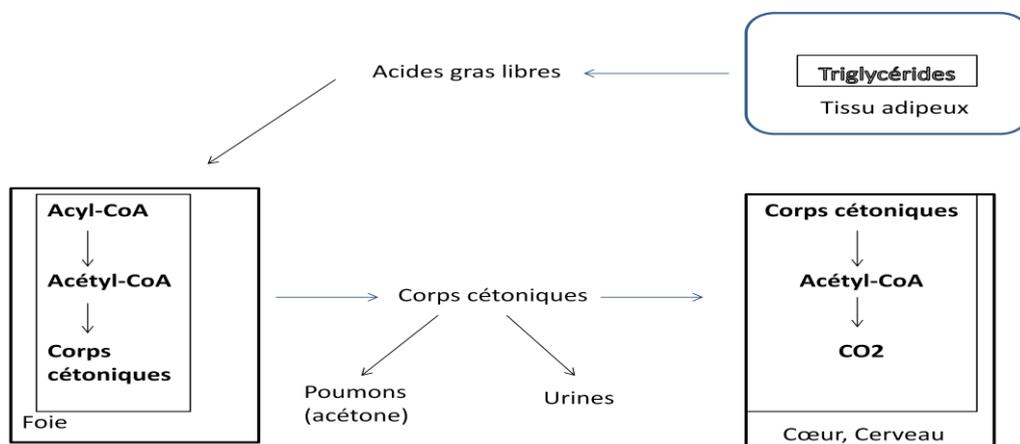


Figure 5 : La cétogenèse

L'acidocétose apparaît généralement en quelques jours précédée d'une phase de cétose simple qui associe les symptômes d'une hyperglycémie, comme le syndrome polyuro-polydipsique, des troubles digestifs et une haleine à l'odeur caractéristique d'acétone.

Pendant la phase d'acidocétose, les signes de cétose se majorent. Le patient entre dans un coma calme, de profondeur variable, avec aréflexie tendineuse associé à une déshydratation globale et des signes respiratoires de type polypnée rapide.

Le traitement en urgence repose sur la restauration de la volémie, la correction de la carence insulinique par une insulinothérapie ainsi qu'une correction de l'hyperglycémie, de l'acidocétose et des désordres hydroélectrolytiques (76).

Le coma hypoglycémique

Le coma hypoglycémique survient en cas d'inadéquation entre les doses d'insuline et les besoins (un effort physique sans réduction des doses d'insuline ou une réduction des apports alimentaires) ou en cas de surdosage accidentel ou volontaire d'insuline. C'est un coma brutal, agité qui mime parfois une crise d'épilepsie. Le seuil de perception de l'hypoglycémie est variable et dépend de facteurs métaboliques (équilibre moyen du diabète, instabilité glycémique) et des complications associées (neuropathie autonome). Pour y remédier, il faut administrer soit du glucose par voie intraveineuse, soit du glucagon (hormone ayant les propriétés contraires de l'insuline) (76).

Le coma hyperosmolaire

Ce type de coma est rare chez les diabétiques de type 1. Seuls 5% des comas hyperosmolaires surviennent chez un diabétique de type 1. Ce dernier se caractérise par une déshydratation massive. Il se définit par une **osmolarité supérieure à 350 mmol/l** due à une hyperglycémie majeure (supérieure à 33 mmol/l et souvent 44 mmol) et à une **hyponatrémie**. La cétose absente ou discrète est corrélée à l'absence d'élévation importante des acides gras libres. Cette inhibition de la lipolyse s'expliquerait par la persistance au début du processus d'une insulinémie périphérique insuffisante pour permettre la pénétration intra-cellulaire du glucose, mais suffisante pour inhiber la lipolyse. Le traitement repose sur une réhydratation massive et rapide. Ce type de coma a lieu principalement chez les sujets âgés (76).

2.2.2. Les complications chroniques

Les complications chroniques font suite à une hyperglycémie de longue date (de 5 à 15 ans) (76). Elles se divisent en 2 groupes : les microangiopathies et les macroangiopathies.

Il s'agit de la traduction clinique de la souffrance vasculaire qui a lieu au cours du diabète. Cette souffrance concerne l'intégralité des vaisseaux de l'organisme, quels que soient leur taille et les tissus qu'ils irriguent. La microangiopathie touche la microcirculation tandis que la macroangiopathie touche les gros vaisseaux allant de l'aorte jusqu'aux petites artères distales de diamètre supérieur à 200 µm.

La micro-angiopathie diabétique

L'hyperglycémie chronique se caractérise par l'apparition retardée de lésions caractéristiques dont les conséquences se manifestent au niveau de la rétine, des glomérules rénaux et des nerfs périphériques. La prévalence de ces lésions est fonction du temps et de la qualité du contrôle métabolique exprimée en valeur moyenne du pourcentage d'hémoglobine glyquée (12). Une accélération de l'épaississement des membranes basales des microvaisseaux constitue les lésions les plus précoces que l'on observe chez les diabétiques (76). Une diminution de la dégradation des membranes basales est observée à cause d'une diminution de certains métalloprotéases de la matrice, une augmentation de l'expression de l'inhibiteur tissulaire des métalloprotéases et une modification biochimique des protéines de la matrice extracellulaire diminuant leur digestibilité, par glycation non enzymatique(13).

La rétinopathie

La rétinopathie diabétique RD est une cause majeure de malvoyance et de cécité en France, et la première cause de cécité avant l'âge de 50 ans (76).

La prévalence actuelle de la rétinopathie est de 40% après 10 ans de diabète (14).

La lésion initiale de la RD est l'épaississement de la membrane basale des capillaires rétiniens suivi d'une diminution des péricytes (cellules de soutien des capillaires rétiniens) et d'une diminution de nombre de cellules endothéliales, ce qui engendre une dilatation capillaire, la formation de micro-anévrysmes et une occlusion des

capillaires rétiens (Figure 6). L'occlusion étendue des capillaires rétiens, puis des artérioles rétiennes aboutit à une ischémie rétienne (76).

L'hypertension artérielle est un facteur aggravant majeur de la rétinopathie diabétique. L'examen ophtalmologique annuel systématique est recommandé chez tout sujet diabétique car la rétinopathie reste longtemps asymptomatique, alors que les lésions précoces spécifiques peuvent être détectées par un fond d'œil et une angiographie (20). Le traitement par photocoagulation au laser reste le traitement principal de la RD. L'équilibration glycémique et tensionnelle diminue l'incidence de la RD (76).

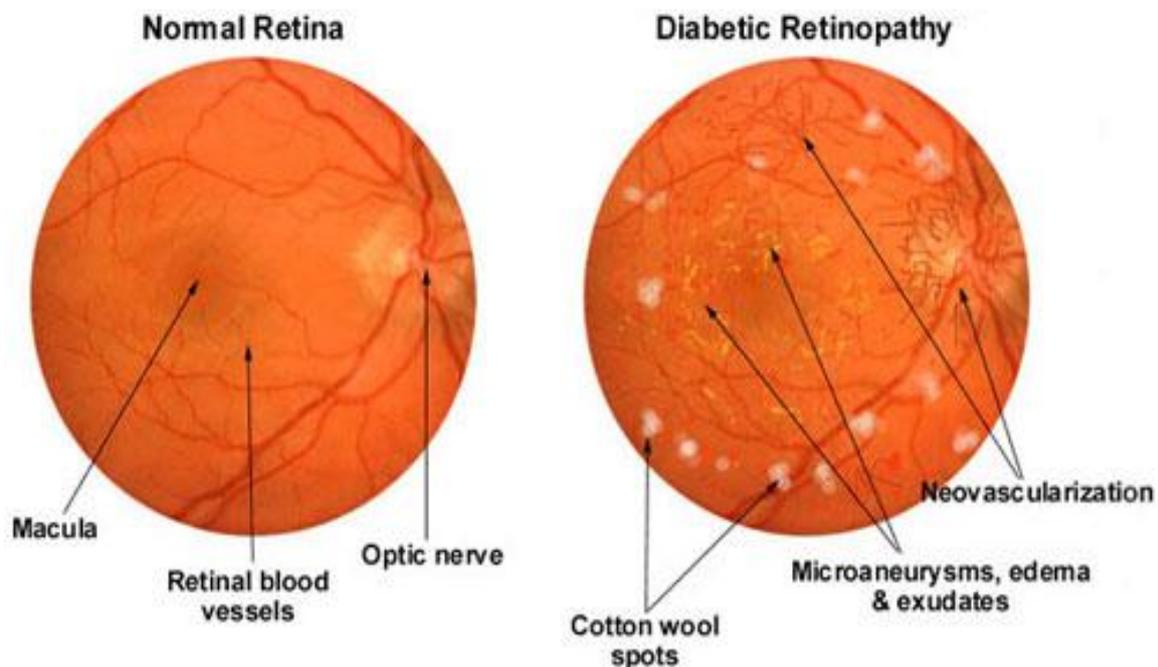


Figure 6 : Rétinopathie diabétique : Comparaison d'une rétine normale avec une rétine de patient diabétique souffrant d'une rétinopathie (85).

Néphropathie diabétique :

La néphropathie diabétique est une pathologie du glomérule secondaire au diabète. Environ 30% des diabétiques de type 1 présentent une néphropathie : on observe un pic d'incidence entre les 10 et 25^e années. Au-delà de la 30^e année le risque de survenue chute (76).

L'activation d'un certain nombre de voies métaboliques par l'hyperglycémie chronique entraîne une vasodilatation à prédominance préglomérulaire. Il en résulte des contraintes mécaniques qui conduisent à des modifications structurelles et

fonctionnelles se traduisant par l'altération de la perméabilité du filtre glomérulaire. Cliniquement une micro-albuminurie est observée.

La capacité de réabsorption d'albumine par le tubule est saturée et contribue à la sclérose tubulo-interstitielle à des stades avancés de néphropathie diabétique (76).

Pour modérer la vitesse de la perte de la fonction rénale, un traitement antihypertenseur semble être efficace (77).

A des stades avancés, le seul recours est la dialyse.

Les neuropathies

Le diabète est actuellement la première cause de neuropathie dans le monde. La prévalence des neuropathies augmente avec la durée du diabète. Des signes de neuropathie sont observés chez 8% des patients au moment du diagnostic du diabète et chez 50% des réexaminés 25 ans après (15).

Les neuropathies diabétiques recouvrent une multitude de tableaux cliniques et de symptômes variés en fonction du type de fibres nerveuses touchées.

On distingue :

- **La neuropathie périphérique ou la polyneuropathie diabétique sensitivomotrice « longueur-dépendante »** qui est la plus fréquente des neuropathies (80% des neuropathies) et le plus souvent asymptomatique. Elle est généralement sensitive (le plus souvent localisée à l'extrémité des membres inférieurs et parfois aux mains), avec atteinte des petites fibres caractérisée le plus souvent par une perte de la sensibilité thermique et douloureuse, mais il existe également de rares formes où prédomine l'atteinte motrice.
- **La neuropathie autonome ou la dysautonomie diabétique**, qui est l'atteinte du système nerveux autonome. Elle a des répercussions multiples notamment sur le système cardiovasculaire (l'hypotension orthostatique est fréquente), digestif et urogénital.
- **Les neuropathies diabétiques focales ou multifocales**, qui peuvent toucher les nerfs crâniens et oculomoteurs, les membres inférieurs ou les nerfs du tronc.

Le maintien d'un bon équilibre glycémique réduit le risque de survenue des neuropathies.

Le pied diabétique

Il s'agit d'une complication grave et fréquente du diabète puisqu'elle est une des premières causes d'hospitalisation prolongée. Les lésions du pied représentent un problème socio-économique important (Figure 7). Cette complication résulte de 3 facteurs : la diminution de la vascularisation, la présence de lésions neurologiques à l'origine d'une diminution de la sensibilité, et la déminéralisation des os du pied (76). La surveillance de l'apparition des lésions est la mesure préventive la plus efficace.



Figure 7 : Pied diabétique (86).

Les dysfonctions sexuelles chez l'homme diabétique

Chez l'homme diabétique, les principales manifestations cliniques des troubles sexuels sont en premier lieu la dysfonction érectile. Environ 66% des diabétiques souffrent de problèmes sexuels : troubles de l'érection (60%), de l'éjaculation (24%) et de la libido (24%). La physiopathologie de la dysfonction érectile est multifactorielle ; elle comprend une dysfonction endothéliale, une neuropathie autonome ainsi que des troubles psychologiques (76).

La macro-angiopathie (76) :

La macro-angiopathie est à l'origine des complications les plus graves du diabète et constitue la première cause de mortalité des patients diabétiques. La macro-angiopathie qui est l'atteinte des grosses artères, regroupe l'ensemble des complications artérielles des territoires coronaires, cérébraux et périphériques. Deux types d'atteintes peuvent survenir sur ces réseaux artériels : l'athérome d'une part, et la sclérose artérielle non athéromateuse d'autre part.

- L'athérome, d'installation lentement progressive, est caractérisé par l'accumulation de lipides et d'éléments fibreux dans les artères de gros et de moyen calibre. Cette évolution peut aboutir à des manifestations ischémiques chroniques entrecoupées d'épisodes aigus athéro-thrombotiques (Figure 8).



Figure 8 : Plaque d'athérome (87)

- L'artériosclérose est une sclérose de l'ensemble de la paroi artérielle (non limitée à l'intima), pure (sans athérome), non focale et diffuse (touchant tous les calibres artériels) (Figure 9).

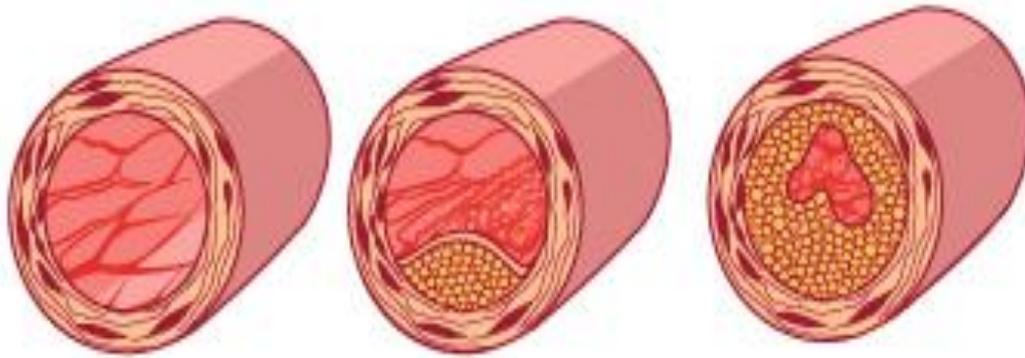


Figure 9 : Rétrécissement des vaisseaux suite à une artériosclérose (88).

Classiquement, les complications de macro-angiopathie sont divisées en fonction du territoire artériel atteint : coronaires, troncs supra-aortiques ou membres inférieurs.

- Artères coronaires : L'incidence de la coronopathie dépend de la durée de l'évolution du diabète. Cependant, les hommes diabétiques de type 1 ont un risque 3,6 fois plus élevé de développer des maladies cardiovasculaires que les non diabétiques. Les femmes ont un risque 7.7 fois plus élevé (16).
- Troncs artériels supra-aortiques: Les AVC ischémiques représentent la première cause de morbi-mortalité chez le sujet diabétique de plus de 40 ans. Le risque est multiplié par 4 chez la femme (17).
- Artériopathie oblitérante des membres inférieurs : l'artériopathie des membres inférieurs, parfois précoce, peut être silencieuse cliniquement ou se manifester par une claudication intermittente, voire une gangrène pouvant nécessiter une amputation dans certains cas extrêmes.

2.3. Traitement du diabète de type 1

2.3.1. Traitement palliatif : Insulinothérapie du diabète de type 1

Le diabète de type 1 est considérée comme une maladie endocrinienne responsable d'une carence en insuline. Ce déficit, s'il n'est pas compensé, provoque en quelques heures une hyperglycémie et cétose avec leur cortège symptomatique : polyurie, soif, asthénie, nausées, voire douleurs abdominales et vomissements, puis acidocétose

susceptible d'engager le pronostic vital. Au delà de cet impératif vital, le traitement est indispensable pour la prévention des complications au long cours du diabète.

La grande révolution dans le traitement des diabétiques fut la découverte de l'insuline par Fred Banting et Charles Best en 1922 ; depuis la prise en charge du diabète a été révolutionnée.

Structure, biosynthèse et sécrétion de l'insuline

La molécule d'insuline est un polypeptide de poids moléculaire d'environ 6kDa. C'est un hétérodimère constitué de deux chaînes polypeptidiques, la chaîne A et la chaîne B, reliées entre elles par deux ponts disulfures. La chaîne A comporte 21 acides aminés et la chaîne B comporte 30 acides aminés. Un pont disulfure intracaténaire relie les acides aminés 6 et 11 de la chaîne A (Figure 10) (76).

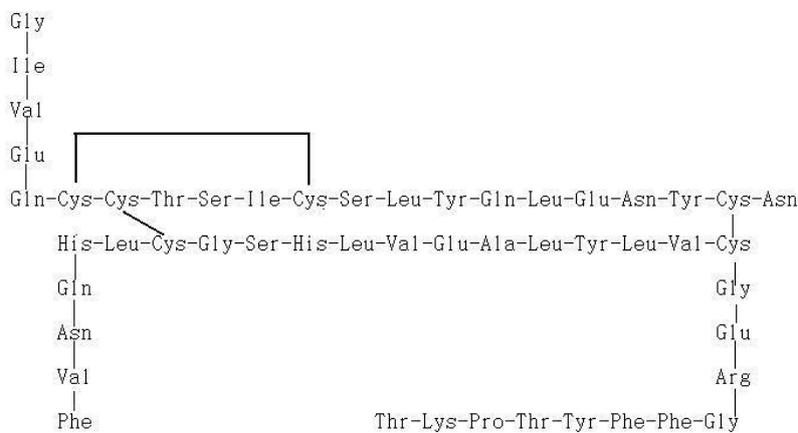


Figure 10 : Structure primaire de l'insuline humaine

Le gène de l'insuline humaine est situé sur le bras court du chromosome 11 (18). Ce gène est exprimé au niveau de la cellule β du pancréas endocrine. La transcription du gène et le processus d'épissage aboutit à un ARN messager de 600 nucléotides qui est traduit en une protéine de 11,5 kDa, la prépro-insuline. La prépro-insuline en cours d'élongation est rapidement déversée dans le réticulum endoplasmique où les enzymes protéolytiques clivent la séquence finale, formant ainsi la pro-insuline qui est un

peptide de 9kDa contenant les chaînes A et B de l'insuline connectées entre elles par le peptide C. Cette étape dure entre 10 et 20 minutes. Après son passage au réticulum endoplasmique, la pro-insuline est transportée dans des microvésicules intermédiaires vers le cis-Golgi. C'est dans cet organite que s'amorce la conversion de la pro-insuline en insuline. Ensuite la conversion complète a lieu dans les vésicules issues du trans-Golgi revêtues de clathrine pendant 30 à 120 minutes. Simultanément, la pro-insuline est clivée en insuline et peptide C et les vésicules perdent leur revêtement de clathrine. La demi-vie de ces vésicules est de quelques heures à quelques jours. Une cellule β contient en moyenne 10 000 vésicules de sécrétion. Dans les conditions normales, le produit de sécrétion contient 95 à 97% d'insuline et de peptide C en quantité équimolaire et de 3 à 5% de pro-insuline et intermédiaires d'activation ayant échappé au clivage enzymatique. L'exocytose de ces vésicules est régulée par le glucose qui est le stimulant le plus puissant de la sécrétion d'insuline.

Chez l'homme, la sécrétion basale d'insuline (40 $\mu\text{g}/\text{heure}$) est principalement stimulée par le glucose. Après un repas glucidique, l'insuline est déversée dans la circulation, suivant le taux du glucose sanguin. L'insuline étant élaborée dans la glande d'une manière continue, la première phase de libération d'insuline correspond à l'insuline déjà présente dans les granules de sécrétion suivie par la libération d'insuline néo-synthétisée. Quand la glycémie redevient normale (3,9 à 5,3 mmol/l ou 0,7 à 0,9 g/l), l'insulinémie diminue. Il existe donc une auto régulation de la sécrétion d'insuline (79).

L'insulinothérapie

Les moyens actuels de traitement du diabète de type 1 consistent en des injections régulières d'insuline, à la pratique d'une activité physique fréquente et à une alimentation restreinte en glucose. Il a été démontré qu'une meilleure forme physique permet un contrôle plus adéquat de la glycémie et du cholestérol chez les adolescents diabétiques (19). Un équilibre glycémique, un régime strict et une thérapie appropriée avec de l'insuline diminue l'occurrence et la progression des complications liées à la maladie.

2 types d'insulines peuvent être utilisés au cours de l'insulinothérapie :

- les insulines humaines: comparables à l'hormone humaine native
- les analogues de l'insuline: molécules de structure différente de l'insuline humaine leur conférant des propriétés pharmacocinétiques particulières (ultra-rapides ou ultra-lentes). Ils ont supplanté l'utilisation des insulines humaines dans le traitement du diabète de type 1.

Ces 2 types d'insuline entraînent un risque de survenue d'hypoglycémie. Ils sont fabriqués par génie génétiques, à partir de levures ou de bactéries.

Toutes les insulines utilisables par voie sous-cutanée ou intraveineuse sont concentrées à 100 UI/ml (excepté l'insuline pour les pompes). Trois présentations pharmaceutiques d'insuline sont disponibles : flacons pour seringues (10 ml), cartouches pour stylos (3 ml), stylos injecteurs pré-remplis (3 ml). Ces insulines peuvent être classés en différentes classes selon leur durée d'action. Le tableau suivant résume les classes d'insuline (77):

Les différentes classes d'insuline	<i>Insuline de courte durée d'action</i>		<i>Insuline de durée d'action intermédiaire</i>	<i>Insuline de durée d'action prolongée</i>
Sous classes	Insuline rapide	Analogue d'insuline rapide	insulines isophanes ou NPH	Analogue d'insuline
Nom de marque	Actrapid®, Umuline Rapide®, Insuman Rapide®	Humalog® [insuline lispro], Novorapid® [insuline asparte], Apidra® [insuline glulisine]	Insulatard®, Umuline® NPH, Insuman Basal®	Levemir® [insuline detemir] et Lantus® [insuline glargine]
Profil d'action	Début: 35-60 min Effet max: 2-4H fin: 5-8H	Début: 15-35 min Effet maximal: 1-3H Fin: 3-5H	Début: 2-4H Effet max: 4-12H Fin: 12-24H	Début: 2-4H Effet max: 3 -14H Fin: 24H

Les différentes classes d'insuline	Insuline de courte durée d'action		Insuline de durée d'action intermédiaire	Insuline de durée d'action prolongée
	Insuline rapide	Analogue d'insuline rapide		
Voie d'administration et Forme pharmaceutique	SC, IV, IP Seringue, stylo, pompe externe, pompe implantable seringue électrique	SC Seringue, stylo, pompe externe	SC Seringue, stylo	SC Seringue, stylo
Délai et durée d'action	Délai long	Bref	Durée d'action trop brève	Durée d'action longue
Pic d'activité	Faible	Puissant	Puissant	Moyen
Temps d'injection	15-30 minutes avant le repas	injection juste avant le repas	2 à 3 injections par jour	2 injections par jour
Risque d'hypoglycémie	Elevé	Moyen	Elevé (durant la nuit)	Moyen

Tableau 2 : Les différentes classes d'insuline (77).

Les mélanges d'insuline : « les premix » :

Des mélanges préétablis d'insuline rapide et intermédiaire en proportion fixes existent aussi (la proportion de rapide figure dans le nom commercial de chaque insuline 10-90,15-85,20-80,25-75,30-70,40-60). Leur manque de souplesse rend ces insulines moins adaptées au traitement du diabète de type 1 que de type 2.

-mélanges d'insulines ordinaire et NPH (Mixtard 30®, Profil 30®, Insuman Com ®15, 25 ou 50)

- insulines en suspension
- profil d'action: début: 30min / effet maximal: 1 -12°H / fin: 16-18H
- voie d'administration: SC
- mode d'administration: seringue, stylo
- utilisation par voie sous-cutanée : 1 à 3 injections par jour

-mélanges d'analogue rapide et de « NPH »² (Novomix® 30, 50 ou 70, Humalog Mix® 25 ou 50)

- insulines en suspension
- profil d'action: début: 15min / effet maximal: 30min -12°H / fin: 16- 18H
- voie d'administration: SC
- mode d'administration: seringue, stylo
- utilisation par voie sous-cutanée : 1 à 3 injections par jour.

Les injections pluriquotidiennes d'insuline demandent une très bonne observance de la part des patients, et compromettent fortement leur qualité de vie. L'insulinothérapie, qui représente également une charge financière importante pour la société, n'est donc pas le traitement idéal pour les diabétiques de type 1.

2.3.2. Traitement curatif : greffe du pancréas

Bien que les techniques d'insulinothérapie se soient considérablement améliorées durant les vingt-cinq dernières années, les résultats obtenus sont loin encore d'être idéaux et la normoglycémie à vie n'est atteinte que chez un très faible nombre d'individus. Une alternative thérapeutique se développe depuis les années 70, consistant à remplacer le pancréas défaillant par un pancréas d'un donneur décédé. D'après les données du registre de transplantation pancréatique, plus de 23 000 pancréas ont été transplantés fin 2004 dont 17000 aux Etats-Unis (Figure 11). Grâce au développement des techniques de transplantation, et de la mise en place de nouveaux immunosuppresseurs, le taux de survie pour une greffe simultanée rein-pancréas a évolué de 75% à 1 an pour la période 1988/1989 à 85% pour la période 2003/2004, de 55% à 78% pour une greffe de pancréas suivie d'une greffe de rein, et de 45% à 77% pour une greffe de pancréas seul (20). Le taux de patients insulino-indépendants pendant au moins un an après la greffe est de 82% (21).

Malgré l'évolution de cette technique, plusieurs limites persistent dont le nombre limité de donneur, la nécessité d'un traitement immunosuppresseur à vie et la chirurgie lourde que demande cette greffe.

Pour toutes ces raisons, la transplantation pancréatique est réservée à l'heure actuelle aux patients qui vont avoir recours à une chirurgie et à une immunosuppression pour la transplantation d'un autre organe, à savoir le rein (consensus de l'ADA : American Diabetes Association). Ce n'est que, dans des cas exceptionnels, lorsque tous les autres traitements ont échoué et que les hypoglycémies deviennent invalidantes que la transplantation de pancréas isolé est proposée.

De nombreux chercheurs ont émis l'hypothèse qu'il serait plus intéressant de greffer uniquement la partie endocrine du pancréas, responsable de la synthèse d'insuline, qui ne représente que 1 à 2% du volume total du pancréas. Une alternative beaucoup moins invasive que le traitement chirurgical a donc été développée : la greffe d'îlots de Langerhans.

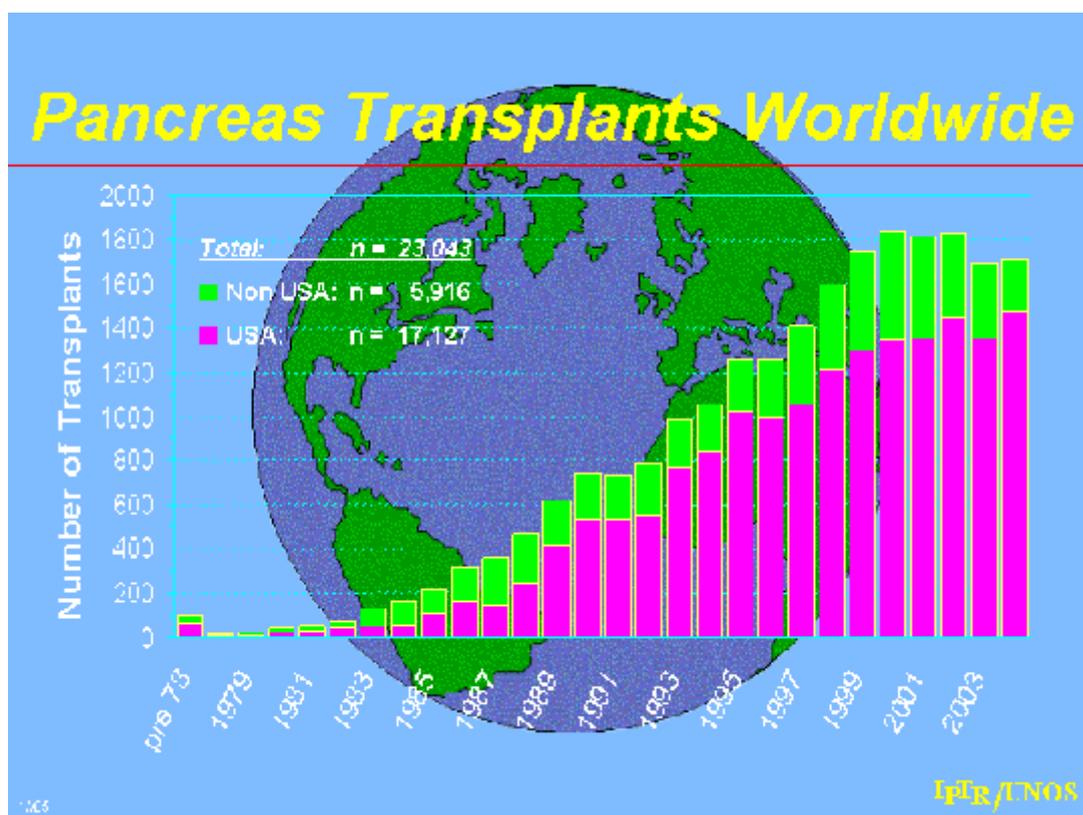


Figure 11 : Nombre de pancréas transplantés entre 1973 et 2004 (93).

2.3.3. Traitements innovants du diabète de type 1

Les perspectives thérapeutiques du diabète de type 1 peuvent être très différentes selon la position temporelle dans l'évolution de la maladie qu'on vise. En amont de la manifestation clinique de la maladie, il est possible d'envisager l'éradication de la maladie par des mesures préventives (l'immunothérapie par exemple). Lors de la manifestation de la maladie, il convient de remplacer les cellules β déficientes (greffe des îlots de Langerhans). À défaut de réaliser cet objectif, il est envisageable de faire en sorte de garder une normoglycémie à vie par le biais du développement de l'insulinothérapie.

a. L'immunothérapie

Une stratégie optimale serait de « vacciner » le sujet lors de la découverte du diabète, ou mieux avant son apparition, de façon à inactiver les lymphocytes spécifiques des cellules β . La détection des auto-anticorps chez des sujets encore normoglycémiques est un test prédictif avant l'apparition du diabète.

Principe de la méthode :

Le diabète de type 1 résulte de la perte sélective des cellules β pancréatiques par un processus auto-immune suite à l'infiltration lymphomonocytaire des îlots réalisant le tableau histologique de l'insulite (22). Cette attaque des cellules β se met en place progressivement. Il existe une phase asymptomatique qui précède les premiers signes cliniques de diabète. Il est donc envisageable d'agir pendant cette phase de « pré-diabète » pour stopper le développement de la maladie : c'est la base de l'immunothérapie.

De nombreuses stratégies ont été développées chez l'animal, notamment dans le modèle de la souris NOD (Non Obese Diabetic) chez qui apparaît un diabète de façon spontanée après plusieurs mois. Les différentes approches thérapeutiques élaborées agissent sur (76):

-La modification des seuils d'activation immunologique (76):

Le blocage des voies de stimulation

Les antagonistes des cytokines inflammatoires

Les cytokines protectrices

L'inhibition des voies de signalisation

-La modulation des cellules antigènes spécifiques (76) :

L'induction de cellules régulatrices après administration d'antigènes

La modification de la liaison peptidique

Les complexes peptides-CMH

La vaccination anti-récepteur T

Le changement d'immunité Th1 en Th2

La modification de la migration des cellules effectrices

-Reconstitution du système immunologique (76) :

Cellules souches autologues

Cellules souches allogéniques

-Protection du pancréas endocrine (76) :

Inhibition de la NO-synthase

Facteurs de croissance

Certaines de ces approches ont été transposées chez l'homme ; des études cliniques ont été mises en place dans le but de démontrer l'efficacité de cette méthode chez l'homme.

Essais cliniques en cours

Grâce à une meilleure connaissance de la physiopathologie de la maladie, des sujets à haut risque de développer un diabète de type 1 peuvent être sélectionnés grâce à des marqueurs immunogénétiques dans le but de les « vacciner » contre le diabète.

De nombreux essais cliniques ont été expérimentés dans le monde sur ces sujets .Les molécules testées, ainsi que les sujets concernés, sont regroupés dans le tableau suivant :

Nom	Produit	Type de patients	Références sur clinicaltrials.gov
DPT-1 sc	Insuline	Apparentés 1 ^{er} degré	NCT00004984
DPT-1 oral	Insuline	Apparentés 1 ^{er} degré	NCT00004984
ENDIT	Nicotinamide	Apparentés 1 ^{er} degré	(31)(23)
Oral insulin	Insuline orale	Nouveaux diabétiques	NCT00419562
TrialNet	Insuline orale	Nouveaux diabétiques	NCT00419562
INIT II	Insuline nasale	Apparentés 1 ^{er} degré	NCT00336674
Diapep277	Peptide Hsp60	Nouveaux diabétiques	NCT00615264
TRIGRR	Lait de vache	Nouveau-nés à risque	NCT00179777
Anti-CD 3	Ac.monoclonal	Apparentés 1 ^{er} degré	NCT01030861
Interferon alpha	Interferon alpha	Nouveaux diabétiques	NCT00024518

Tableau 3 : Les essais cliniques d'immunothérapie.

Limites de la méthode

Malgré la grande réussite des essais sur les modèles expérimentaux, les résultats des premières études cliniques chez l'homme ont été décevants. Plusieurs problématiques se posent :

- Les effets secondaires des médicaments utilisés pour l'immunothérapie comme les immunosuppresseurs ont une toxicité rénale qui augmente le risque des infections dépassant les bénéfices apportés par le traitement.

- La difficulté du transfert des données expérimentales à l'homme : choix de la dose d'antigène, cytokines, anticorps qui permettent de changer le profil sécrétoire des lymphocytes T et qui n'induit pas des effets secondaires néfastes.

Grâce à l'avancée dans la diabétologie, il est maintenant possible d'identifier avec une bonne certitude les sujets à très haut risque de développer un diabète de type 1, notamment chez les apparentés du 1^{er} degré de diabétiques de type 1 à travers des marqueurs immunogénétiques. Une problématique à résoudre avec la mise en place d'une immunothérapie efficace pour les sujets à risque, serait la définition des patients à risque (apparentés de diabétiques, vs dépistage génétique préalable dans la population générale).

b. L'insulinothérapie

Les recherches portent sur les dispositifs d'injection et les voies d'administration de l'insuline, la mise au point de nouvelles insulines aux profils variables adaptées aux diverses nécessités de la journée et sur l'éducation thérapeutique du patient.

Voies alternatives d'administration de l'insuline :

Pour remédier au lourd fardeau des injections douloureuses d'insuline, des voies indolores d'administration sont testées depuis quelques années. Le tableau comporte quelques voies :

Voie d'administration	Méthode ou Société développant le produit	Essais cliniques	Résultats
Voie orale	Nobex en collaboration avec GSK	HIM 2	Efficacité comparable à l'insuline sous-cutanée (glycémies post-prandiales)
Voie Buccale	Generex biotechnology	Oral-Lyn® NCT00668850	Efficacité comparable à celle de l'insuline sous-cutanée sur les glycémies post-prandiales

Voie d'administration	Méthode ou Société développant le produit	Essais cliniques	Résultats
Voie transdermique	Incorporation de molécules d'insuline dans des transferomes	Transfusulin®	Obtention d'une normoglycémie pendant 16 heures (24)
Voie nasale	/	/	Une augmentation rapide mais brève de l'insulinémie (25)
Voie pulmonaire	Nektar Therapeutics, Pfizer et Aventis	Exubera®	Hémoglobine glyquée identique Exubera vs insuline sous-cutanée (26)
Voie pulmonaire	Aerogen Inc./Nektar Therapeutics	Aerodose®	Pic d'insuline atteint plus rapidement que celui obtenue avec l'insuline sous-cutanée (27)
Voie pulmonaire	Mannkind Corporation	Technosphere® Insulin	Le pic d'insuline est atteint rapidement 12-14 min après l'administration (28)
Voie pulmonaire	Dina Pharmacy Inc/Elan Corporation	Spiro System®	Le pic d'insuline est atteint après 70minute (29)
Voie pulmonaire	Alkermes et Lilly	AIR®	Essais interrompus

Voie d'administration	Méthode ou Société développant le produit	Essais cliniques	Résultats
Voie pulmonaire	Aradigm Corporation et Novo Nordisk	AER*iDMS [®]	Essais interrompus
Voie oculaire	/	Gelfoam [®]	Essais sur animaux positives
Voie vaginale et rectale (voie abandonnée)	/	/	Problèmes de variabilités entre les patients

Tableau 4 : Voies alternatives d'administration de l'insuline.

À l'heure actuelle, l'alternative la plus prometteuse aux injections d'insuline sous-cutanée est l'inhalation par voie pulmonaire. Elle s'est avérée aussi efficace que les traitements conventionnels à l'aide d'injections d'insuline sous-cutanées. L'insuline inhalée semble être bien tolérée et améliore la qualité de vie des patients, ce qui pourrait conduire à une meilleure maîtrise du diabète et la prévention des complications du diabète à long terme. Cependant, les comparaisons avec les schémas insuliniques intensifiés montre une infériorité en ce qui concerne l'hémoglobine glyquée (HbA1c), ainsi que des études à long terme sur le coût, l'efficacité et l'innocuité pulmonaire.

Dispositifs d'injection et capteur de glycémie : vers un pancréas artificiel

Les efforts sont multipliés afin d'arriver à l'accomplissement d'un pancréas artificiel grâce à une approche électromécanique (Figure 12). Pour atteindre ce but, il faudra :

- 1-un système d'administration continue d'insuline sûr et fiable : pompe à insuline
- 2-un détecteur de glucose précis sur une longue durée.
- 3-un dispositif de contrôle qui règle la délivrance d'insuline selon le niveau glycémique et ses variations.

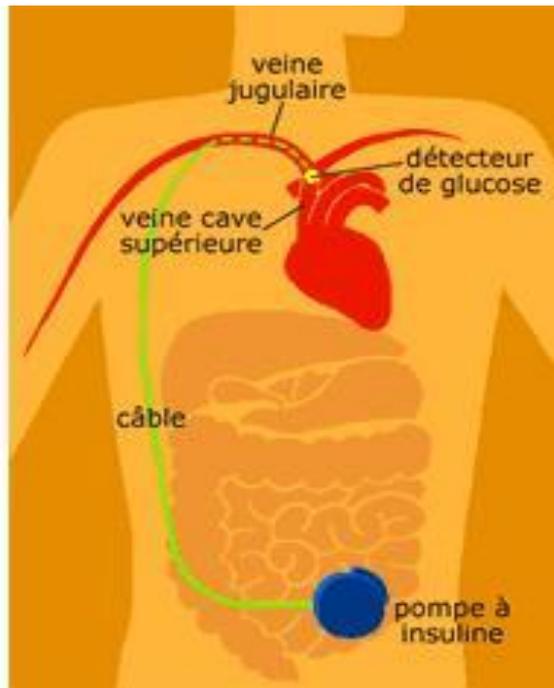


Figure 12 : Modèle d'un pancréas artificiel : un détecteur de glucose flotte dans la veine cave supérieure, juste au-dessous du cœur. Il est relié à la pompe par un câble invisible et impalpable (89).

1-Pompe implantable à insuline

La pompe à insuline permet de minimiser la variabilité du taux d'insuline observée lors des injections multiples d'insuline en permettant une insulínisation plus précise et modulable.

Les pompes externes qui utilisent la voie sous-cutanée ont montré une efficacité quant au niveau d'hémoglobine glyquée qui reste proche de 7% et assurent donc une prévention des complications chroniques du diabète ; l'inconvénient de ces pompes est l'incidence accrue des risques d'hypoglycémie (30).

Pour éviter ces problèmes, la voie intraveineuse (IV) et la voie intra-péritonéale (IP) ont été testées en utilisant des pompes à insuline implantables. L'avantage de la voie IP est que l'insuline est résorbée en majorité par la veine porte, environ 50 % de l'insuline est dégradée ; une insulínémie périphérique plus basse qu'avec la voie sous-cutanée est atteinte. Le rapport insuline périphérique/insuline portale est plus proche du rapport physiologique (31).

Parallèlement à ces efforts faits pour choisir le meilleur site de transplantation de ces pompes implantables, une optimisation des matériaux choisis pour leur fabrication est aussi en cours.

Les incidents rencontrés lors d'un traitement par pompe implantable sont essentiellement de deux ordres : des complications au site d'implantation (« poche de pompe ») et des problèmes de sous-délivrance d'insuline (32).

2-un détecteur de glucose précis sur une longue durée.

Le détecteur recherché pour faire partie du pancréas artificiel doit être capable de fournir une information sur la glycémie en continu ou en intervalles courts de façon exacte. Il doit répondre également à des contraintes de stabilité à long terme.

Plusieurs types de détecteurs peu invasifs ou implantables ont été développés.

Parmi les détecteurs peu invasifs, ils existent des détecteurs enzymatiques qui permettent la mesure du glucose du liquide interstitiel sous-cutané dont GlucoWatch® (33), CGMS® (34), CGMS Gold ® qui est couplé par télémétrie à une pompe portable qui affiche le taux de glucose, et FreeStyle Navigator. Ces derniers ont conduit à des problèmes de fiabilité et une biocompatibilité insuffisante. Pour remédier à ces problèmes, Updike® a entouré le détecteur par une membrane protectrice, ce qui a accru la biocompatibilité.

Parallèlement des détecteurs implantables intraveineux ont été élaborés par MiniMed-Medtronic (35); ils sont utilisables dans la cellule β artificielle car ils peuvent être reliés par un câble sous-cutané à une pompe implantable. La limite de ce système est due à l'érosion du capteur par les forces de cisaillement.

En 2012 à Bordeaux, un biocapteur a été mis en place. Il est composé de cellules β pancréatiques qui réagissent aux variations des taux de glucose, d'hormones et de nutriments par le changement de son activité électrique. Cette activité est mesurée via des microélectrodes qui calculent en retour les besoins de l'organisme en insuline (90).

3-un dispositif de contrôle qui règle la délivrance d'insuline selon le niveau glycémique et ses variations.

Ce dispositif doit répondre aux exigences suivantes :

-La délivrance de l'insuline doit être non seulement selon la glycémie immédiate mais aussi selon son taux de variation durant l'intervalle de temps qui précède afin de pouvoir anticiper les besoins en insuline.

-L'ajustement de la dose de perfusion d'insuline doit être personnalisé. Il faut donc une modulation individuelle des équations qui gouvernent les algorithmes d'adaptation du débit d'insuline. D'où l'intérêt des équipes pluridisciplinaires pour le suivi des patients.

Quatre essais dans le monde ont porté sur « des pancréas artificiels » dont 3 semi-artificiels car il a fallu un calcul préalable du bolus d'insuline selon l'heure et le contenu des repas. Le contrôle de la glycémie en boucle fermée à l'aide d'un capteur externe et d'une pompe à insuline a permis d'atteindre des concentrations de glucose proches de la normale chez les jeunes diabétiques de type 1 au cours de la nuit. L'addition de petites doses de bolus d'amorçage manuel d'insuline, 15 minutes avant les repas, améliore les excursions glycémiques postprandiales (élévation de la glycémie après les repas) (36).

Les problèmes à résoudre pour une utilisation courante de ces « pancréas » sont : les délais de disponibilité d'insuline qui sont dus au retard de la production du signal indiquant le taux de sucre par le détecteur de glucose et les algorithmes individualisés nécessaires pour reproduire la sécrétion physiologique du glucose. Des problèmes d'ordre sécuritaire peuvent également faire obstacle.

Limites de l'insulinothérapie:

La tolérance (biocompatibilité) et la durée de vie (fiabilité) des matériels implantés (pompe ou capteur), la conception d'algorithmes efficaces pour la régulation des débits

insuliniques et le coût élevé de ces matériels freinent la mise sur le marché de ce type de pancréas artificiel.

Il faut aussi prendre en compte un éventuel défaut de fonctionnement de la pompe implantable, qui nécessiterait une explantation de la pompe, responsable d'un surcoût.

c. La thérapie cellulaire : Greffe des îlots de Langerhans

Anatomo-histologie fonctionnelle du pancréas

Le pancréas est une glande située dans la cavité péritonéale, sous l'estomac. Il est composé de trois parties : tête, corps et queue. Cette glande est caractérisée par la coexistence de deux populations cellulaires : les cellules endocrines qui synthétisent et sécrètent les principales hormones régulatrices de l'homéostasie énergétique (l'insuline et le glucagon) et les cellules exocrines qui produisent les enzymes nécessaires à la digestion (Figure 13). Chez l'Homme, le pancréas avoisine les 15 cm de long et pèse entre 70 et 100 g.

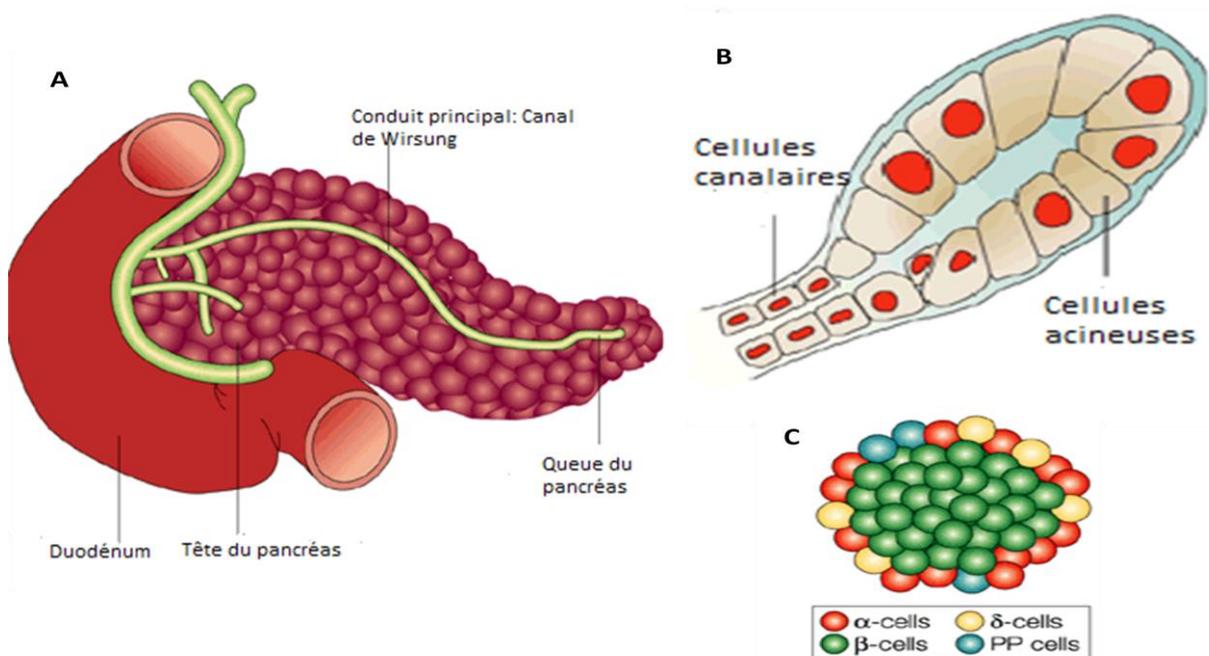


Figure 13 : A : Le pancréas. B : Le pancréas exocrine. C : Le pancréas endocrine (37).

Le pancréas exocrine:

A l'état adulte, la partie exocrine représente environ 98% du pancréas total. Le pancréas exocrine est organisé en structures lobulaires appelées acini et en structures ramifiées constituant les canaux pancréatiques. Les cellules acineuses représentent 95% de la population cellulaire exocrine. Elles sont organisées en acini et sont situées à l'extrémité terminale du système canalaire. Elles synthétisent et sécrètent les protéines représentées en grande partie par les enzymes digestives (lipase, amylase, trypsine...). Les canaux ou conduits pancréatiques sont constitués de cellules canalaire et centroacineuses qui sécrètent l'eau et les électrolytes. L'ensemble eau, électrolytes et enzymes digestives constitue le suc pancréatique, sécrété quotidiennement par le pancréas via les canaux excréteurs à raison de 20 ml/kg environ (79).

Le pancréas endocrine:

Les cellules endocrines sont regroupées en amas compacts et sphériques appelés les îlots de Langerhans (du nom de Paul Langerhans qui décrit en 1869 ces structures pancréatiques). Ils sont localisés dans tout le pancréas mais ils sont plus abondants dans la queue que dans la tête et le corps. Ils représentent 1 à 2 % de la masse totale de l'organe et sont au nombre d'environ 1 million chez l'homme.

Chaque îlot contient environ 1000 à 2000 cellules productrices d'hormones. Les quatre types cellulaires principaux composant un îlot sont (79):

- Les cellules α ou A qui constituent 15 à 20% de la population des cellules des îlots et sécrètent le glucagon.
- Les cellules β ou B qui représentent 60 à 80% de la population cellulaire des îlots et sont responsables de la synthèse d'insuline. La plupart des cellules β sont localisées à l'intérieur des îlots.

- Les cellules δ ou D qui comptent pour 5 à 15% des cellules des îlots, et sont généralement localisées à la périphérie de l'îlot ou parmi les cellules β . Elles sont à l'origine de la sécrétion de somatostatine.
- Les cellules PP qui synthétisent le polypeptide pancréatique, et sont localisées à la périphérie des îlots et représentent moins de 2% des cellules des îlots.

Principe de la méthode de greffe des îlots de Langerhans :

Devant les multiples complications liées à la transplantation pancréatique (38): complications cliniques, infections bactériennes ou virales, abcès, thrombose, qui causent un taux de mortalité postopératoire de 7%, des chercheurs ont proposé la transplantation exclusive de la partie pancréatique qui sécrète l'insuline : les îlots de Langerhans. Cette méthode consiste à isoler des îlots d'un donneur décédé et les greffer purifiés au niveau du foie de patients diabétiques de type 1.

L'objectif de cette méthode est d'aboutir à une insulino-indépendance définie comme la restauration d'un contrôle glycémique normal en l'absence d'insuline exogène, caractérisée par une HbA1c inférieure à 6,1 %, une glycémie à jeun ne dépassant pas 1,40 g/l plus de 3 fois par semaine, une glycémie postprandiale ne dépassant pas 1,80 g/l plus de 4 fois par semaine, un index MAGE(l'amplitude moyenne des excursions glycémiques) de variabilité glycémique inférieur à 0,6 g/l, et enfin dans l'éventualité d'une maladie intercurrente ou d'un autre événement (par exemple surdosage en tacrolimus (un immunosuppresseur utilisé contre le rejet de la greffe), le recours transitoire à l'insuline ne doit pas excéder 14jours (76).

Limites de cette approche :

- L'absence de vaisseaux sanguins dans les îlots pancréatiques greffés ;
- La méthode d'isolement des îlots est peu reproductible.
- La masse des îlots nécessaires à la transplantation nécessite parfois plusieurs pancréas.
- L'immunosuppression et ses effets indésirables.

- Des réactions inflammatoires qui ont lieu au moment de la transplantation ;
- La méconnaissance de l'influence du foie (site où sont transplantés les îlots) sur le greffon;
- La méconnaissance du rôle du stress oxydant généré par l'environnement diabétique du receveur dans la perte des îlots au cours de la transplantation.

3. La greffe des îlots de Langerhans

3.1. Historique

L'idée de traiter les patients diabétiques avec des parties du pancréas remontent à plus d'un siècle. La première transplantation de tissu pancréatique a été effectuée par Watson-Williams, médecin adjoint principal à Bristol Royal Infirmary. En 1893, il transplante quelques morceaux de pancréas de mouton fraîchement abattu sous la peau d'un diabétique au stade terminal. Après une brève réponse, le patient a rapidement rejeté la xénogreffe (Williams, 1894). En 1916, Frederick Pybus décrit des études cliniques similaires, mais cette fois, des morceaux de pancréas humains avaient été transplantés sous la peau (Pybus, 1924). Malheureusement, ces premières tentatives ont échoué (91).

Plus tard, des travaux de transplantation des îlots ont débuté afin d'évaluer leur capacité à normaliser la glycémie des patients diabétiques à la suite de la découverte du rôle des îlots de Langerhans dans la sécrétion de l'insuline. En 1964, Hellerstrom décrit la première technique d'isolement des îlots du pancréas par microdissection de rongeurs (Hellerstrom, 1964). Un an plus tard, Moskalewski a décrit une technique d'isolement des îlots de cochons d'Inde par digestion enzymatique avec une collagénase brute (Moskalewski, 1965). Entre 1967 et 1972, cette technique a été améliorée par Lacy : une étape supplémentaire de canulation du canal pancréatique et sa distension avec une solution saline équilibrée froide pour obtenir une séparation mécanique avant l'excision de la glande a été rajoutée (Lacy & Kostianovsky 1967, Ballinger & Lacy, 1972) (39), (80). Des études ultérieures effectuées chez les primates et les rongeurs ont montré la possibilité d'inverser le diabète grâce à ces îlots isolés (40), (41).

En 1988, Ricordi décrit une méthode permettant l'isolement et la purification d'îlots de Langerhans humains par un dispositif semi-automatique d'isolement. Cette technique associe une digestion à la fois enzymatique et mécanique du pancréas, suivie d'une étape de purification permettant d'éliminer le reste de tissu exocrine afin d'obtenir une préparation pure d'îlots de Langerhans (42).

L'amélioration des techniques d'isolement par Ricordi et la découverte de nouveaux immunosuppresseurs ont enfin permis de mettre en place le protocole clinique vers le milieu des années 80. Le premier essai clinique réussi sur un patient diabétique a été réalisé à l'université de Pittsburgh en 1990 (43).

En 2000, Dr. James Shapiro et ses collègues ont démontré des résultats efficaces avec le protocole d'Edmonton, en référence à la ville dans laquelle a été développé ce protocole d'immunosuppression sans stéroïdes à des patients sans néphropathie (44).

3.2. Technique

La technique de prélèvement pancréatique et d'isolement des îlots, en se basant sur la technique de Ricordi, répond aux exigences suivantes:

- 1) une action traumatique minime sur les îlots.
- 2) une digestion continue permettant la libération progressive des îlots
- 3) une intervention humaine minimale dans le processus de digestion
- 4) un haut rendement et grande pureté des îlots isolés.

Cinq étapes résument la procédure actuelle d'obtention des îlots de Langerhans purifiés prêts pour la transplantation chez l'Homme:

Etape 1 : Sélection des donneurs

Etape 2 : Prélèvement pancréatique chez le donneur décédé

Etape 3 : Décontamination, Canulation du canal pancréatique et Perfusion

Etape 4 : Digestion

Etape5 : Purification

Malgré les avancées dans la standardisation de la technique, le rendement n'est en moyenne que d'environ 50% (45).

Les étapes de la procédure sont détaillées ainsi:

Etape 1 : Sélection des donneurs

Les pancréas sont prélevés sur des donneurs en état de mort cérébrale, au cours de prélèvements multi-organes. Les critères retenus pour la sélection de donneurs en vue de prélèvement pancréatique répondent généralement aux conditions suivantes (98):

- donneur non décédé pour cause vasculaire
- il doit être âgé de plus de 18 ans
- son IMC > 20
- pas d'arrêt cardiocirculatoire
- moins d'une semaine de réanimation
- marqueurs infectieux négatifs
- lipidémie dans les valeurs normales
- amylasémie normale
- absence d'antécédents de diabète, de pancréatite ou d'éthylisme chronique.

Selon l'article L1233-1 du Code de la Santé, les prélèvements d'organes en vue de don à des fins thérapeutiques ne peuvent être pratiqués que dans des établissements de santé autorisés à cet effet par l'autorité administrative après avis de l'Agence de la biomédecine.

L'autorisation est délivrée pour une durée de cinq ans. Elle est renouvelable.

Le pancréas est un organe fragile et difficile à prélever, ce qui limite le nombre de prélèvements du fait du donneur, mais aussi des difficultés des équipes chirurgicales à déplacer un chirurgien expérimenté pour effectuer le prélèvement. En 2011 selon l'agence de biomédecine, 95 pancréas ont été prélevés afin de réaliser un isolement des îlots de Langerhans, soit un nombre plus élevé qu'au cours des 5 dernières années. La technique de prélèvement varie d'un centre à un autre. Ci-dessous la technique de Lille :

Une **décontamination** de l'estomac et du duodénum est réalisée à deux reprises, à l'aide d'une solution de polyvidone iodée diluée dans 500 ml de sérum physiologique et instillée dans la sonde gastrique.

Dissection

Afin de faciliter le prélèvement du pancréas, un large décollement du bloc duodéno-pancréatique, permettant la mobilisation complète du cadre duodénal et de la tête du pancréas, est réalisé.

Réfrigération in situ

Une fois l'aorte coeliaque clampée (aorte qui approvisionne en sang oxygéné le foie, l'estomac, la rate, le duodénum et le pancréas), la perfusion aortique et la réfrigération in situ sont débutées. La cavité abdominale est alors remplie de sérum glacé et de glace pilée afin d'éviter une ischémie tissulaire chaude, néfaste à la viabilité des tissus.

Explantation

Le pancréas est prélevé immédiatement après le foie et avant les reins.

Préparation du greffon

Le bloc pancréaticoduodénosplénique explanté est immédiatement placé sur un lit de glace pilée stérile mélangé à du sérum réfrigéré (Figure 14). Durant tout le processus

de dissection, il faut veiller à maintenir le pancréas réfrigéré et à préserver sa capsule car le pancréas est un organe sensible à ischémie chaude.

Sous réserve d'une dissection attentive, la duodénectomie était réalisée. Puis une fois la dissection pancréatique achevée, le canal de Wirsung est localisé (canal de Wirsung : voir Figure 13). De couleur gris-perle, le canal de Wirsung mesure 1 à 2 mm de diamètre.

Contrairement à la majorité des centres, à Lille, une lacération du canal de Wirsung est réalisée. Deux cathlons atraumatiques à ailettes sont introduits de part et d'autre de la wirsungtomie (Figure 15).

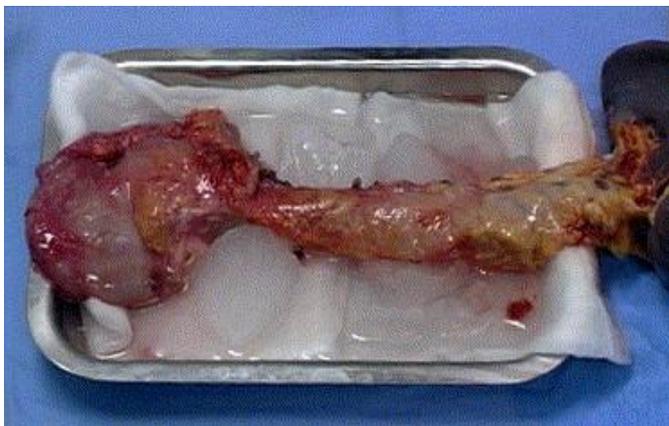


Figure 14 : Bloc pancréaticoduodénosplénique explanté et placé sur lit de glace (46).

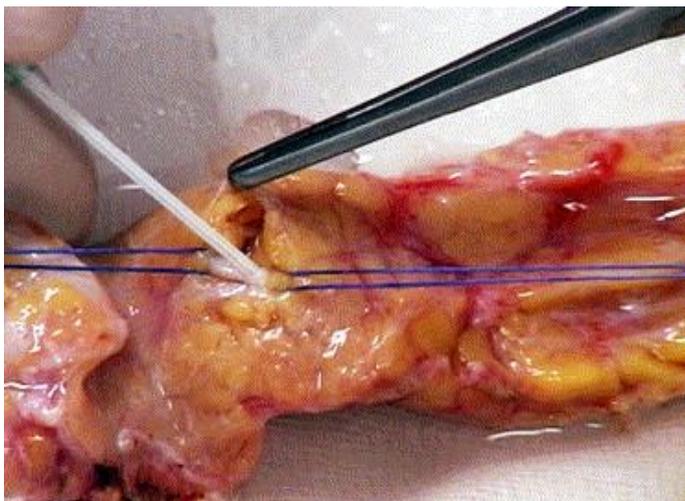


Figure 15 : Canulation du canal de Wirsung (46).

Conservation du greffon

Le récepteur primaire est emballé dans deux sacs à intestin puis placé dans le container de transport rempli de glace pilée. Le pancréas prélevé est acheminé au laboratoire d'isolement des îlots dans le délai le plus bref possible afin de réduire la durée de l'ischémie froide.

Conformément à la DIRECTIVE 2010/45/UE, le conteneur isotherme de transport doit comporter une étiquette avec :

- i) le nom de l'organisme d'obtention et de l'établissement dans lequel l'obtention a eu lieu, y compris leurs adresses et leurs numéros de téléphone,
- ii) le nom du centre de transplantation destinataire, y compris son adresse et son numéro de téléphone,
- iii) l'indication que le conteneur renferme un organe, en précisant le type d'organe ainsi que la mention «FRAGILE»,
- iv) les conditions de transport recommandées, y compris les instructions relatives au maintien du conteneur à une température et dans une position appropriée Les organes transportés sont accompagnés d'un rapport sur la caractérisation de l'organe et du donneur.

Etape 3 : Décontamination, Canulation et Perfusion (79)

Le pancréas est décontaminé par passage dans un bain de bétadine puis dans un bain d'antibiotique et d'antifongique. La libération d'îlots n'est possible que par injection d'une solution d'enzymes protéolytiques au sein du tissu.

Le pancréas est pesé et dégraissé à l'aide d'instruments stériles (Figure 16, A). Puis une canule est introduite dans le conduit de Wirsung (dans le cas où ceci n'a pas été réalisé durant le prélèvement d'organe) (Figure 16, B) permettant la perfusion de la solution enzymatique (Libérase[®]) dans l'ensemble du tissu pancréatique.

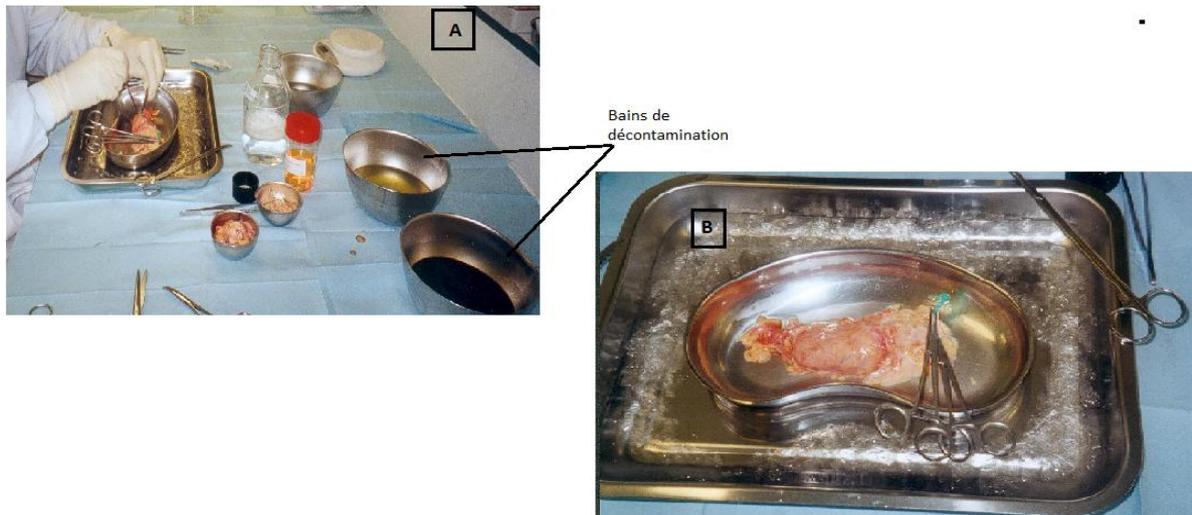


Figure 16 : A : Décontamination du pancréas. B : Canulation du pancréas.

La collagénase est perfusée sous pression (Figure 17). Elle est nécessaire pour rompre les ponts collagènes unissant le tissu exocrine au tissu endocrine.

A la fin de la perfusion, le pancréas est découpé en morceaux afin de préparer l'étape suivante qui est celle de la digestion.

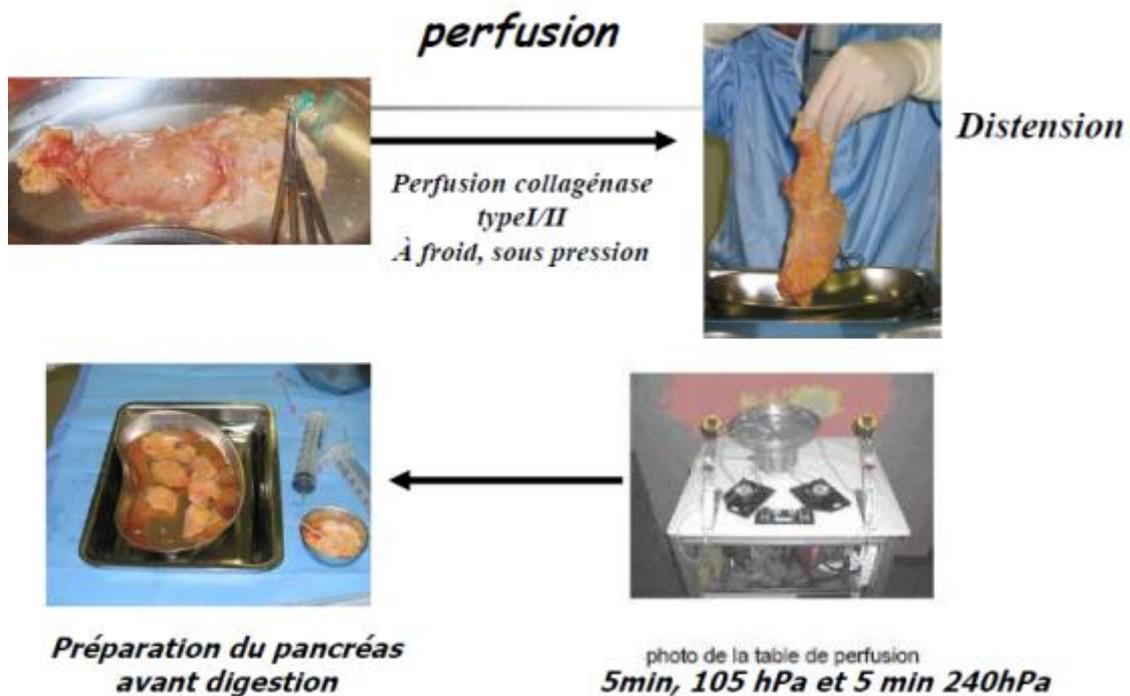


Figure 17 : Perfusion du pancréas par la collagénase (98).

Etape 4 : Digestion (79)

Le pancréas découpé est ensuite chargé dans une chambre de digestion (Figure 18), constituée de deux compartiments. La phase de digestion est divisée en deux périodes, l'une de recirculation en circuit fermé à 37 °C, l'autre de vidange du circuit au cours de laquelle la totalité du tissu pancréatique est collectée. La durée de la phase de recirculation (en moyenne de 18 à 20 minutes) est déterminée par l'examen régulier au microscope d'échantillons issus de la chambre de Ricordi, recherchant la présence d'îlots par marquage à la diphényl-thiocarbazone ou dithizone. La phase de vidange est débutée dès l'apparition des premiers îlots libres.

La chambre de Ricordi est connectée à un circuit composé de tuyaux et d'une pompe péristaltique assurant la recirculation continue de la Libérase[®] (47). Cette solution renferme un mélange de collagénases purifiées spécialement formulées pour libérer les îlots de Langerhans intacts du pancréas humain. Une solution inhibitrice de sérines protéases (Péfabloc SC Plus) est ajoutée à la Libérase[®] (48), (49). En effet, il a été montré que la présence d'un inhibiteur de protéases permet d'améliorer qualitativement et quantitativement la production d'îlots. La Libérase[®] est chauffée à 37°C (température optimale d'activité), grâce à un serpentin baignant dans un bain marie. En plus de cette action enzymatique, la chambre de digestion contenant les fragments de pancréas et des billes en acier est agitée manuellement en continu afin de favoriser la dissociation des tissus.

La digestion du pancréas est suivie très régulièrement grâce à des échantillonnages rapprochés réalisés au sein du circuit de digestion. L'observation microscopique des échantillons permet de surveiller l'apparition d'amas de tissus exocrines et d'îlots. Lorsque quelques îlots sont observés dans l'échantillon, les opérateurs débutent la récolte ou la phase de vidange.

La récolte consiste à injecter du milieu HPS+ albumine (HPS : Hanks (solution saline) + pénicilline/streptomycine) dans le circuit (afin de diluer progressivement la Libérase[®]) et à récupérer en continu le maximum d'îlots dans des tubes de 250 ml au fur et à mesure de leur libération. La récolte est réalisée en circuit ouvert sous PSM ; c'est donc une étape délicate qui demande une grande vigilance pour maintenir la qualité de l'environnement.

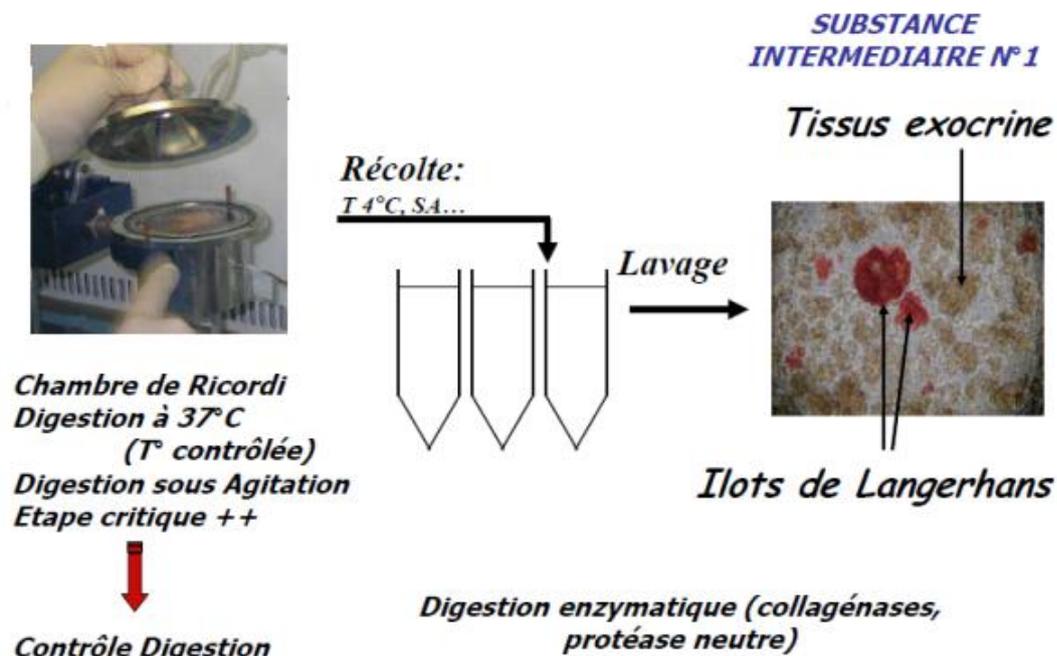


Figure 18 : Digestion du pancréas dans la chambre de Ricordi. Contrôle de la fin de la digestion par l'examen régulier au microscope d'aliqots recherchant la présence d'îlots par marquage à la diphénylthiocarbazone ou dithizone.

La phase de lavage qui suit, consiste à éliminer par lavages successifs, la solution enzymatique dans laquelle baigne le digestat. Les centrifugations réalisées permettent également de concentrer le digestat en un ou plusieurs culots de 20 ml. Chaque culot, contenant un mélange d'îlots et de tissu exocrine, est suspendu dans un liquide de conservation appelé ViaSpan[®] (ou Belzer UW). Il a en effet été rapporté que la conservation (durant une heure) du digestat dans cette solution permet d'améliorer le rendement de la purification.

Etape5 : Purification (79)

Le but de cette étape de purification est d'isoler les îlots afin de transplanter uniquement les cellules d'intérêts ce qui augmente la sécurité de la procédure de greffe et réduit l'immunogénicité du greffon.

Le digestat contient un mélange de tissu endocrine (îlots de Langerhans) et exocrine (à éliminer). Ces deux types de tissus peuvent être séparés grâce à leur différence de densité : les îlots ont une densité absolue proche de $1,07 \text{ g/cm}^3$ alors que le tissu exocrine possède une densité absolue supérieure, d'environ $1,09$ à $1,1 \text{ g/cm}^3$.

Actuellement, la technique ayant fait la preuve de son efficacité pour purifier une préparation d'îlots est la centrifugation en gradient continu de densité.

La purification des îlots de Langerhans par gradient continu de densité est réalisée dans un appareil nommé COBE 2991TM normalement utilisé pour concentrer et laver les hématies avant leur transfusion. La purification comporte 3 étapes (50):

-La première consiste à réaliser dans la poche de la COBE 2991TM un gradient continu de densité à l'aide de deux solutions (BIOCOLL) de densités absolues différentes : $1,077$ et $1,100 \text{ g/cm}^3$. Sous l'effet de la centrifugation, les solutions forment un gradient croissant de densité du centre à la périphérie de la poche.

-Dans la seconde étape, le digestat (îlots non purifiés) est envoyé par l'intermédiaire d'une pompe péristaltique dans la poche de la COBE contenant le gradient de densité. Sous l'effet de la centrifugation, les îlots se séparent du tissu exocrine formant ainsi un gradient continu de pureté.

-La dernière étape consiste à récolter en continu dans des tubes les îlots purifiés (densité absolue de $1,077$).

Une étape de lavage débute ensuite avec regroupement des phases de pureté identique. Pour chaque tube de récolte post purification, un échantillon est prélevé et observé au microscope afin d'évaluer la pureté de la suspension d'îlots. Après plusieurs lavages, les tubes présentant des fractions de pureté similaire sont regroupés pour obtenir 3

couches : très pure (70 à 100% d'îlots), intermédiaire (50 à 60% d'îlots), peu pure (30 à 40% d'îlots).

Le rendement de cette technique est influencé par les variables résumées dans le tableau suivant :

Variabes	Effet positif (+) ou négatif (-)
Donneur : accident cardiovasculaire	-
Age du donneur	-
Antécédent de diabète	-
IMC élevée	+
Temps d'ischémie froide prolongé	-
Capsule pancréatique intacte durant le prélèvement	+
Poids du pancréas	+
Pancréas riche en matières grasses	+

Tableau 5 : Variables influençant le rendement de la technique d'isolement des îlots (49) (62).

3.1. Site de transplantation et prise en charge du patient greffé.

Une fois les îlots isolés, ils sont conditionnés dans une poche à transfusion. Cette poche est transportée dans des conditions strictes à l'hôpital où aura lieu la greffe. Les îlots sont le plus souvent administrés dans le **réseau porte** du receveur après cathétérisme sous repérage échographique, sous anesthésie locale ou sédation (Figure 19).

Les îlots sont retenus dans le parenchyme hépatique à cause de leur taille importante. A ce niveau, ils développent leur propre vascularisation dans un délai de quelques semaines.

La grande révolution dans le protocole clinique de la greffe fait suite au protocole d'Edmonton (44). Celui-ci combinait uniquement plusieurs stratégies désignées à surmonter spécialement les obstacles variés rencontrés lors de la séquence « isolement – greffe – immunosuppression ».

Tout d'abord, le temps d'ischémie froide était gardé au minimum avant l'isolation et l'accent était mis sur une haute pureté de la préparation d'îlots. Le sérum de veau foetal a été éliminé du processus d'isolement afin de minimiser l'immunogénicité. Ensuite, afin d'obtenir une masse d'au moins 10.000 IEQ/kg d'îlots greffés, tous les patients ont reçu au moins 2 greffes d'îlots. Finalement, afin de contrecarrer les effets diabétogènes des stéroïdes et des inhibiteurs de la calceuneurine tel que le tacrolimus et la ciclosporine A, une amélioration du protocole immunosuppresseif a été créé. Ce nouveau protocole consiste en une dose faible de tacrolimus, de rapamycine (sirolimus) et d'anticorps monoclonaux anti-IL2-récepteurs en l'absence de stéroïdes.

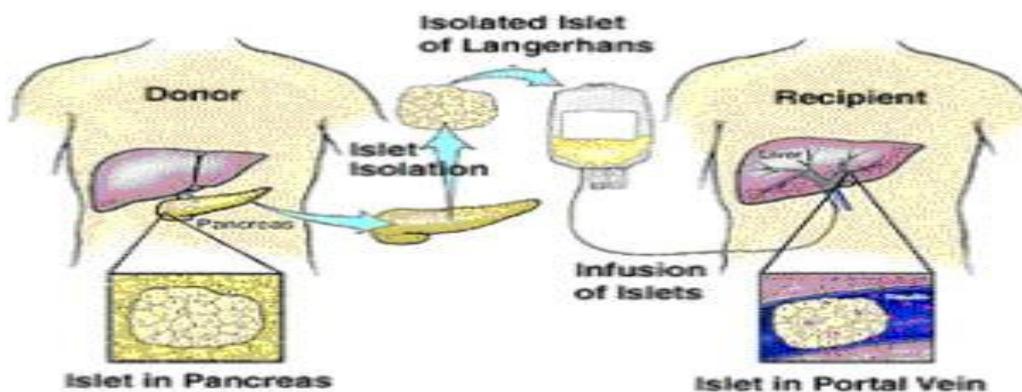


Figure 19 : Procédure de greffe des îlots de Langerhans. (Edmonton protocol (92)).

3.2. Registre CITR

Le CITR (Collaborative Islet Transplant Registry) est financé par la NIDDK (National Institute of Diabetes, Digestive and Kidney Diseases ainsi que la JDRF (Juvenile Diabetes Research Foundation).

Le CITR a pour mission d'accélérer les progrès et promouvoir la sécurité des transplantations des îlots de Langerhans, l'analyse et la communication des données de transplantations effectuées en Amérique du Nord, Europe et Australie.

Dans le 7ème rapport de la CITR de mars 2011, le Registre fait état de 571 greffes allogéniques réalisées entre janvier 1990 et décembre 2009 dans 33 centres différents.

481 greffes d'îlots seuls (ITA pour Islet Transplant Alone) et 90 greffes d'îlots après ou simultanément à une greffe rénale (IAK/SIK pour Islet after or simultaneous with kidney). 1072 infusions ont été préparées à partir de 1087 donneurs.

Les caractéristiques des receveurs au moment de la première greffe ainsi que l'indication de celle-ci sont résumés dans le tableau ci-dessous :

Données disponibles		ITA	IAK/SIK
		%	%
Indications	Inconnue/Oubliée	3,1	1,1
	La mucoviscidose	0,6	-
	Pancréatectomie	0,2	-
	Diabète de type 1	96	98,9
Sexe	Femme	61,4	55,1
	Homme	38,6	44,9
		Moyenne	Moyenne
Age au moment de la transplantation		44,8	45,3
Durée du diabète(en année)		27,7	32,6
Indice de masse corporelle		23,6	22,5
HbA1C		7,8	7,9
Besoin en insuline (en UI)		34,9	35,2

Tableau 6 : Indications de la greffe et caractéristiques des receveurs greffés entre janvier 1999 et décembre 2009 (93).

Les immunosuppresseurs utilisés pour l'induction et la maintenance de l'immunosuppression sont résumés dans les tableaux suivants :

Famille	Catégorie	Nom	
Anticorps	Anticorps monoclonal spécifiques des CD53	Alemtuzumab (Campath)	
	Anticorps monoclonal anti CD3	Teplizumab	
	Anticorps polyclonal		Antithymocyte
			Globuline antilymphocyte

Famille	Catégorie	Nom
Inhibiteur de l'activation des cellules T	Antagoniste des IL2 R	Daclizumab
		Basiliximab
Inhibiteur de la réplication	Analogue de l'ADN	Azathioprine
	IMPDH inhibiteur	Mycophenolate Mofetil/Mycophenolic acid
	mTor inhibiteur	Sirolimus
		Everolimus
Inhibiteur lymphocytaire	LFA1 inhibiteur	Efalizumab
Desensibilisation	Immunoglobuline	IVIG
Inhibiteur de la co-stimulation	Anticoprps monoclonal antiCD28	Belatacept/Abatacept
Inhibiteur de la calcineurine	Inhibiteur de la calcineurine	Cyclosporine
		Tacrolimus
		Neoral
Anticorps	Anticorps	Rituximab
Anti-inflammatoires	Corticoides	stéroïdes
	Antagoniste du récepteur ILR1	IL1R
		Deoxyspergualin
	Anti TNF alpha	Infliximab
		Etanercept

Tableau 7 : Liste des immunosuppresseurs utilisés suite à la greffe des îlots de Langerhans.

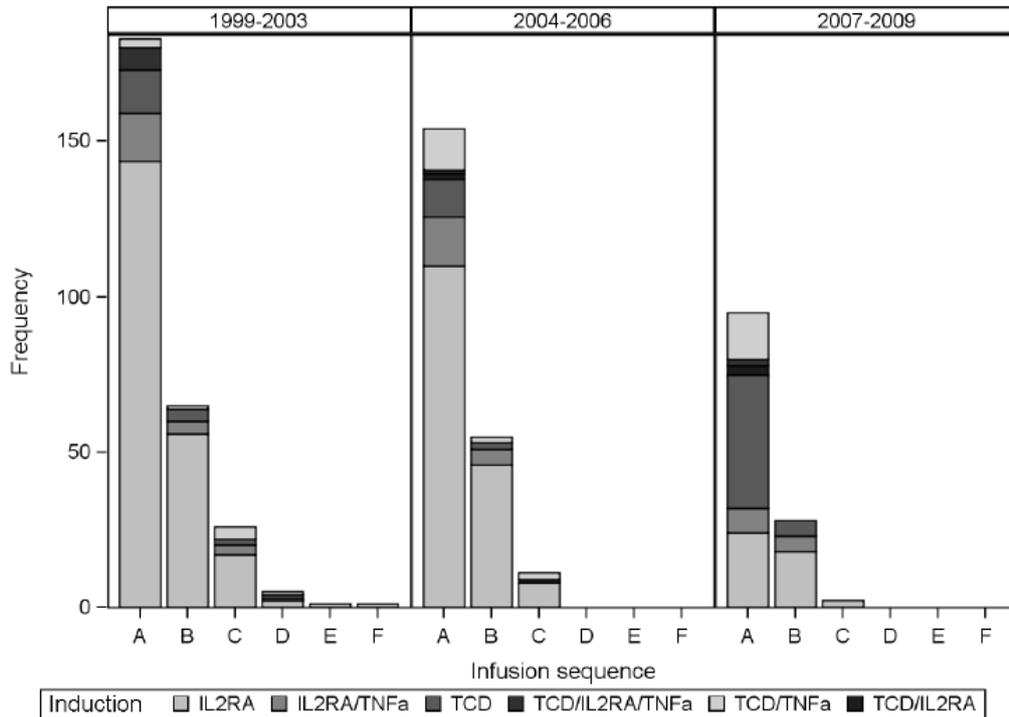


Tableau 8 : Type d'induction utilisée suite à la greffe des îlots de Langerhans. Induction par IL2RA entre 1999-2003 remplacée par TCD avec ou sans anti TNF alpha.

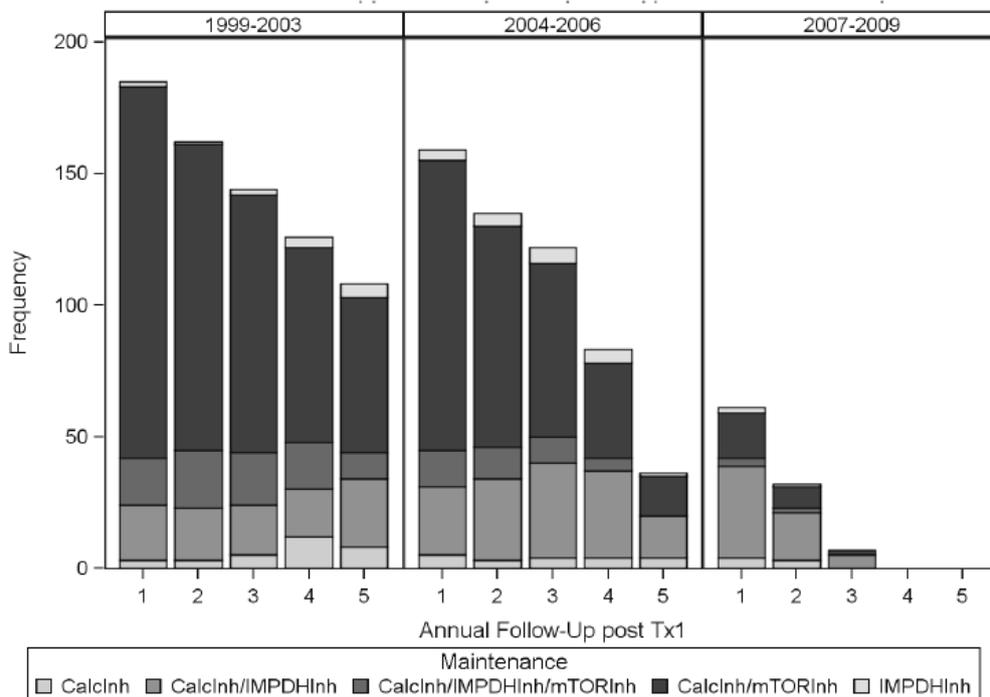


Tableau 9 : Type d'immunosuppresseur utilisé pour le maintien de la greffe. 70% des protocoles entre 1999-2003 utilisaient un calcineurine inhibiteur/inhibiteur TOR (Edmonton protocole).Le mTOR inh fut remplacé par IMPDH ces dernières années.

Entre 1990 et 2009, sur les 571 allogreffes bien documentées, les données du Registre montrent que (93):

- la fonctionnalité partielle du greffon, attestée par un taux de peptide C (un sous-produit créé lors de la synthèse d'insuline) arbitrairement fixé à plus de 0,3 ng/ml est d'environ 97,7%. Le maintien de la fonction est maximisée lorsque l'âge du receveur est supérieur à 35 ans, lorsqu'il reçoit plus qu'une seule infusion, lorsque le besoin en insuline est inférieur à 0,66 UI/jour/kg et avec l'utilisation de TCD+ TNF alpha ainsi que des inhibiteurs de calcineurine
- Les patients toujours insulino-indépendants 3 ans après la greffe, sont surtout ceux qui ont un besoin basal d'insuline (inférieur à 0,42 UI/jour/kg), âge du receveur supérieur à 35 ans, et quand le pancréas est préservé avec une solution HTK (histidine-tryptophan-ketoglutarate) après le prélèvement. Le type de la greffe ITA versus IAK/SIK n'a pas d'influence (Figure 20).

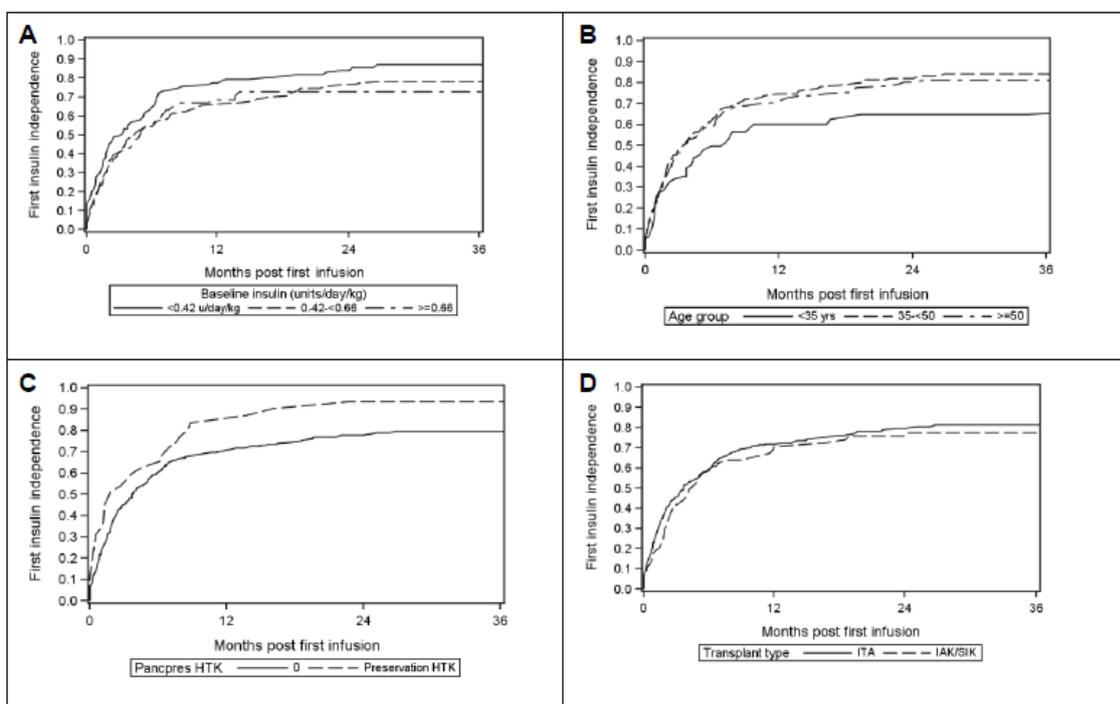


Figure 20 : insulino-indépendance dans les mois qui suivent la première infusion. A : Selon le besoin basal en insuline, B : selon l'âge du receveur. C : préservation avec ou sans HTK. D : type de greffe ITA versus IAK/SIK.

3.3. Autres registres

D'après l'agence de biomédecine (94):

En France, la greffe d'îlots de Langerhans est réservée à des malades diabétiques de type I qui ne sont pas encore parvenus au stade d'insuffisance rénale, et qui ne justifient pas une indication de greffe de pancréas (organe) pour des raisons évidentes de rapport bénéfice/risque défavorable. Lors d'une greffe d'îlots de Langerhans, seuls les îlots de cellules du pancréas capables de sécréter de l'insuline sont injectés au malade. Le nombre d'îlots isolés à partir d'un donneur n'est pas toujours suffisant pour corriger totalement le diabète. Certains receveurs sont donc amenés à recevoir des îlots issus de plusieurs donneurs.

Au 1^{er} janvier 2011, 29 malades étaient en attente d'une greffe d'îlots, 16 malades ont été inscrits pendant l'année. Au cours de l'année 2011, 12 malades ont bénéficié d'au moins une injection d'îlots de Langerhans. Parmi ceux-ci, 1 a reçu sa première injection, 3 leur deuxième injection, 8 leur troisième injection. En 2011, les greffes d'îlots sont réalisées dans le cadre de trois protocoles de recherche clinique : un à Lille, le protocole multicentrique GRAGIL entre la France et la Suisse et un protocole TRIMECO commun à tous les centres. Les résultats à long terme de ces protocoles permettront de mieux préciser la place de la greffe d'îlots dans le traitement du diabète et d'envisager le passage en routine de cette activité actuellement réalisée exclusivement dans le cadre de protocole de recherche.

Réseau Gragil

Les pancréas sont prélevés sur le territoire couvert par le réseau GRAGIL (Groupe de Recherche Rhin Rhône-Alpes Genève pour la transplantation d'Ilots de Langerhans) créé en 1999 à l'initiative du Pr. P.Y. Benhamou du CHU de Grenoble.

Ce réseau regroupe les Hôpitaux Universitaires de Besançon, Genève, Lyon,

Strasbourg et Grenoble et s'est récemment élargi aux Hôpitaux de Dijon, Nancy et Marseille. Les pancréas prélevés dans ces centres sont envoyés au laboratoire d'isolement d'îlots de l'Hôpital Universitaire de Genève avec lequel la Banque de Tissus de Grenoble (UMTCT) collabore étroitement.

4. Optimisation de la greffe des îlots de Langerhans

Vingt-deux ans après la première greffe réussie, quelques obstacles empêchent la reconnaissance de la greffe des îlots de Langerhans en tant que traitement reconnu pour le diabète de type 1 ; cette dernière est considérée pour le moment comme essais cliniques.

Les obstacles majeurs peuvent être classés en 3 catégories :

- Le manque de donneurs d'organes : pour surmonter ce problème d'autres sources de cellules sont recherchées.
- La variabilité de la production : de l'étape du prélèvement de l'organe jusqu'à l'administration des îlots, des différences entre les laboratoires et au sein des mêmes laboratoires persistent. Beaucoup de chercheurs travaillent afin d'aboutir à une technique automatisée d'isolement reproductible.
- Les effets indésirables des immunosuppresseurs directement sur la greffe (en empêchant la revascularisation (52) et sur le patient (néphrotoxicité, progression des maladies cardiovasculaires, et diabète induit): rendre les îlots biocompatibles semble être une solution à ce problème. Pour cela, une immuno-isolation par encapsulation est étudiée.

Dans cette troisième partie de la thèse, un bref aperçu des travaux d'optimisation de la greffe des îlots est exposé. Parmi ces travaux : l'encapsulation et les nouvelles sources d'îlots.

4.1. L'encapsulation

L'encapsulation est le piégeage d'un composé ou d'un système au sein d'un matériau. Elle est utilisée dans de nombreux domaines industriels et scientifiques tels que l'industrie pharmaceutiques, médicale et cosmétique, l'industrie alimentaire, l'agriculture, les biotechnologies, les industries chimiques et celles des détergents (78).

Dans le cas des îlots de Langerhans, l'encapsulation permet une transplantation plus sécuritaire des cellules ; des sources alternatives telles que les cellules porcines ou les cellules souches peuvent être utilisées. L'avantage principal de l'encapsulation est son aide à pallier l'administration à vie des immunosuppresseurs puissants en formant une barrière au système immunitaire. La capsule permet la pénétration de l'oxygène et des nutriments ainsi que la diffusion des molécules d'intérêts (insuline...). Le principe de l'encapsulation est schématisé dans la figure suivante :

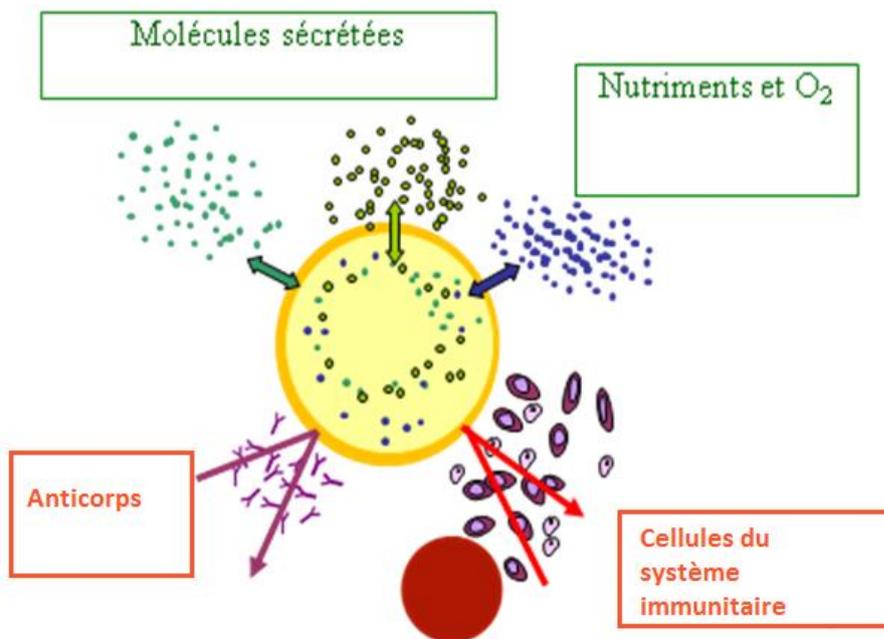


Figure 21 : Principe de l'encapsulation (99).

Le concept d'immunoisolation des îlots a été décrit pour la première fois par Chick et al. en 1977, qui ont pu réaliser une normoglycémie chez des souris diabétiques pendant quelques heures.

4.1.1. Types d'encapsulation

Trois types différents d'encapsulation ont été étudiés pour le moment : les macrocapsules intravasculaires (ou pancréas bio-artificiels vasculaires), les macrocapsules extravasculaires (obtenues par macroencapsulation) et les microcapsules (obtenues par microencapsulation).

Les macrocapsules intravasculaires

Ce sont des implants vasculaires : les îlots entourés d'une membrane perméable sont placés dans un tube implanté dans un shunt artérioveineux pour améliorer l'oxygénation. Le sang s'écoulant à travers le tube fournit le glucose et les nutriments aux îlots qui détectent le niveau de glucose et libèrent la quantité d'insuline appropriée. Cependant, un des problèmes sérieux de ces capsules est la thrombose localisée aux sites d'anastomoses. Ceci induit une diminution du flux sanguin puis la mort des îlots transplantés (53). Ce type de macrocapsules n'est pas largement étudié. (Figure 22 B)

Les macrocapsules extravasculaires

Les macrocapsules extravasculaires présentent deux avantages : elles ne nécessitent pas une chirurgie lourde et peuvent être facilement retirées et/ou rechargées. Ces macrodispositifs sont des chambres de diffusion contenant de nombreux îlots. Ils peuvent prendre une forme plane (disques ou feuilles) comme ils peuvent se présenter sous forme de fibres creuses. Ils sont généralement implantés, chez les modèles animaux, dans la cavité péritonéale, l'espace sous-cutané ou dans la capsule rénale (54), (55). Cependant, la limite de ces macrocapsules provient de la taille des dispositifs. Il faudra condenser au maximum les îlots à l'intérieur afin de réduire au maximum leur taille (56) (Figure 22 C).

Les microcapsules

Les microcapsules permettent l'enrobage d'un ou plusieurs îlots. Elles sont de petites tailles (Figure 22 C). Plusieurs matériaux sont utilisés, cependant l'alginate purifié semble être le plus étudié (56) (71)-Tableau 10) ; ce dernier a un coût de fabrication relativement faible. Les inconvénients de ce matériel par rapport aux macrocapsules sont l'impossibilité d'explantation (56) (Tableau 11) le manque de reproductibilité du procédé de fabrication et le défaut d'oxygénation.

Material	Characterization	Features
Alginate	<i>In vitro</i> , rodent, dog, nonhuman primate, human	Naturally occurring, porous, hydrogel capsules, divalent cation, cross-linking
PLL/poly-L-ornithine coating	<i>In vitro</i> , rodent, human	Synthetic, permselective layer, inflammatory
Agarose	<i>In vitro</i> , rodent, dog	Naturally occurring, porous, hydrogel capsules, thermogelation
PEG	<i>In vitro</i> , rodent, nonhuman primate	Synthetic hydrogel, conformal coating, photo-cross-linking
Chitosan	<i>In vitro</i> , rodent	Naturally occurring, porous, hydrogel capsules, thermosensitive
Collagen	<i>In vitro</i> , rodent	Naturally occurring, used in polymer blends, biodegradable
Polydiallyldimethyl ammonium chloride	<i>In vitro</i> , rodent	Synthetic, layer-by-layer coating, poor islet viability
PLL/PEG copolymer	<i>In vitro</i> , rodent	Synthetic, conformal coating, good islet viability
PVA/PEG lipid	<i>In vitro</i>	Synthetic, conformal coating, good islet viability
Host cell-PEG lipid	<i>In vitro</i>	Synthetic and cellular, conformal coating, good islet viability
Silica	<i>In vitro</i> , rodent	Synthetic, gaseous deposition, porous matrix
Hydroxymethyl polysulfone	<i>In vitro</i> , rodent	Synthetic, porous capillary, supports vascular growth
<i>N</i> -Isopropyl-acrylamide/hemoglobin	<i>In vitro</i> , rodent	Synthetic and protein, improved oxygen transport, sustained islet viability
Poly(<i>N,N</i> -dimethyl acrylamide)	<i>In vitro</i>	Synthetic, tubular membranes, good oxygen transport

Tableau 10 : Les différents matériaux utilisés pour l'encapsulation (56).

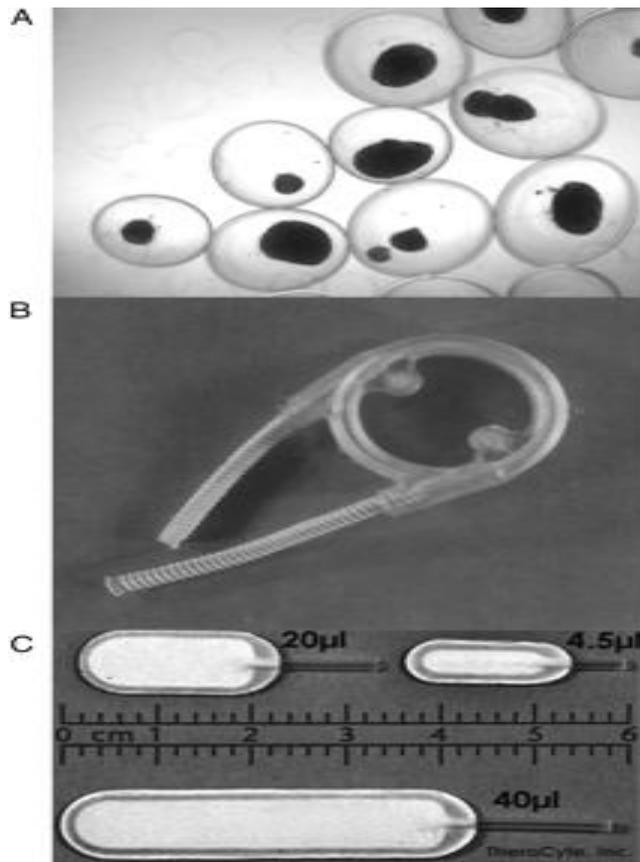


Figure 22 : 3 types d'encapsulation : A : microcapsules ; B : macrocapsules intravasculaires ; C : macrocapsules extravasculaires (56).

Une comparaison des microcapsules vs macrocapsules est résumée dans le tableau suivant :

Microcapsules	Macrocapsules
Rapport surface-volume élevé qui améliore la diffusion à travers la membrane	Membranes épaisses et la géométrie limitent la diffusion de la membrane
Faible volume de transplant permet l'accès à plusieurs sites d'implantation par chirurgie minimale ou injection	Grande taille limite les sites et la facilité d'implantation
Difficiles à explanter	Généralement faciles à explanter, et possibilité de recharger le dispositif
Résistantes à des forces mécaniques, mais la stabilité à long-terme est variable selon le type de microcapsule	Matériaux de fabrication forts mécaniquement, mais les dispositifs ont tendance à se casser
Possibilité d'ajuster la perméabilité, mais la distribution de la taille des pores est large	Possibilité de percer des pores de taille uniforme

Tableau 11 : Comparaison entre la microencapsulation et la macroencapsulation (78).

Dans tous les cas, le cahier des charges du matériel d'encapsulation doit respecter les caractéristiques suivantes (78):

- Perméabilité sélective : laisse diffuser les nutriments et insuline en respectant une cinétique efficace, et bloque les substances et cellules immunocompétentes.
- Stabilité mécanique et chimique : les capsules ne doivent pas se briser et libérer leur contenu immunogène.
- Contrôle de la taille : les capsules de petites tailles permettent une meilleure diffusion, une meilleure résistance mécanique, une meilleure biocompatibilité ce qui donnent accès à un grand nombre de sites de transplantation. La taille du dispositif (macrocapsules), doit être compatible avec une utilisation humaine sûre.
- Biocompatibilité avec les îlots : la capsule ne doit pas amoindrir la survie des îlots.
- Biocompatibilité chez l'hôte : minimiser le risque de fibrose et celui de l'inflammation aiguë.

4.1.2. Comment améliorer la survie des îlots encapsulés ?

Les îlots isolés montrent un taux de survie très faible. Environ 50% des îlots sont détruits. Pour y remédier, deux solutions sont envisageables :

-Les agrégats de cellules dispersées d'îlots :

Pour améliorer la diffusion de l'oxygène dans les îlots, il est bénéfique de réduire leur taille. Lorsque les îlots sont dispersés en cellules simples, celles-ci ont la propriété de se regrouper en une structure semblable à celle des îlots : les agrégats. Ces derniers sont capable de sécréter de l'insuline en réponse au glucose comme les îlots, de façon biphasique et proportionnellement à la concentration de glucose. Des études ont montré que les agrégats encapsulés contenaient très peu de centres de nécrose comparativement aux îlots encapsulés in vitro et in vivo. La survie est donc améliorée en formant des agrégats (56).

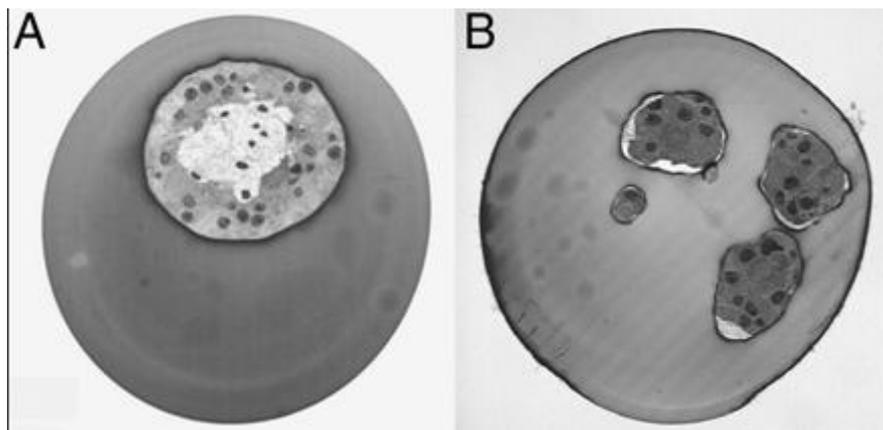


Figure 23 : A : îlots encapsulés montrant une nécrose au centre. B : agrégats d'îlots viables montrant très peu de nécrose (56).

-L'amélioration de l'apport nutritif :

2 procédés peuvent améliorer la survie :

- La co-encapsulation avec d'autres types de cellules (telles que les cellules souches mésenchymateuses (57) ou les cellules productrices d'IGF II (58).
- L'utilisation des facteurs pro-angiogéniques qui favorisent la vascularisation : VEGF

4.1.3. Les études précliniques d'encapsulation

Quelques essais précliniques ainsi que leurs résultats sont résumés dans le tableau suivant :

Essais	Année	Résultats	Remarques
Chez la souris : Greffe d'îlots allogéniques encapsulés par une matrice d'alginate	1980	Le diabète est inversé au bout de 3 semaines	-
Chez les rongeurs : îlots allogéniques encapsulés par une matrice de baryum alginate	2001	Le diabète est inversé pendant 350 jours	-

Essais	Année	Résultats	Remarques
Chez les chiens : greffe d'îlots syngéniques encapsulés	1993	Insulino-dépendance pendant 6 mois	
Chez les chiens : greffe d'un pancréas bio-artificiel vasculaire	1996	Réduction des doses d'insulines de 50% au bout de 284 jours (pour les greffes allogéniques) et jusqu'à 106 jours (xénogreffes)	Thrombose cause principale de l'échec

Tableau 12 : Les études précliniques d'encapsulation (78).

Il semble que les réussites obtenues chez les rongeurs ne soient pas facilement transposables à l'homme. Il faudra donc d'avantage d'études afin d'aboutir au matériel idéal d'encapsulation.

4.1.4. Les études cliniques

Quelques études cliniques avec des îlots encapsulés ont été réalisées chez des diabétiques. Le tableau suivant résume ces essais :

Essai clinique	Numéro EUDRACT sur clinicaltrials.gov	Statut de l'essai
Ilots humains encapsulés : Novocell®	NCT00260234	Essais terminés mais résultats non disponibles
Ilots humains encapsulés avec une monocouche d'alginate	NCT00790257	Essais en cours
Ilots porcins encapsulés par l'alginate	NCT00940173	Essais en cours : phase 1/2a
Ilots porcins encapsulés par l'alginate	NCT01736228	Essais en cours phase 2b

Tableau 13 : Les études cliniques d'encapsulation.

4.2. Source des îlots

Malgré l'augmentation croissante du nombre de personnes diabétiques, la source de cellules β à partir de donneurs décédés reste restreinte. Il est donc important de trouver une autre source de cellules. La Figure 24 schématise les sources potentielles envisageables.

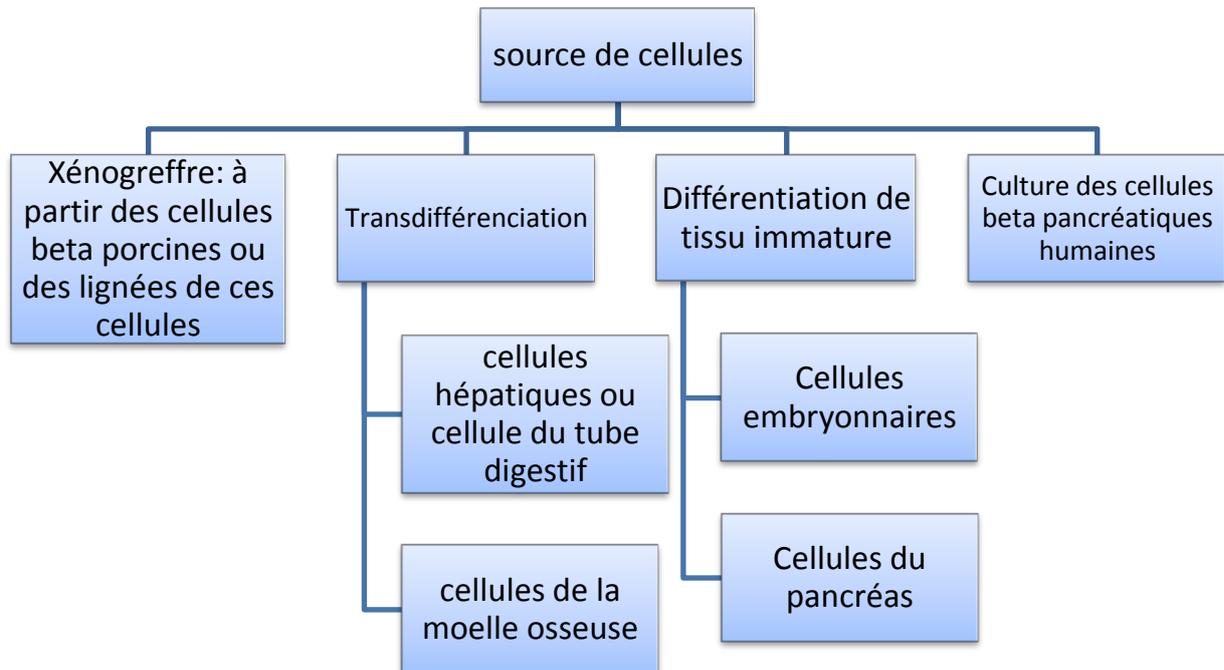


Figure 24 : Schéma représentant les sources potentielles de cellules β .

4.2.1. Les Xéno greffes :

Dans le passé, avant le développement des insulines biosynthétiques, l'insuline du porc fut utilisée pour le traitement des patients diabétiques. Des similarités existent entre les cellules β porcines et les cellules β humaines. Les xéno greffes d'îlots semblent donc être une source potentielle d'îlots. Mais beaucoup de barrières se présentent, telles que le rejet immunologique du tissu lié à la présence d'anticorps naturels spécifiques responsables de la destruction rapide des îlots xéno géniques (rejet suraigu) et le risque de transmission de maladies infectieuses.

Afin de remédier à ces problèmes, sont expérimentés des techniques d'encapsulation des îlots et le développement de porcs transgéniques « humanisés » exprimant des protéines régulatrices qui permettraient de limiter les réactions immunes contrôlées par le système du complément. A titre d'exemple, des essais précliniques avec des îlots exprimant une protéine humaine régulatrice du complément (hCD46) issus de porcs transgéniques chez des singes diabétiques ont permis d'avoir une insulindépendance durant 46 jours (59).

De plus, récemment des lignées de cellules β porcines exemptes de rétrovirus ont été cultivées (56).

D'avantages d'études chez les modèles animaux sont nécessaires avant d'envisager le passage direct à l'homme (60).

4.2.2. La transdifférenciation

Une autre stratégie visant à générer du tissu pancréatique à partir d'un autre tissu présent dans l'organisme (la transdifférenciation) fournirait une abondance de tissu et éliminerait le risque de complications d'une greffe d'organes liées au traitement par immunodépresseurs. Les tissus étudiés sont le foie et la moelle osseuse :

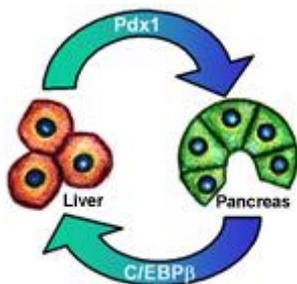


Figure 25 : La transformation de cellules hépatiques en cellules pancréatiques et vice versa (95).

-**Les cellules hépatiques** : la surexpression de Pdx1 (transactivateur du gène de l'insuline) dans une lignée cellulaire d'hépatome humain entraînerait leur transformation en cellules

pancréatiques, ce qui indique qu'il est possible de transformer un type de cellule en un autre par la surexpression d'un seul facteur de transcription (61).

Des travaux similaires, chez des souris diabétiques, ont montré que l'insuline produite par le foie serait capable de réguler la glycémie chez ses dernières(62).

-**Des cellules souches de la moelle osseuse** :

Des études ont permis la mise en évidence des cellules souches mésenchymateuses (CSM) dans la moelle osseuse capable de se différencier *in vitro* en toute une série de tissus : foie, cerveau, muscle... (63).

En 2003, Ianus *et al.* ont injecté des cellules marquées issues de la moelle osseuse à des souris. Ils montrent que, quelques mois après la greffe, une part non négligeable des cellules β pancréatiques fonctionnelles dériveraient du donneur (64). Une autre étude est venue controverser le travail de Ianus et al. en montrant que les cellules de la moelle osseuse se différencient en cellules endothéliales bénéfiques pour la régénération des cellules du pancréas (65), (66).

4.2.3. La différenciation

- **à partir de cellules embryonnaires** : l'utilisation de cellules souches embryonnaires humaines (ES) offre une solution à la question de l'approvisionnement, car les ES peuvent être maintenues indéfiniment dans un état pluripotent. En outre, les ES ont des avantages en termes de plasticité et une immunogénicité réduite. Plusieurs stratégies qui ont jusqu'à présent été étudiées indiquent que les ES sont capables de se différencier en cellules β productrices d'insuline (67). Cependant, l'efficacité des procédures de différenciation est en général assez faible : les populations cellulaires dérivées sont souvent très hétérogènes et les cellules obtenues secrètent un faible taux d'insuline chez des souris diabétiques. De plus, un risque de tératogénicité existe. Quelques techniques ont été expérimentées pour améliorer le protocole :

1-Le traitement de ces ES avec des inhibiteurs de la phosphoinositide-3-kinase conduit à une augmentation de la production d'insuline chez des souris diabétiques. Dans les résultats publiés à ce jour, aucune tumeur n'a été détectée (68). Les inhibiteurs de la pyrolo-pyrimidine Src kinase améliorent de même la dérivation des ES en cellules β pancréatiques (69).

2-La transfection des ES avec des ADNc codant le facteur de transcription Pax4 entraîne une augmentation de la production d'insuline chez des souris diabétiques (70).

Outre les problèmes éthiques que génère l'utilisation de ces ES, une meilleure compréhension des mécanismes impliqués dans la genèse des différents types cellulaires endocrines au cours du développement embryonnaire est encore nécessaire pour utiliser cette source chez l'homme.

-à partir de cellules pancréatiques :

1. **Différenciation à partir des cellules canalaire**s : il semble que les cellules β se développent à partir des cellules localisées dans les canaux pancréatiques (hypothèse confirmée ultérieurement par pancréatectomie partielle) ; différents groupes ont toutefois été capables de générer des cellules β à partir de cellules canalaire. Par exemple, dans un travail récent, les auteurs affirment avoir généré in vivo des cellules sécrétrices d'insuline chez des souris normoglycémiques NOD/SCID à partir de cellules canalaire humaines purifiées (71). Une différenciation de ces cellules peut aussi être réalisée par manipulation génétique. Des cellules ductales furent infectées in vitro avec des adénovirus codant le facteur de transcription neurogénine3. Des cellules ayant un faible taux de sécrétion d'insuline furent obtenues (72).
2. **Différenciation à partir de cellules acinaire**s : Des travaux ont montré qu'une reprogrammation cellulaire des cellules acinaire en cellules β est possible grâce à l'expression de *Pdx1* (pancreatic and duodenal homeobox 1), *Ngn3* (neurogenin 3) and *MafA* (v-maf musculoaponeurotic fibrosarcoma oncogene family, protein A). Cependant les cellules β obtenues n'expriment pas plusieurs gènes importants pour la fonction des cellules β et ne présentent pas une sensibilité au glucose (71).

Ces observations sont très intéressantes car les cellules acinaire ainsi que les cellules canalaire pancréatique sont plus facile d'accès et quantitativement plus importantes que le tissu endocrine ; leurs utilisations seraient donc très avantageuses pour une production de masse de cellules insulino-sécrétrices.

3. **Conversion des cellules alpha pancréatiques en cellules β** : L'expression du facteur de transcription *Pax4* (*paired box 4 gene*) dans les cellules α semblent permettre leur conversion en cellules β (73).
4. **Différentiation à partir de progéniteurs présents dans les îlots** : d'autres hypothèses suggèrent que des progéniteurs qui auraient le potentiel de se différencier en cellules β sont localisés au sein même des îlots. Cependant, les mécanismes intervenant dans la différenciation des cellules souches pancréatiques en îlots ne sont pas clairement élucidés (74).

4.2.4. L'expansion des cellules β

La capacité de réplication des îlots est importante durant la phase de croissance, la grossesse et chez les personnes obèses (75). Cependant, cette capacité est faible voire inexistante chez l'homme. Des recherches de molécules qui peuvent stimuler cette réplication sont en cours.

5. Cadre réglementaire des thérapies à base d'îlots de Langerhans

5.1. Généralités : Les dispositions législatives et réglementaires régissant les biothérapies

En plus des médicaments « traditionnels » tels que les plantes médicinales, les molécules chimiques et les protéines recombinantes, une nouvelle catégorie de produits est apparue et a exigé de nouvelles réglementations des produits de santé. Il s'agit des produits à base de cellules ou de tissus.

Ces biothérapies peuvent avoir deux statuts réglementaires différents : **Médicaments de thérapie innovante (MTI)** ou **préparations de thérapie cellulaire (PTC)**. Les MTI sont divisés en deux catégories : les MTI et les MTI-pp (Médicament de thérapie innovante préparée ponctuellement) (entrant dans le cadre de l'exemption qui sont des MTI, mais préparés de façon ponctuelle, spécialement conçus à l'intention d'un malade déterminé. Les dispositions législatives et réglementaires régissant les biothérapies sont résumées dans le tableau suivant :

Statuts réglementaires	MTI	MTI-pp	PTC
Cadre législatif	Règlement (CE) N°1394/2007	Législation nationale : En cours de discussion	Directive 2004/23/CE + 2 directives techniques 2006/17/CE et 2006/86/CE
Essais cliniques	Directive 2001/20/CE Loi n°2004-806 du 9 août 2004 et son décret d'application n°2006-477 du 26 avril 2006		Loi n°2004-806 du 9 août 2004 et son décret d'application n°2006-477 du 26 avril 2006

Tableau 14 : Cadre législatif des biothérapies.

5.2. Définitions : Médicaments de thérapie innovante (MTI), les médicaments combinés de thérapie innovante, les préparations de thérapie cellulaire (PTC).

5.2.1. Les MTI

Le règlement N°1394/2007 des MTI est un **règlement communautaire** qui à l'inverse d'une directive, s'applique totalement et directement dans les pays. Ce règlement décrit le cadre réglementaire des médicaments de thérapie innovante à usage humain au sein de la communauté européenne, et est composé de 8 chapitres.

Selon l'article 2 du chapitre 1 de ce règlement :

Un «médicament de thérapie innovante» est l'un des médicaments à usage humain suivants:

— un médicament de thérapie génique tel que défini dans l'annexe I, partie IV, de la directive 2001/83/CE,

— un médicament de thérapie cellulaire somatique tel que défini dans l'annexe I, partie IV, de la directive 2001/83/CE,

— un produit issu de l'ingénierie tissulaire tel que défini au point b) ».

Définition du médicament de thérapie génique selon DIRECTIVE 2009/120/CE DE LA COMMISSION qui a modifié l'annexe I, partie IV de la directive 2001/83/CE

« Par médicament de thérapie génique, on entend un médicament biologique qui a les caractéristiques suivantes:

a) il contient une substance active qui contient ou constitue un acide nucléique recombinant administré à des personnes en vue de réguler, de réparer, de remplacer, d'ajouter ou de supprimer une séquence génétique;

b) son effet thérapeutique, prophylactique ou diagnostique dépend directement de la séquence d'acide nucléique recombinant qu'il contient ou au produit de l'expression génétique de cette séquence.

Les vaccins contre les maladies infectieuses ne sont pas compris dans les médicaments de thérapie génique ».

Exemple d'un médicament issu de la thérapie génique : Lactococcus lactis
génétiquement modifié sécrétant de l'interleukine 10 utilisé dans le traitement des maladies inflammatoires chroniques intestinales.

Définition du médicament de thérapie cellulaire somatique (sCTMP) selon DIRECTIVE 2009/120/CE DE LA COMMISSION qui a modifié l'annexe I, partie IV de la directive 2001/83/CE

« Par médicament de thérapie cellulaire somatique, on entend un médicament biologique qui présente les caractéristiques suivantes:

a) il contient ou consiste en des cellules ou des tissus qui ont fait l'objet d'une manipulation substantielle de façon à modifier leurs caractéristiques biologiques, leurs fonctions physiologiques ou leurs propriétés structurelles par rapport à l'usage clinique prévu, ou des cellules ou tissus qui ne sont pas destinés à être utilisés pour la ou les mêmes fonctions essentielles chez le receveur et le donneur;

b) il est présenté comme possédant des propriétés permettant de traiter, de prévenir ou de diagnostiquer une maladie à travers l'action métabolique, immunologique ou pharmacologique de ses cellules ou tissus, ou est utilisé chez une personne ou administré à une personne dans une telle perspective ».

Les manipulations visées à l'annexe I du règlement CE n o 1394/2007, en particulier, ne sont pas considérées comme des manipulations substantielles (annexe 1 : règlement des MTI)

Exemple d'un médicament issu de la thérapie somatique : cellule T cytotoxique
modifiée dans le traitement du cancer ovarien (médicament non commercialisé).

Définition d'un produit issu de l'ingénierie tissulaire (TEP) tel que défini au point b) de l'article 2 du règlement 1394/2007

« « Produit issu de l'ingénierie tissulaire » c'est un produit:

— qui contient des cellules ou tissus **issus de l'ingénierie cellulaire** ou tissulaire, ou en est constitué, et

— qui est présenté comme possédant des propriétés lui permettant de régénérer, réparer ou remplacer un tissu humain, ou est utilisé chez l'être humain ou administré à celui-ci dans ce but.

Un produit issu de l'ingénierie tissulaire peut contenir des cellules ou des tissus d'origine humaine ou d'origine animale, ou les deux. Les cellules ou tissus peuvent être viables ou non viables. Il peut également contenir des substances supplémentaires, telles que des produits cellulaires, des biomolécules, des biomatériaux, des substances chimiques, des supports ou des matrices

Les produits contenant ou consistant exclusivement en des cellules et/ou des tissus humains ou animaux non viables, qui ne comprennent pas de cellule ou tissu viable et dont l'action principale n'est pas obtenue par des moyens pharmacologiques, immunologiques ou métaboliques, sont exclus de la présente définition.

Sont considérés comme «**issus de l'ingénierie cellulaire ou tissulaire**» les cellules ou tissus qui répondent à au moins l'une des conditions suivantes: — les cellules ou tissus ont été soumis à une manipulation substantielle, de façon à obtenir des caractéristiques biologiques, des fonctions physiologiques ou des propriétés structurelles utiles à la régénération, à la réparation ou au remplacement recherchés. Les manipulations énumérées à l'annexe I, en particulier, ne sont pas considérées comme des manipulations substantielles, — les cellules ou les tissus ne sont pas destinés à être utilisés pour la (les) même(s) fonction(s) essentielle(s) chez le receveur et chez le donneur; »

Exemple d'un produit issu de l'ingénierie tissulaire : implants de cellules chondrocytaires pour les lésions du cartilage.

Définition d'un médicament combiné de thérapie innovante selon le règlement 1394/2007

« Un médicament de thérapie innovante qui satisfait aux conditions suivantes: — il doit incorporer comme partie intégrante un ou plusieurs dispositifs médicaux au sens de l'article 1er, paragraphe 2, point a), de la directive 93/42/CEE, ou bien un ou plusieurs dispositifs médicaux implantables actifs au sens de l'article 1er, paragraphe 2, point c), de la directive 90/385/CEE, et

— sa partie cellulaire ou tissulaire doit contenir des cellules ou des tissus viables, ou

— sa partie cellulaire ou tissulaire contenant des cellules ou des tissus non viables doit être susceptible d'avoir sur le corps humain une action qui peut être considérée comme essentielle par rapport à celle des dispositifs précités ».

Exemple d'un produit combiné de thérapie innovante : fibroblastes allogéniques humains cultivés sur une matrice biodégradable utilisée dans la dermatologie

5.2.2. Les préparations de thérapie cellulaire

Ces produits ne sont pas considérés comme des médicaments

Leur procédé de préparation ne fait pas appel à des manipulations substantielles et il est non industriel.

Les cellules sont utilisées avec la même fonction chez le donneur et le receveur.

Exemple de PTC : cellules souches hématopoïétiques préparées et utilisées pour restaurer l'hématopoïèse.

5.3. Rôle du CAT dans la classification des biothérapies

Afin de connaître précocement le statut réglementaire d'un produit issu des biothérapies, l'agence européenne du médicament (EMA) a mis en place un comité (le CAT) qui aide les laboratoires à classer leurs produits. Le CAT est donc le comité des thérapies innovantes. D'après l'article 21 du règlement 1394/2007, il est composé de :

- 5 membres (+ 5 suppléants) cooptés du CHMP.

- 1 membre (+ 1 suppléant) nommé par chaque état membre
- Au moins 2 membres et 2 suppléants doivent avoir des compétences scientifiques dans le domaine des DM.
- 2 membres (+ 2 suppléants) pour représenter les professionnels de santé.
- 2 membres (+ 2 suppléants) pour représenter les associations de patients.
- Un président élu par les membres du CAT pour 3 ans renouvelable 1 fois (actuellement le président est Danois : c'est le Dr.Christian K Schneider).

Les missions du CAT se résument à :

- Classifier les biothérapies : le CAT donne son avis à tout demandeur de recommandations scientifiques auprès de l'agence, ayant mis au point un produit à base de gènes, de cellules ou de tissus. L'Agence détermine si le produit concerné répond, d'un point de vue scientifique, à la définition de médicament de thérapie innovante dans un délai de **soixante jours** à compter de la réception de la demande.
- aider l'EMA à certifier les données de qualité et des données non-clinique à un stade précoce du développement.
- donne son avis sur les demandes d'avis scientifiques sur les données non cliniques, cliniques ou sur la conception et la mise en œuvre de la pharmacovigilance et du système de gestion des risques.
- Donne son avis vis sur la qualité, la sécurité et l'efficacité d'un médicament de thérapie innovante lors des demandes d'AMM.
- donne son avis sur toute autre question en relation avec ses missions.

5.4. Les « produits frontières »

L'étude approfondie des définitions des produits issus des biothérapies fait apparaître des zones d'ombre entre certaines classifications. Ainsi, il est parfois difficile de trancher entre les statuts MTI, MTI-combinés et PTC. De plus, la différence entre MTI

et MTI-pp peut parfois ne pas être évidente. Ensuite, au sein même des MTI, des confusions peuvent apparaître entre les différents types : médicaments de thérapie somatique (sTMT), médicaments issus de l'ingénierie cellulaire ou tissulaire (TEP). Cependant, pour aller plus loin dans la distinction entre ces produits il est important de décortiquer d'abord les différentes définitions.

5.4.1. MTI versus PTC :

Parfois il est difficile de classer un médicament dans la catégorie MTI (plus particulièrement un médicament de thérapie somatique ou un médicament issu de l'ingénierie tissulaire) ou en tant que PTC. Afin de pouvoir comprendre la différence entre ces 2 types de produits il faut d'abord savoir ce qu'est une manipulation substantielle.

Définition d'une manipulation substantielle

Dans le règlement des MTI il est noté qu'une manipulation est considérée comme étant substantielle lorsqu'au cours du processus de fabrication, les cellules ont été manipulées de manière à ce que leurs caractéristiques biologiques, leurs fonctions physiologiques ou leurs propriétés structurales ont été modifiées. Selon l'annexe I de ce règlement, les manipulations suivantes sont considérées comme non substantielle :

- découpage,
- broyage,
- façonnage,
- centrifugation,
- trempage dans des solutions antibiotiques ou antimicrobiennes,
- stérilisation,
- irradiation,
- séparation, concentration ou purification de cellules,
- filtration,
- lyophilisation,
- congélation,
- cryoconservation,

— vitrification.

Exemple de manipulations substantielles :

- Culture cellulaire: des modifications des protéines de surface des cellules adhérentes peuvent se produire lors des différents cycles de décollages puis de repiquages (changements phénotypiques permanents).
- La différenciation des cellules à l'aide des facteurs de croissance.

Le tableau suivant résume la divergence qui existe entre les 2 types de produits :

MTI	PTC
Manipulation substantielle Et/Ou Fonction différente entre donneur et receveur*	Pas de manipulation substantielle Et Fonction identique chez le donneur et le receveur*

Tableau 15 : MTI vs PTC

*Les mêmes cellules peuvent avoir le statut de MTI pour une indication et le statut de PTC pour une autre indication. Ainsi les cellules souches hématopoïétiques sont des PTC lors d'une greffe de moelle osseuse, mais ces mêmes cellules sont considérées comme MTI lors d'une utilisation en cardio-myoplastie.

5.4.2. MTI versus MTI combinés :

Pour qu'un MTI soit considéré comme combinés il faut qu'il remplisse 2 conditions :

-Sa partie combinée : doit incorporer comme partie intégrante un ou plusieurs dispositifs médicaux (DM) au sens de l'article 1er, paragraphe 2, point a), de la directive 93/42/CEE, ou bien un ou plusieurs dispositifs médicaux implantables actifs au sens de l'article 1er, paragraphe 2, point c), de la directive 90/385/CEE,

-Sa partie cellulaire ou tissulaire : doit contenir des cellules ou des tissus viables, ou non viables susceptibles d'avoir sur le corps humain une action qui peut être considérée comme essentielle par rapport à celle des dispositifs précités.

La confusion entre MTI et MTI-combinés vient souvent de la première partie combinée : il doit être possible de déterminer si le DM conserve ses propriétés en tant que DM-excipient ou comme partie intégrante active.

Un exemple qui illustre cette confusion :

Les cellules endothéliales cultivées dans une matrice gélatineuse pour traiter les accidents vasculaires : le produit réduit l'épaisseur de l'intima vasculaire. Le mécanisme d'action repose sur l'action des cellules endothéliales qui libèrent des facteurs biologiques inhibant l'hyperplasie de l'intima. La matrice gélatineuse marquée CE est utilisée dans les procédures chirurgicales comme complément de l'homéostasie. Dans le cas des cellules endothéliales, cette matrice a plutôt pour rôle de maintenir les cellules au niveau de l'accident vasculaire mais aussi elle permet de donner le bon signal aux cellules endothéliales. La matrice agit donc en tant que substance active dans le produit final : ce produit est classé comme un produit de thérapie somatique et non pas un MTI combiné.

5.4.3. sCTMP versus TEP

La différence provient de leur mode d'action

Un sCTMP possède des propriétés permettant de traiter, de prévenir ou de diagnostiquer une maladie par l'action métabolique, immunologique ou pharmacologique de ses cellules ou tissus.

A l'inverse un TEP possède des propriétés lui permettant de régénérer, réparer ou remplacer un tissu humain, ou utilisé chez l'être humain ou administré à celui-ci dans ce but.

sCTMP	TEP	Divergence
Action métabolique, immunologique ou pharmacologique	Action régénératrice, réparatrice ou de remplacement d'un tissu humain	Au niveau du mode d'action.
Exemple : Une greffe des îlots de Langerhans : les îlots rétablissent une fonction métabolique (sécrétion d'insuline) et ne remplacent ou régénèrent pas le pancréas des diabétiques	Exemple : Une préparation de cellules squelettiques humaines utilisées pour traiter l'incontinence urinaire dans le but de remplacer le sphincter urétral	

Tableau 16 : sCTMP vs TEP

L'annexe 3 aide à classifier un produit en sCTMP versus TEP.

5.4.4. MTI versus MTI-pp

Définis ainsi par le règlement 2007/1394, les MTI pp sont: médicaments de thérapie innovante préparés de façon ponctuelle, selon des normes de qualité spécifiques et utilisés au sein d'un même état membre, dans un hôpital, sous la responsabilité professionnelle exclusive d'un médecin, pour exécuter une prescription médicale déterminée pour un produit spécialement conçu à l'intention d'un malade déterminé.

La différence entre MTI-pp et MTI provient du critère ponctuel/spécifique pour un patient donné. Ce sont donc les caractéristiques du produit, ses indications et la population visée qui permettront de le classer : MTI ou MTI-pp. Le positionnement voulu par le développeur est également pris en compte. Un MTI-pp peut passer en MTI lors de l'élargissement de la population à laquelle ils sont administrés (96) (92).

5.5. Principales différences réglementaires entre MTI, MTI-pp et PTC.

En pratique, les principales différences réglementaires entre ces différents produits se concrétisent sur la procédure d'enregistrement du produit (nationale vs centralisée), les

conditions de fabrication (établissement pharmaceutique ou unité de thérapie cellulaire), le cadre des essais cliniques, le système de vigilance appliqué... avec des répercussions plus ou moins lourdes sur les coûts de développement du produit. C'est pourquoi il est primordial de connaître le statut d'un produit dès les premières phases de son développement.

Ces différences sont résumées dans le tableau suivant :

	MTI	MTI-PP	Préparation
	Médicaments de « thérapie génique », Médicaments de « thérapie cellulaire somatique Médicaments «issus de l'ingénierie cellulaire ou tissulaire » Médicaments « combinés de thérapie innovante»	MTI préparé de façon ponctuelle à l'attention d'un malade déterminé et uniquement dans un Etat membre	Tissus / Cellules à effet thérapeutique qui ne sont pas des MTI
Directives Tissus / Cellules 2004/23/CE, 2006/17/CE et 2006/86/CE	Oui pour les aspects relatifs aux dons à l'obtention et aux contrôles des cellules et tissus.	Oui pour les aspects relatifs aux dons à l'obtention et aux contrôles des cellules et tissus.	Oui
Mise sur le marché	Européenne Procédure centralisée obligatoire EMA-CAT 2001/83/CE modifiée	Nationale Décret en attente	Nationale Décret 2008-968 du 16 décembre 2008 Arrêté du 27 octobre 2011
Importation / exportation	Oui	Non	Oui
Règlement pédiatrique	Oui	Non	Non
Respect des BPL	Oui	conseillé	Non mais recommandé
Bonnes pratiques de fabrication	BPF médicaments (L. 5121-5 alinéa 1 ^{er})	BPF médicaments pour les établissements pharmaceutiques (L. 5121-5 alinéa 1 ^{er}) ou BPF spécifique MTI pour les établissements autorisés non établissement pharmaceutique (L. 5121-5 alinéa 3)	Bonnes pratiques tissus cellules (L. 1245-6)
Etablissement de fabrication	Etablissement pharmaceutique (L. 5124-9-1 ou L. 5124-1)	Etablissement pharmaceutique (L. 5124-9-1 ou L. 5124-1) ou Etablissement autorisé par l'Afssaps pour fabrication de MTI-PP (L. 4211-9-1)	Unités de Thérapie Cellulaire autorisées par l'Afssaps (Article L.1243-2)
Essais cliniques nécessaires pour la mise sur le marché (documentation sécurité et efficacité)	Oui	Voir état par état Oui en France	Voir état par état Oui en France
Directive 2001/20/CE essais clinique	Oui	Oui	Non
Loi du N° 2004-806 du 9 août 2004 recherche biomédicale	Oui Arrêtés médicaments	Oui Arrêtés médicaments	Oui Arrêtés spécifiques
Vigilance	Pharmacovigilance	Pharmacovigilance	Biovigilance

Tableau 17 : Différences réglementaires entre MTI, MTI-pp et PTC (ANSM Avril 2012)

5.6. Statuts réglementaires appliqués à la greffe des îlots de Langerhans.

Afin de classer un produit, il est important de connaître son mode d'action ainsi que son procédé de fabrication. Le CAT a déjà classifié 2 types de greffes d'îlots :

1-les îlots humains allogéniques purifiés. Le CAT a considéré que ces îlots sont des PTC et non des MTI car leur procédé de fabrication n'a pas recours à des manipulations substantielles, il se fait sans changement des caractéristiques biologiques ou des fonctions physiologiques des îlots (Annexe2). De plus les îlots ont la même fonction chez le donneur et le receveur : sécrétion d'insuline. Cependant, la FDA a considéré ces produits comme produits biologiques et également comme médicaments. On voit donc qu'il y a un manque d'harmonisation entre les 2 continents Américains et européens.

2- les îlots de Langerhans porcins micro-capsulés avec matrice d'alginate. Le CAT a considéré ces produits comme étant des médicaments issus de thérapie cellulaire somatique non combinée. L'encapsulation de ces îlots les bascule donc de PTC à MTI suite à un changement de leurs propriétés structurelles.

6. Conclusions et perspectives

Malgré les avancées dans le domaine de la greffe des îlots, environ 10 laboratoires uniquement maîtrisent la technique d'isolement. Les problématiques qui limitent le développement de cette technique dans le monde sont : le manque de donneurs d'organes, la prise d'immunosuppresseurs que nécessite la transplantation, la survie réduite des îlots après la greffe, le prix élevé (minimum 10 000 euros par isolement) et le statut réglementaire « confus » de ces îlots.

L'une des façons de contourner le premier obstacle, qui est celui de la pénurie de donneurs, est de chercher des sources alternatives d'îlots. Les xéno greffes, la reprogrammation cellulaire, les cellules souches embryonnaires et l'amplification in vitro des îlots sont tous des voies envisageables pour surmonter cet obstacle. La reprogrammation des cellules quant à elle, pourra remédier en même temps au problème de la prise des immunosuppresseurs dans le cas de l'utilisation de cellules autologues pour la reprogrammation cellulaire.

La survie du greffon pourra être améliorée par une meilleure connaissance des cellules souches mésenchymateuses. De nombreuses études ont montré le pouvoir immunomodulateur des CSM grâce à leurs capacités d'inhiber la prolifération des lymphocytes T humains. Notons qu'en hématologie par exemple, la greffe des cellules souches hématopoïétiques est associée soit à la greffe des CSM autologues pour améliorer la prise de greffe, soit à la greffe des CSM allogéniques pour induire une immunosuppression. Nous pouvons donc imaginer dans quelques années une utilisation des îlots encapsulés en présence des CSM (îlots prélevés chez des donneurs décédés) sans avoir recours à une prise d'immunosuppresseurs.

THESE SOUTENUE PAR : LAYAL BAALBAKI

TITRE : Les traitements innovants du diabète de type 1 : Focus sur la greffe des îlots de Langerhans ; son historique, son optimisation et ses défis réglementaires.

CONCLUSION

Suite à l'incidence accrue du diabète, les efforts se multiplient afin de découvrir la thérapie la plus adéquate capable d'améliorer la qualité de vie des patients diabétiques de type 1. Trois techniques innovantes surgissent de ces recherches : Le pancréas artificiel, l'immunothérapie et la greffe des îlots de Langerhans.

La technique la plus prometteuse à l'heure actuelle semble être la greffe des îlots pancréatiques qui consiste à isoler les îlots de pancréas de donneurs décédés, puis de les injecter chez un receveur. Cependant, ce procédé de fabrication souffre d'un manque de reproductibilité, ce qui demande une grande expertise allant du prélèvement jusqu'au traitement des patients. Il semble donc primordial d'optimiser cette technique pour surmonter les 3 obstacles majeurs à savoir : le manque de donneurs d'organes, la variabilité de la production et la prise d'immunosuppresseurs que nécessite la transplantation.

L'optimisation s'effectue alors sur différents niveaux : La source des îlots, leur technique d'isolement et leur encapsulation afin de réduire leur degré d'immunogénicité. Dans un premier temps, l'objectif de ma thèse était de voir l'état d'avancement de cette technique et de son optimisation.

Tout d'abord, des sources alternatives de cellules sont recherchées telle que la xéno greffe à partir des îlots de porcs ou la néogénèse in vitro à partir des cellules embryonnaires ou d'autres types de cellules. Toutefois, un travail de longue haleine sera encore nécessaire pour développer des cellules qui ont toutes les caractéristiques des cellules bêta naturelles.

Ensuite, la technique d'isolement varie d'un laboratoire à l'autre. Il est donc très important de standardiser cette dernière afin d'obtenir une meilleure qualité de ces cellules.

Enfin, l'encapsulation des îlots palliant la prise des immunosuppresseurs a connu des progrès importants ces dernières années. Malheureusement, le matériel idéal alliant biocompatibilité, survie et perméabilité sélective n'est pas encore atteint. Il est donc indispensable de renforcer les collaborations entre ingénieurs des biomatériaux, chercheurs, cliniciens et pharmaciens pour aboutir à une immunoisolation complète des îlots.

Dans un deuxième temps, l'objectif de ma thèse était de définir le cadre réglementaire applicable au développement des îlots optimisés (encapsulés), en tant que futur pharmacienne.

En effet, les biothérapies peuvent avoir deux statuts réglementaires différents. Elles peuvent être considérées comme **médicament de thérapie innovante** (MTI, qui regroupe les thérapies cellulaires somatiques, les thérapies géniques, les médicaments issus de l'ingénierie cellulaire ou tissulaire et les médicaments combinés contenant des cellules/tissus viables ou non viables et des Dispositifs Médicaux) ou elles peuvent être classées comme **préparation de thérapie cellulaire** (PTC, dont le procédé de préparation ne fait pas appel à des manipulations substantielles).

Les MTI et les PTC sont réglementés par deux directives communautaires différentes dans l'Union Européenne qui les définissent afin de pouvoir classer un produit dans l'une ou l'autre des catégories. Mais l'étude approfondie des définitions fait apparaître une zone d'ombre correspondante aux produits « frontières ». Les îlots optimisés font partie de ces produits « frontières ».

En Europe, le statut réglementaire actuel des îlots non optimisés est celui des PTC et non pas des MTI, car le procédé actuel de fabrication ne contient pas des manipulations substantielles. De plus, ces îlots gardent la même fonction chez le donneur et le receveur. Notons qu'une manipulation est considérée comme étant substantielle lorsqu'au cours du processus de fabrication, les cellules ont été manipulées de manière à ce que leurs caractéristiques biologiques, leurs fonctions physiologiques ou leurs propriétés structurales ont été modifiés.

Actuellement, la fabrication des îlots non optimisés se fait dans des unités de thérapie cellulaire, non classée BPF (Bonne Pratique de Fabrication). Cependant, l'encapsulation des îlots modifiera le statut de ces derniers qui basculeront du statut PTC vers celui des MTI et nécessiteront donc la fabrication dans des établissements pharmaceutiques, classée BPF.

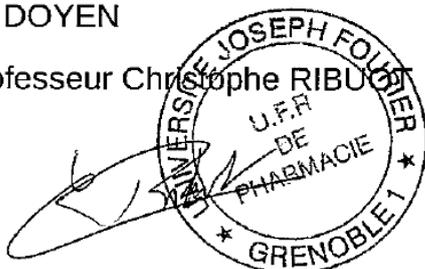
Enfin, le rôle du pharmacien est essentiel tout au long de ces avancées : de la classification précoce du cadre réglementaire de ces îlots optimisés, en passant par la production jusqu'au lit du malade.

VU ET PERMIS D'IMPRIMER

Grenoble, le 26.11.2012.

LE DOYEN

Professeur Christophe RIBUOT



LE PRESIDENT DE LA THESE

Professeur Pierre-Yves BENHAMOU

CHU DE GRENOBLE
ENDOCRINOLOGIE - DIABETOLOGIE

MALADIES DE LA NUTRITION

Professeur P. Yves BENHAMOU

Professeur des Universités

Praticien Hospitalier

ADEL : 38 10 6365 0

Références bibliographiques

Articles de revues

1. Robinson LE, Buchholz AC, Mazurak VC. «Inflammation, obesity, and fatty acid metabolism: influence of n-3 polyunsaturated fatty acids on factors contributing to metabolic syndrome.» *Appl Physiol Nutr Metab* 2007;32(6):1008-24.
2. Guillausseau PJ. « Classification and diagnostic criteria of diabetes: propositions of ADA and WHO.» *Diabetes Metab* 1997; 23(5):454-5.
3. Capeau J, Hermelin B. « Métabolisme des glucides et ses méthodes d'exploration chez l'homme. » *Encycl Méd Chir Endocrinol-Nutrition* 1994 ;10-361-A-10.
4. Yaouanq J, Poirier JY, Maugendre D, Brissot P, Alannic H. «Genetic hemochromatosis and diabetes association: a study in 474 hemochromatosis patients.» *Diabetologia* 1990;33:58.
5. GREEN A, Gale EA, PATTERSON CC. «Incidence of childhood-onset insulin-dependent diabetes mellitus :the EURODIAB ACE Study.» *Lancet* 1992;339(8798):905-9.
6. Onkamo P, Väänänen S, Karvonen M, Tuomilehto J. «Worldwide increase in incidence of type 1 diabetes-the analysis of the data on published incidence trends. » *Diabetologia* 1999; 42(12):1395-403.
7. The Diamond Project Group. «.Incidence and trends of childhood type 1 diabetes worldwide 1990-1999. » *Diabet Med* 2006;23(8):857-66.
8. Knip M, Veijola R, Virtanen SM, Hyöty H, Vaarala O, Akerblom HK. «Environmental triggers and determinants of type 1 diabetes.» *Diabetes* 2005; 54 Suppl 2:S125-36.
9. Knip M. «Can we predict type 1 diabetes in the general population?.» *Diabetes Care* 2002; 25(3):623-5.
10. King H., Aubert RE, Herman WH. «Global burden of diabetes, 1995-2025.Prevalence, numerical estimates, and projections.» *Diabetes Care* 1998; 21(9):1414-31.

11. Bastard JP, Vigouroux C, Capeau J. «Syndrome métabolique ou syndrome d'insulinorésistance.» *Encycl Méd Chir Endocrinol-Nutrition* 2001 ; 10-363-A-10.
12. «The relationship of glyceemic exposure(HbA1c)to the risk of development and progression of retinopathy in the diabetes control and complications trial.» [éditorial]. *Diabetes* 1995;44(8):968-83.
13. Tsilibary EC. «Microvascular basement membranes in diabetes mellitus.» *J Pathol* 2003; 200(4):537-46.
14. Henricsson M, Nyström L, Blohmé G, Ostman J, Kullberg C, Svensson M, et al. «The incidence of retinopathy 10 years after diagnosis in young adult people with diabetes :results from the nationwide population-based Diabetes Incidence Study in Sweden (DISS).» *Diabetes Care* 2003; 26(2):349-54
15. Picart J. «Diabetes mellitus and its degenerative complications :a prospective study of 4400 patients observed between 1947 and 1973.» *Diabete Metab* 1977; 3(2):97-107.
16. Soedamah-Muthu SS, Fuller JH, Mulnier HE, Raleigh VS, Lawrenson RA, Colhoun HM.« High risk of cardiovascular disease in patients with type 1 diabetes in the U.K.: a cohort study using the General Practise Research Database.» *Diabetes Care* 2006; 29(4):798-804.
17. Tuomilehto J, Rastenyte D, Jousilahti P, Sarti C, Vartiainen E.«Diabetes mellitus as a risk factor for death stroke.Prospective study of the middle-aged Finnish population.» *Stroke* 1996;27(2):210-5.
18. Melloul D, Marshak S,Cerasi E. «Regulation of insulin gene transcription.» *Diabetologia* 2002 Mar;45(3):309-26.
19. Michaliszyn SF, Shaibi GQ, Quinn L, Fritschi C, Faulkner MS. « Physical fitness, dietary intake, and metabolic control in adolescents with type 1 diabetes.» *Pediatr Diabetes* 2009;10(6):389-94.
20. Gruessner AC, Sutherland DE.«Pancreas transplant outcomes for United States (US) and non-US cases as reported to the United Network for Organ Sharing (UNOS) and the International Pancreas Transplant Registry (IPTR) as of June 2004.» *Clin Transplant* 2005 ; 19(4):433-55.

21. Sutherland DE, Cecka M, Gruessner AC. « Report from the International Pancreas Transplant.» *Transplant Proc* 1999;31(1-2):597-601.
22. Castaño L, Eisenbarth GS.«Type 1 diabetes.A chronic autoimmune disease of human mouse and rat.» *Annu Rev Immunol* 1990;8:647-79.
23. Gale EA, Bingley PJ, Emmett CL, Collier T. «European Nicotinamide Diabetes Intervention Trial (ENDIT): a randomised controlled trial of intervention before the onset of type 1 diabetes.» *Lancet* 2004;363(9413):925-31.
24. Cevc G. «Transdermal drug delivery of insulin with ultradeformable carriers.» *Clin Pharmacokinet* 2003;42(5):461-74.
25. Hilsted J, Madsbad S, Hvidberg A, Rasmussen MH, Krarup T, Ipsen H, et al. «Intranasal insulin therapy: the clinical realities.» *Diabetologia* 1995 ; 38(6):680-4.
26. Skyler JS, Cefalu WT, Kourides IA, Landschulz WH, Balagtas CC, Cheng SL,et al. «Efficacy of inhaled human insulin in type 1 diabetes mellitus: a randomized proof-of-concept study.» *Lancet* 2001 ; 357(9253):331-5.
27. Kim D, Mudaliar S, Chinnapongse S, Chu N, Boies SM, Davis T, et al. «Dose-response relationships of inhaled insulin delivered via the Aerodose® insulin inhaler and subcutaneously injected insulin in patients with type 2 diabetes.» *Diabetes Care* 2003;26(10):2842-7.
28. Pfützner A, Mann AE, Steiner SS. « Technosphere™/insulin – A new approach for effective delivery of human insulin via the pulmonary route.» *Diabetes Technol Ther* 2002;4(5):589-94.
29. Rave K, Nosek L, Heinemann L, Gonzales C, Ernest CS, Chien J, et al. «Inhaled micronized crystalline human insulin using a dry powder inhaler. Dose-response and time-action profiles.» *Diabet Med* 2004;21(7):763-8.
30. «The effect of intensive treatment of diabetes on the development and progression of long-term complications in insulin-dependent diabetes mellitus.» [éditorial]. *N Engl J Med* 1993;329(14):977-86.

31. Selam JL, Bergman RN, Raccach D, Jean-Didier N, Lozano J, Charles MA. «Determination of portal insulin absorption from the peritoneum via a novel isotopic method.» *Diabetes* 1990;39(11):1361-5.
32. Hanaire-Broutin H, Broussolle C, Jeandidier N, Renard E, Guerci B, Haardt MJ, et al. «Feasibility of intraperitoneal insulin therapy with programmable implantable pumps in IDDM: a multicenter study.» *Diabetes Care* 1995;18(3):388-92.
33. Potts RO, Tamada JA, Tierney MJ. «Glucose monitoring by reverse iontophoresis.» *Diabetes Metab Res Rev* 2002;18 Suppl 1:49-53.
34. Monsod TP, Flanagan DE, Rife F, Saenz R, Caprio S, Sherwin RS, et al. «Do sensor glucose levels accurately predict plasma glucose concentrations during hypoglycemia and hyperinsulinemia?» *Diabetes Care* 2002 ; 25(5):889-93.
35. Renard E. «Implantable closed loop glucose-sensing and insulin delivery: the future for insulin pump therapy.» *Curr Opin Pharmacol* 2002; 2(6):708-16.
36. Weinzimer S, Steil G, Swan K, Dziura J, Kurtz N, Tamborlane W. «Fully Automated Closed-Loop Insulin Delivery Versus Semiautomated Hybrid Control in Pediatric Patients With Type 1 Diabetes Using an Artificial Pancreas .» *Diabetes Care*.2008;31(5):934-9
37. Edlund H. «Pancreatic organogenesis--developmental mechanisms and implications for therapy.» *Nat Rev Genet* 2002; 3(7):524-32.
38. Gruessner AC, Sutherland DE. « Analysis of United States (US) and non-US pancreas transplants as reported to the International Pancreas Transplant Registry (IPTR) and to the United Network for Organ Sharing (UNOS).» *Clin Transpl* 1998:53-73.
39. Lacy PE, Kostianovsky M. «Method for the isolation of intact islets of Langerhans from the rat pancreas.» *Diabetes* 1967; 16(1):35-9.
40. Kemp CB, Knight MJ, Scharp DW, Lacy PE, Ballinger WF. «Transplantation of isolated pancreatic islets into the portal vein of diabetic rat.» *Nature* 1973;244(5416):447.

41. Scharp DW, Murphy JJ, Newton WT, Ballinger WF, Lacy PE. «Transplantation of islets of Langerhans in diabetic rhesus monkeys.» *Surgery* 1975; 77(1):100-5.
42. Ricordi C, Lacy PE, Finke EH, Olack BJ, Scharp DW. «Automated method for isolation of human pancreatic islets.» *Diabetes* 1988;37(4):413-20.
43. Tzakis AG, Ricordi C, Alejandro R, Zeng Y, Fung JJ, Todo S. «Pancreatic islet transplantation after upper abdominal exenteration and liver replacement.» *Lancet* 1990 ; 336(8712): 402-5.
44. Shapiro AM, Lakey JR, Ryan EA, Korbitt GS, Toth E, Warnock GL, et al. «Islet transplantation in seven patients with type 1 diabetes mellitus using a glucocorticoid-free immunosuppressive regimen.» *N Engl J Med* 2000;343(4):230-8.
45. Kin T, Zhai X, Murdoch TB, Salam A, Shapiro AM, Lakey JR. «Enhancing the success of human islet isolation through optimization and characterization of pancreas dissociation enzyme.» *Am J Transplant* 2007;7(5):1233-41.
46. Hubert T, Arnalsteen L, Jany T, Prieur E, Triponez F, Nunes B, et al. «Technique du prélèvement pancréatique pour l'isolement des îlots de Langerhans.» *Ann Chir* 2005;130(6-7):384-90.
47. Linetsky E, Bottino R, Lehmann R, Alejandro R, Inverardi L, Ricordi C. «Improved human islet isolation using a new enzyme blend, liberase.» *Diabetes* 1997;46(7):1120-3.
48. Lakey JR, Helms LM, Kin T, Korbitt GS, Rajotte RV, Shapiro AM, et al. «Serine-protease inhibition during islet isolation increases islet yield from human pancreases with prolonged ischemia .» *Transplantation* 2001 ; 72(4):565-70.
49. Rose NL, Palcic MM, Helms LM, Lakey JR. «Evaluation of Pefabloc as a serine protease inhibitor during human-islet isolation.» *Transplantation* 2003 ; 75(4):462-6.
50. Robertson GS, Chadwick DR, Contractor H, James RF, Bell PR, London NJ. «The use of continuous density gradients for the assessment of islet and

- exocrine tissue densities and islet purification.» *Acta Diabetol* 1993; 30(3):175-80.
51. Kaddis JS, Danobeitia JS, Niland JC, Stiller T, Fernandez LA. «Multicenter analysis of novel and established variables associated with successful human islet isolation outcomes.» *Am J Transplant* 2010; 10(3):646-56.
 52. Cantaluppi V, Biancone L, Romanazzi GM, Figliolini F, Beltramo S, Ninniri MS, et al. «Antiangiogenic and immunomodulatory effects of rapamycin on islet endothelium: relevance for islet transplantation.» *Am J Transplant* 2006; 6(11):2601-11.
 53. Mikos, A.G., Papadaki M.G, Kouvroukoglou S, Ishaug SL, Thomson R.C. «Mini review: Islet transplantation to create a bioartificial pancreas .» *Biotechnol Bioeng* 1994 43(7):673-7.
 54. Lanza RP, Beyer AM, Chick WL. « Xenogenic humoral responses to islets transplanted in biohybrid diffusion chambers.» *Transplantation* 1994; 57(9):1371-5.
 55. Lacy PE, Hegre OD, Gerasimidi-Vazeou A, Gentile FT, Dionne KE. «Maintenance of normoglycemia in diabetic mice by subcutaneous xenografts of encapsulated islets.» *Science* 1991; 254(5039):1782-4.
 56. O'Sullivan ES, Vegas A, Anderson DG, Weir GC. «Islets Transplanted in Immunoisolation Devices: A Review of the Progress and the Challenges that Remain.» *Endocr Rev* 2011; 32(6):827-44.
 57. Sordi V, Melzi R, Mercalli A, Formicola R, Doglioni C, Tiboni F, et al. «Mesenchymal cells appearing in pancreatic tissue culture are bone marrow_derived stem cells with the capacity to improve transplanted islet function.» *Stem Cells* 2010; 28(1):140-51.
 58. Jourdan G, Dusseault J, Benhamou PY, Rosenberg L, Hallé JP. «Co-encapsulation of bioengineered IGF-II-producing cells and pancreatic islets: effect on beta-cell survival.» *Gene Ther* 2011;18(6):539-45.
 59. van der Windt DJ, Bottino R, Casu A, Campanile N, Smetanka C, He J et al. «Long-Term Controlled Normoglycemia in Diabetic Non-Human Primates

- After Transplantation with hCD46 Transgenic Porcine Islets.» *Am J Transplant* 2009;9(12):2716-26.
60. Rood PP, Cooper DK. «Islet Xenotransplantation: Are We Really Ready for clinical trials.» *Am J Transplant* 2006; 6(6):1269-74.
 61. Li WC, Horb ME, Tosh D, Slack JM. «In vitro transdifferentiation of hepatoma cells into functional pancreatic cells.» *Mech Dev* 2005;122(6):835-47.
 62. Ferber S, Halkin A, Cohen H, Ber I, Einav Y, Goldberg I, et al. «Pancreatic and duodenal homeobox gene 1 induces expression of insulin genes in liver and ameliorates streptozotocin-induced hyperglycemia.» *Nat Med* 2000; 6(5):568-72.
 63. Blau HM, Brazelton TR, Weimann JM. «The evolving concept of a stem cell: entity or function?» *Cell* 2001; 105(7):829-41.
 64. Ianus A, Holz GG, Theise ND, Hussain MA. « In vivo derivation of glucose-competent pancreatic endocrine cells from bone marrow without evidence of cell fusion.» *J Clin Invest* 2003; 111(6):843-50.
 65. Hess D, Li L, Martin M, Sakano S, Hill D, Strutt B, Thyssen S, et al. «Bone marrow-derived stem cells initiate pancreatic regeneration.» *Nat Biotechnol* 2003; 21(7):763-70.
 66. Milanesi A, Lee JW, Li Z, Da Sacco S, Villani V, et al. « β -Cell regeneration mediated by human bone marrow mesenchymal stem cells.» *PLoS One* 2012;7(8):e42177.
 67. Jiang J, Au M, Lu K, Eshpeter A, Korbitt G, Fisk G, et al. «Generation of insulin-producing islet-like clusters from human embryonic stem cells.» *Stem Cells* 2007;25(8):1940-53.
 68. Hori Y, Rulifson IC, Tsai BC, Heit JJ, Cahoy JD, Kim SK. «Growth inhibitors promote differentiation of insulin-producing tissue from embryonic stem cells.» *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2002; 99(25):16105-10.
 69. Afrikanova I, Yebra M, Simpkinson M, Xu Y, Hayek A, Montgomery A. «Inhibitors of Src and focal adhesion kinase promote endocrine specification:

- impact on the derivation of β -cells from human pluripotent stem cells.» *J Biol Chem* 2011;286(41):36042-52.
70. Blyszczuk P, Czyz J, Kania G, Wagner M, Roll U, St-Onge L, et al. «Expression of Pax4 in embryonic stem cells promotes differentiation of nestin-positive progenitor and insulin-producing cells.» *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2003;100(3):998-1003.
 71. Yatoh S, Dodge R, Akashi T, Omer A, Sharma A, Weir GC, et al. «Differentiation of affinity-purified human pancreatic duct cells to beta-cells.» *Diabetes*. 2007;56(7):1802-9.
 72. Heremans Y, Van De Casteele M, in't Veld P, Gradwohl G, Serup P, Madsen O, et al. «Recapitulation of embryonic neuroendocrine differentiation in adult human pancreatic duct cells expressing neurogenin 3.» *J Cell Biol*. 2002;159(2):303-12.
 73. Collombat P, Mansouri A. «Conversion de cellules alpha pancréatiques en cellules bêta.» *Med Sci (Paris)* 2009;25(8-9):763-5.
 74. Gu G, Dubauskaite J, Melton DA. «Direct evidence for the pancreatic lineage: NGN3+ cells are islet progenitors and are distinct from duct progenitors.» *Development* 2002;129(10):2447-57.
 75. Rieck S, Kaestner KH. «Expansion of beta-cell mass in response to pregnancy.» *Trends Endocrinol Metab*. 2010;21(3):151-8.

Livres et thèses

76. Grimaldi A, dir. «Traité de Diabétologie .» 2^e éd. Médecine-Sciences ; 2009.
77. Caulin C, dir. « Vidal recos .» 3^e éd. Vidal ;2009.
78. Vandamme T, Poncelet D, Subra-Paternault P. «Microencapsulation.» *TEC&DOC* ; 2007.
79. Sauret V. «Isolement d'îlots de Langerhans humains : mise au point du procédé et établissement du dossier selon la réglementation en vigueur (arrêté du 23 janvier 2003, JO n° 29 du 4 février 2003).» *Lyon Univ.* ;2003.

80. Agrawal A. «Optimizing pancreas preservation for islet transplantation: mechanisms and bioenergetics of the two-layer method. » London Univ.; 2010.

Documents électroniques

81. OMS. Le diabète. WHO. 2012. [consulté le 8 Novembre 2012] ; Disponible en ligne : <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs312/fr/index.html>
82. International Diabetes Federation. . [consulté le 8 Novembre 2012] ; Disponible en ligne : <http://www.idf.org/diabetesatlas/5e/Update2012>
83. Association de Langue Française pour l'Etude du Diabète et des Maladies Métaboliques. Grossesse et contraception chez la femme diabétique. Diabète gestationnel. 1996. [consulté le 8 Novembre 2012] ; Disponible en ligne : <http://www.alfediam.org/membres/recommandations/alfediam-grossesse.asp>
84. Collège national des gynécologues et obstétriciens français. Diabète et grossesse. 2006. [consulté le 8 Novembre 2012] ; Disponible en ligne : http://www.cngof.asso.fr/D_PAGES/PURPC_01.HTM
85. Arleo Eye Associates. 2012. [consulté le 27 Novembre 2012] ; Disponible en ligne : http://arleoeye.com/?page_id=88.2012.
86. Podo-Orthèse, SARL Boucharenc. [consulté le 25 Novembre 2012] ; Disponible en ligne : <http://www.podo-orthese.com/pied-diabetique-3.htm>
87. Societe Luxembourgeoise de la Chirurgie Vasculaire. [consulté le 25 Novembre 2012] ; Disponible en ligne : <http://vascular-surgery-luxembourg.org/>
88. Biotronik. [consulté le 25 Novembre 2012] ; Disponible en ligne : <http://www.biotronik.com>
89. [consulté le 28 Novembre 2012] ; Disponible en ligne : <http://solutionsgreffe.wifeo.com>

90. Lang J, Renaud S, Catargi B. 12 avril 2012. [consulté le 11 Novembre 2012] ; Disponible en ligne : <http://www.allodocteurs.fr/actualite-sante-diabete-et-autonomie-les-dernieres-innovations-6881.asp?1=1>
91. IIDP: Integrated Islet Distribution Programm . [consulté le 11 Novembre 2012] ; Disponible en ligne : <http://iidp.coh.org/docs/CountingBrochure.pdf>
92. [consulté le 14 Novembre 2012] ; Disponible en ligne : <http://biomed.brown.edu>
93. [consulté le 11 Novembre 2012] ; Disponible en ligne : <http://www.citregistry.org/>
94. agence de biomédecine. [consulté le 28 Novembre 2012] ; Disponible en ligne : <http://www.biobanques.fr/spip/spip.php?article95>
95. [consulté le 18 Novembre 2012] ; Disponible en ligne : <http://www.ircm.qc.ca>
96. Ferry N, ANSM. [consulté le 20 Novembre 2012] ; Disponible en ligne : www.atlanpolebiotherapies.com

Cours

97. Grimaldi A. «Diabétologie Questions INTERNAT. Université Pierre et Marie Curie 2000.
98. Persoons V. «Production, contrôles qualité, et évaluation d'une préparation d'îlots de Langerhans. » Cours faculté de pharmacie : 8/11/2011.
99. Benhamou PY. «Thérapies Innovantes du Diabète de Type1.» Cours faculté de pharmacie : 2012.

RÈGLEMENT (CE) N° 1394/2007 DU PARLEMENT EUROPÉEN ET DU CONSEIL

du 13 novembre 2007

concernant les médicaments de thérapie innovante et modifiant la directive 2001/83/CE ainsi que le règlement (CE) n° 726/2004

(Texte présentant de l'intérêt pour l'EEE)

LE PARLEMENT EUROPÉEN ET LE CONSEIL DE L'UNION EUROPÉENNE,

vu le traité instituant la Communauté européenne, et notamment son article 95,

vu la proposition de la Commission,

vu l'avis du Comité économique et social européen ⁽¹⁾,

après consultation du Comité des régions,

statuant conformément à la procédure visée à l'article 251 du traité ⁽²⁾,

considérant ce qui suit:

- (1) Des progrès scientifiques récents en biotechnologie cellulaire et moléculaire ont conduit à la mise au point de thérapies innovantes, telles que la thérapie génique, la thérapie cellulaire somatique ou l'ingénierie tissulaire. Cette discipline naissante, la biomédecine, offre de nouvelles possibilités de traitement des maladies et des dysfonctionnements du corps humain.
- (2) Dans la mesure où les produits de thérapie innovante sont présentés comme ayant des propriétés curatives ou préventives à l'égard des maladies humaines, ou comme pouvant être utilisés chez l'homme ou administrés à celui-ci en vue de restaurer, corriger ou modifier des fonctions physiologiques en exerçant une action principalement pharmacologique, immunologique ou métabolique, ils constituent des médicaments biologiques au sens de l'annexe I de la directive 2001/83/CE du Parlement européen et du Conseil du 6 novembre 2001 instituant un code communautaire relatif aux médicaments à usage humain ⁽³⁾, lue conjointement avec la définition des médicaments reprise à l'article 1^{er}, point 2, de ladite directive. En conséquence, toute réglementation régissant leur production, leur distribution ou leur utilisation doit avoir comme objectif essentiel la sauvegarde de la santé publique.
- (3) Pour des raisons de clarté, les produits thérapeutiques complexes doivent avoir une définition juridique précise. Les médicaments de thérapie génique et les médicaments de thérapie cellulaire somatique ont été définis à l'annexe I de

la directive 2001/83/CE, mais il n'y a pas encore de définition juridique des produits issus de l'ingénierie tissulaire. Lorsque les produits sont réalisés à partir de cellules ou tissus viables, l'action pharmacologique, immunologique ou métabolique doit être considérée comme le mode d'action principal. Il convient également de préciser que les produits qui ne répondent pas à la définition de médicament, comme les produits composés exclusivement de matériaux non viables dont l'action essentielle est obtenue par des moyens physiques, ne peuvent être, par définition, des médicaments de thérapie innovante.

- (4) Selon la directive 2001/83/CE et les directives relatives aux dispositifs médicaux, la base utilisée pour déterminer le régime réglementaire applicable aux combinaisons de médicaments et de dispositifs médicaux est le mode d'action principal du produit combiné. Cependant, la complexité des médicaments combinés de thérapie innovante contenant des cellules ou des tissus viables impose une démarche spécifique. Pour ces produits, quel que soit le rôle du dispositif médical, l'action pharmacologique, immunologique ou métabolique de ces cellules ou tissus doit être considérée comme le mode d'action principal du produit combiné. Ces produits combinés doivent toujours être régis par le présent règlement.
- (5) En raison de la nouveauté, de la complexité et de la spécificité technique des médicaments de thérapie innovante, des règles harmonisées adéquates sont nécessaires pour assurer leur libre circulation dans la Communauté et le bon fonctionnement du marché intérieur dans le secteur de la biotechnologie.
- (6) Le présent règlement est une *lex specialis* qui introduit des dispositions complétant celles qui sont énoncées dans la directive 2001/83/CE. Son objet devrait consister à réglementer les médicaments de thérapie innovante qui sont destinés à être mis sur le marché dans les États membres et sont préparés industriellement ou fabriqués selon une méthode dans laquelle intervient un processus industriel, conformément à l'objet général de la législation pharmaceutique communautaire défini au titre II de la directive 2001/83/CE. Il convient d'exclure du champ d'application du présent règlement les médicaments de thérapie innovante qui sont préparés de façon ponctuelle, selon des normes de qualité spécifiques, et utilisés au sein du même État membre, dans un hôpital, sous la responsabilité professionnelle exclusive d'un médecin, pour exécuter une prescription médicale déterminée pour un produit spécialement conçu à l'intention d'un malade déterminé, tout en veillant à ce qu'il ne soit pas porté atteinte aux règles communautaires applicables en matière de qualité et de sécurité.

⁽¹⁾ JO C 309 du 16.12.2006, p. 15.⁽²⁾ Avis du Parlement européen du 25 avril 2007 (non encore paru au Journal officiel) et décision du Conseil du 30 octobre 2007.⁽³⁾ JO L 311 du 28.11.2001, p. 67. Directive modifiée en dernier lieu par le règlement (CE) n° 1901/2006 (JO L 378 du 27.12.2006, p. 1).

- (7) Il importe que la réglementation des médicaments de thérapie innovante au niveau communautaire ne porte pas atteinte aux décisions prises par les États membres concernant l'opportunité d'autoriser l'utilisation de tel ou tel type de cellules humaines, par exemple les cellules souches embryonnaires, ou de cellules animales. Il convient qu'elle n'influence pas non plus l'application des législations nationales interdisant ou limitant la vente, la distribution ou l'utilisation de médicaments contenant de telles cellules, consistant dans de telles cellules ou issus de celles-ci.
- (8) Le présent règlement respecte les droits fondamentaux et observe les principes inscrits dans la Charte des droits fondamentaux de l'Union européenne et tient également compte de la convention du Conseil de l'Europe pour la protection des droits de l'homme et de la dignité de l'être humain à l'égard des applications de la biologie et de la médecine: convention sur les droits de l'homme et la biomédecine.
- (9) Tous les autres médicaments biotechnologiques modernes actuellement réglementés au niveau communautaire sont déjà soumis à une procédure centralisée d'autorisation, qui prévoit une évaluation scientifique unique de la qualité, de la sécurité et de l'efficacité du produit, réalisée selon les exigences les plus strictes par l'Agence européenne des médicaments instituée par le règlement (CE) n° 726/2004 du Parlement européen et du Conseil du 31 mars 2004 établissant des procédures communautaires pour l'autorisation et la surveillance en ce qui concerne les médicaments à usage humain et à usage vétérinaire, et instituant une Agence européenne des médicaments⁽¹⁾ (ci-après dénommée «l'Agence»). Il y a lieu que cette procédure soit également obligatoire pour les médicaments de thérapie innovante afin de pallier la pénurie d'expertise dans la Communauté, d'assurer un niveau élevé d'évaluation scientifique de ces médicaments dans la Communauté, de préserver la confiance des patients et des professions médicales dans l'évaluation et de faciliter l'accès de ces technologies novatrices au marché communautaire.
- (10) L'évaluation des médicaments de thérapie innovante demande souvent une expertise très spécifique, qui va au-delà du domaine pharmaceutique traditionnel et comprend des aspects à la frontière d'autres disciplines, telles que la biotechnologie et les dispositifs médicaux. C'est pourquoi il convient de créer, au sein de l'Agence, un comité des thérapies innovantes, qui serait chargé de préparer un projet d'avis sur la qualité, la sécurité et l'efficacité de chaque produit de thérapie innovante soumis à l'approbation finale du comité des médicaments à usage humain de l'Agence. En outre, le comité des thérapies innovantes devrait également être consulté pour l'évaluation de tout autre médicament nécessitant une expertise spécifique relevant de son domaine de compétence.
- (11) Il convient que ce comité des thérapies innovantes rassemble la meilleure expertise disponible en matière de médicaments de thérapie innovante dans la Communauté. Il y a
- lieu que la composition du comité des thérapies innovantes couvre de façon appropriée des domaines scientifiques en rapport avec celles-ci, y compris la thérapie génique, la thérapie cellulaire, l'ingénierie tissulaire, les dispositifs médicaux, la pharmacovigilance et l'éthique. Les associations de patients et les cliniciens ayant une expérience scientifique des médicaments de thérapie innovante devraient également être représentés.
- (12) Afin de garantir la cohérence scientifique et l'efficacité du système, il convient que l'Agence assure la coordination entre le comité des thérapies innovantes et ses autres comités, groupes consultatifs et groupes de travail, notamment le comité des médicaments à usage humain, le comité des médicaments orphelins et le groupe «avis scientifique».
- (13) Il importe que les médicaments de thérapie innovante soient soumis aux mêmes principes réglementaires que les autres types de médicaments biotechnologiques. Cependant, les exigences techniques peuvent être très spécifiques, notamment le type et la quantité de données de qualité ainsi que de données précliniques et cliniques nécessaires pour démontrer la qualité, la sécurité et l'efficacité du produit. Si ces exigences sont déjà définies à l'annexe I de la directive 2001/83/CE dans le cas des médicaments de thérapie génique et des médicaments de thérapie cellulaire somatique, elles doivent encore l'être pour ce qui est des produits issus de l'ingénierie tissulaire. Il convient de le faire selon une procédure comportant suffisamment de souplesse pour tenir compte aisément de l'évolution rapide de la science et de la technologie.
- (14) La directive 2004/23/CE du Parlement européen et du Conseil⁽²⁾ établit des normes de qualité et de sécurité pour le don, l'obtention, le contrôle, la transformation, la conservation, le stockage et la distribution des tissus et cellules humains. Le présent règlement ne devrait pas déroger aux principes fondamentaux énoncés dans la directive 2004/23/CE, mais devrait les compléter, le cas échéant, par des exigences supplémentaires. Lorsqu'un médicament de thérapie innovante contient des cellules ou des tissus humains, il y a lieu que la directive 2004/23/CE ne s'applique qu'en ce qui concerne le don, l'obtention et le contrôle, les autres aspects étant couverts par le présent règlement.
- (15) En matière de don de cellules ou tissus humains, il convient de respecter les principes tels que l'anonymat du donneur et du receveur, l'altruisme du donneur et la solidarité entre donneur et receveur. En principe, les cellules ou tissus humains contenus dans les médicaments de thérapie innovante doivent provenir de dons volontaires et non rémunérés. Les États membres devraient être invités à prendre toutes les mesures nécessaires pour encourager le secteur public et le secteur non lucratif à contribuer fortement à l'obtention de cellules ou de tissus humains, étant donné que les dons de tissus et cellules, volontaires et non rémunérés, sont de nature à contribuer au relèvement des normes de sécurité des tissus et cellules et, partant, à la protection de la santé humaine.

⁽¹⁾ JO L 136 du 30.4.2004, p. 1. Règlement modifié par le règlement (CE) n° 1901/2006.

⁽²⁾ JO L 102 du 7.4.2004, p. 48.

- (16) Il convient que les essais cliniques des médicaments de thérapie innovante soient menés conformément aux principes généraux et aux exigences éthiques énoncés dans la directive 2001/20/CE du Parlement européen et du Conseil du 4 avril 2001 concernant le rapprochement des dispositions législatives, réglementaires et administratives des États membres relatives à l'application de bonnes pratiques cliniques dans la conduite d'essais cliniques de médicaments à usage humain ⁽¹⁾. Toutefois, la directive 2005/28/CE de la Commission du 8 avril 2005 fixant des principes et des lignes directrices détaillées relatifs à l'application de bonnes pratiques cliniques en ce qui concerne les médicaments expérimentaux à usage humain, ainsi que les exigences pour l'octroi de l'autorisation de fabriquer ou d'importer ces médicaments ⁽²⁾, devrait être adaptée par l'adoption de règles particulières afin de tenir pleinement compte des caractéristiques techniques spécifiques des médicaments de thérapie innovante.
- (17) Il importe que la fabrication de médicaments de thérapie innovante soit conforme aux principes des bonnes pratiques de fabrication, tels que définis par la directive 2003/94/CE de la Commission du 8 octobre 2003 établissant les principes et lignes directrices de bonnes pratiques de fabrication concernant les médicaments à usage humain et les médicaments expérimentaux à usage humain ⁽³⁾, principes adaptés, le cas échéant, pour tenir compte de la nature spécifique de ces médicaments. En outre, il convient de définir des lignes directrices spécifiques aux médicaments de thérapie innovante, de manière à refléter correctement la nature particulière de leur processus de fabrication.
- (18) Les médicaments de thérapie innovante peuvent inclure des dispositifs médicaux ou des dispositifs médicaux implantables actifs. Ces dispositifs devraient satisfaire aux exigences essentielles énoncées respectivement dans la directive 93/42/CEE du Conseil du 14 juin 1993 relative aux dispositifs médicaux ⁽⁴⁾ et dans la directive 90/385/CEE du Conseil du 20 juin 1990 concernant le rapprochement des législations des États membres relatives aux dispositifs médicaux implantables actifs ⁽⁵⁾, afin qu'un niveau de qualité et de sécurité suffisant soit assuré. Les résultats de l'évaluation du dispositif médical ou du dispositif médical implantable actif par un organisme notifié conformément à ces directives devraient être reconnus par l'Agence dans l'évaluation d'un médicament combiné de thérapie innovante effectuée au titre du présent règlement.
- (19) Les exigences de la directive 2001/83/CE relatives au résumé des caractéristiques du produit, à l'étiquetage et à la notice devraient être adaptées aux spécificités techniques des médicaments de thérapie innovante par l'adoption de règles particulières relatives à ces produits. Ces règles devraient respecter pleinement le droit des patients de connaître l'origine des cellules ou tissus utilisés dans la préparation des médicaments de thérapie innovante, l'anonymat du donneur devant toutefois être respecté.
- (20) Le suivi de l'efficacité et des effets indésirables est un aspect fondamental de la réglementation des médicaments de thérapie innovante. Le demandeur devrait donc préciser, dans sa demande d'autorisation de mise sur le marché, si des mesures sont envisagées pour assurer ce suivi et, le cas échéant, lesquelles. Lorsque des raisons de santé publique le justifient, il y a lieu que le titulaire de l'autorisation de mise sur le marché soit également tenu de mettre en place un système approprié de gestion des risques afin de traiter les risques liés aux médicaments de thérapie innovante.
- (21) Le fonctionnement du présent règlement requiert l'établissement de lignes directrices soit par l'Agence soit par la Commission. Il y a lieu de procéder à une consultation ouverte à toutes les parties intéressées, en particulier les autorités des États membres et l'industrie, afin de permettre la mise en commun des compétences, limitées dans ce domaine, et de garantir la proportionnalité. Les lignes directrices sur l'application de bonnes pratiques cliniques et de fabrication devraient être établies dans les plus brefs délais, de préférence au cours de la première année suivant l'entrée en vigueur du présent règlement et avant sa date d'application.
- (22) Un système permettant une traçabilité complète du patient, du produit et de ses matières de départ est essentiel au suivi de la sécurité des médicaments de thérapie innovante. Il convient que l'établissement et la mise en œuvre de ce système soient réalisés de manière à assurer la cohérence et la compatibilité avec les exigences de traçabilité contenues dans la directive 2004/23/CE pour ce qui est des cellules et tissus humains, et dans la directive 2002/98/CE du Parlement européen et du Conseil du 27 janvier 2003 établissant des normes de qualité et de sécurité pour la collecte, le contrôle, la transformation, la conservation et la distribution du sang humain, et des composants sanguins ⁽⁶⁾. Il importe que le système de traçabilité respecte également les dispositions de la directive 95/46/CE du Parlement européen et du Conseil du 24 octobre 1995 relative à la protection des personnes physiques à l'égard du traitement des données à caractère personnel et à la libre circulation de ces données ⁽⁷⁾.
- (23) Comme la science évolue très rapidement dans ce domaine, il convient que les entreprises qui mettent au point des médicaments de thérapie innovante puissent demander des avis scientifiques à l'Agence, y compris en ce qui concerne les activités postérieures à l'autorisation. À titre d'incitation, il importe de maintenir au minimum la redevance due pour de tels conseils scientifiques par les petites et moyennes entreprises et de la réduire pour d'autres demandeurs.

⁽¹⁾ JO L 121 du 1.5.2001, p. 34. Directive modifiée par le règlement (CE) n° 1901/2006.

⁽²⁾ JO L 91 du 9.4.2005, p. 13.

⁽³⁾ JO L 262 du 14.10.2003, p. 22.

⁽⁴⁾ JO L 169 du 12.7.1993, p. 1. Directive modifiée en dernier lieu par la directive 2007/47/CE du Parlement européen et du Conseil (JO L 247 du 21.9.2007, p. 21).

⁽⁵⁾ JO L 189 du 20.7.1990, p. 17. Directive modifiée en dernier lieu par la directive 2007/47/CE.

⁽⁶⁾ JO L 33 du 8.2.2003, p. 30.

⁽⁷⁾ JO L 281 du 23.11.1995, p. 31. Directive modifiée par le règlement (CE) n° 1882/2003 (JO L 284 du 31.10.2003, p. 1).

- (24) Il convient que l'Agence soit habilitée à formuler des recommandations scientifiques portant sur la conformité avec les critères scientifiques qui définissent les médicaments de thérapie innovante d'un produit donné à base de gènes, de cellules ou de tissus, afin d'identifier, le plus tôt possible, les questions concernant la délimitation de la frontière avec d'autres domaines, tels que les cosmétiques ou les dispositifs médicaux, susceptibles de se poser à mesure que la science évolue. Compte tenu de ses compétences uniques, le comité des thérapies innovantes devrait jouer un rôle essentiel dans la fourniture de ces conseils.
- (25) Les études nécessaires pour démontrer la qualité et la sécurité non clinique des médicaments de thérapie innovante sont souvent réalisées par des petites et moyennes entreprises. Afin d'inciter à la réalisation de ces études, il convient d'introduire un système d'évaluation et de certification des résultats desdites études par l'Agence, indépendamment de toute demande d'autorisation de mise sur le marché. Quand bien même la certification ne serait pas juridiquement contraignante, ce système devrait aussi viser à faciliter l'évaluation de toute demande ultérieure d'essais cliniques et d'autorisation de mise sur le marché reposant sur les mêmes données.
- (26) Afin de tenir compte des développements scientifiques et techniques, la Commission devrait être habilitée à adopter toute modification nécessaire des exigences techniques applicables aux demandes d'autorisation de mise sur le marché de médicaments de thérapie innovante, au résumé des caractéristiques du produit, à l'étiquetage et à la notice. La Commission devrait veiller à ce que les informations utiles concernant les mesures envisagées soient mises à la disposition des parties intéressées sans retard.
- (27) Il convient de prévoir des dispositions en vue de l'établissement d'un rapport sur la mise en œuvre du présent règlement à la lumière de l'expérience acquise, une attention particulière étant accordée aux différents types de médicaments de thérapie innovante autorisés.
- (28) Les avis du comité scientifique des médicaments et des dispositifs médicaux, en ce qui concerne l'ingénierie tissulaire, et du groupe européen d'éthique des sciences et des nouvelles technologies ont été pris en considération, ainsi que l'expérience internationale dans ce domaine.
- (29) Il y a lieu d'arrêter les mesures nécessaires pour la mise en œuvre du présent règlement en conformité avec la décision 1999/468/CE du Conseil du 28 juin 1999 fixant les modalités de l'exercice des compétences d'exécution conférées à la Commission ⁽¹⁾.
- (30) Il convient en particulier d'habiliter la Commission à adopter les modifications aux annexes I à IV du présent règlement et à l'annexe I de la directive 2001/83/CE. Ces mesures ayant une portée générale et ayant pour objet de modifier des éléments non essentiels du présent règlement

et de la directive 2001/83/CE, elles doivent être arrêtées selon la procédure de réglementation avec contrôle prévue à l'article 5 bis de la décision 1999/468/CE. Ces mesures étant indispensables au bon fonctionnement de l'ensemble du cadre réglementaire, elles devraient être adoptées dans les plus brefs délais.

- (31) Il convient donc de modifier en conséquence la directive 2001/83/CE et le règlement (CE) n° 726/2004,

ONT ARRÊTÉ LE PRÉSENT RÈGLEMENT:

CHAPITRE 1

OBJET ET DÉFINITIONS

Article premier

Objet

Le présent règlement établit des règles spécifiques pour l'autorisation, la surveillance et la pharmacovigilance en ce qui concerne les médicaments de thérapie innovante.

Article 2

Définitions

1. Outre les définitions figurant à l'article 1^{er} de la directive 2001/83/CE et à l'article 3, points a) à l) et o) à q), de la directive 2004/23/CE, les définitions suivantes s'appliquent aux fins du présent règlement:

- a) «médicament de thérapie innovante»: l'un des médicaments à usage humain suivants:
- un médicament de thérapie génique tel que défini dans l'annexe I, partie IV, de la directive 2001/83/CE,
 - un médicament de thérapie cellulaire somatique tel que défini dans l'annexe I, partie IV, de la directive 2001/83/CE,
 - un produit issu de l'ingénierie tissulaire tel que défini au point b);
- b) «produit issu de l'ingénierie tissulaire»: un produit:
- qui contient des cellules ou tissus issus de l'ingénierie cellulaire ou tissulaire, ou en est constitué, et
 - qui est présenté comme possédant des propriétés lui permettant de régénérer, réparer ou remplacer un tissu humain, ou est utilisé chez l'être humain ou administré à celui-ci dans ce but.

Un produit issu de l'ingénierie tissulaire peut contenir des cellules ou des tissus d'origine humaine ou d'origine animale, ou les deux. Les cellules ou tissus peuvent être viables ou non viables. Il peut également contenir des substances supplémentaires, telles que des produits cellulaires, des biomolécules, des biomatériaux, des substances chimiques, des supports ou des matrices.

⁽¹⁾ JO L 184 du 17.7.1999, p. 23. Décision modifiée par la décision 2006/512/CE (JO L 200 du 22.7.2006, p. 11).

Les produits contenant ou consistant exclusivement en des cellules et/ou des tissus humains ou animaux non viables, qui ne comprennent pas de cellule ou tissu viable et dont l'action principale n'est pas obtenue par des moyens pharmacologiques, immunologiques ou métaboliques, sont exclus de la présente définition;

c) sont considérés comme «issus de l'ingénierie cellulaire ou tissulaire» les cellules ou tissus qui répondent à au moins l'une des conditions suivantes:

- les cellules ou tissus ont été soumis à une manipulation substantielle, de façon à obtenir des caractéristiques biologiques, des fonctions physiologiques ou des propriétés structurelles utiles à la régénération, à la réparation ou au remplacement recherchés. Les manipulations énumérées à l'annexe I, en particulier, ne sont pas considérées comme des manipulations substantielles,
- les cellules ou les tissus ne sont pas destinés à être utilisés pour la (les) même(s) fonction(s) essentielle(s) chez le receveur et chez le donneur;

d) «médicament combiné de thérapie innovante»: un médicament de thérapie innovante qui satisfait aux conditions suivantes:

- il doit incorporer comme partie intégrante un ou plusieurs dispositifs médicaux au sens de l'article 1^{er}, paragraphe 2, point a), de la directive 93/42/CEE, ou bien un ou plusieurs dispositifs médicaux implantables actifs au sens de l'article 1^{er}, paragraphe 2, point c), de la directive 90/385/CEE, et
- sa partie cellulaire ou tissulaire doit contenir des cellules ou des tissus viables, ou
- sa partie cellulaire ou tissulaire contenant des cellules ou des tissus non viables doit être susceptible d'avoir sur le corps humain une action qui peut être considérée comme essentielle par rapport à celle des dispositifs précités.

2. Quand un produit contient des cellules ou tissus viables, l'action pharmacologique, immunologique ou métabolique de ces cellules ou tissus doit être considérée comme le mode d'action principal du produit.

3. Un médicament de thérapie innovante contenant à la fois des cellules ou tissus autologues (provenant du patient lui-même) et des cellules ou tissus allogéniques (provenant d'un autre être humain) est considéré comme étant à usage allogénique.

4. Un produit qui peut répondre à la fois à la définition de «produit issu de l'ingénierie tissulaire» et à celle de «médicament de thérapie cellulaire somatique» est considéré comme un produit issu de l'ingénierie tissulaire.

5. Un produit susceptible de relever de la définition:

- de «médicament de thérapie cellulaire somatique» ou de «produit issu de l'ingénierie tissulaire», et
- de «médicament de thérapie génique»,

est considéré comme médicament de thérapie génique.

CHAPITRE 2

EXIGENCES EN MATIÈRE D'AUTORISATION DE MISE SUR LE MARCHÉ

Article 3

Don, obtention et contrôle

Lorsqu'un médicament de thérapie innovante contient des cellules ou tissus humains, le don, l'obtention et le contrôle de ces cellules ou tissus sont effectués conformément à la directive 2004/23/CE.

Article 4

Essais cliniques

1. Les règles établies à l'article 6, paragraphe 7, ainsi qu'à l'article 9, paragraphes 4 et 6, de la directive 2001/20/CE en ce qui concerne les médicaments de thérapie génique et de thérapie cellulaire somatique s'appliquent aux produits issus de l'ingénierie tissulaire.

2. Après avoir consulté l'Agence, la Commission formule des lignes directrices détaillées relatives à l'application de bonnes pratiques cliniques en ce qui concerne spécifiquement les médicaments de thérapie innovante.

Article 5

Bonnes pratiques de fabrication

Après avoir consulté l'Agence, la Commission formule des lignes directrices en conformité avec les principes des bonnes pratiques de fabrication et concernant spécifiquement les médicaments de thérapie innovante.

Article 6

Questions spécifiques aux dispositifs médicaux

1. Tout dispositif médical faisant partie d'un médicament combiné de thérapie innovante répond aux exigences essentielles énoncées à l'annexe I de la directive 93/42/CEE.

2. Tout dispositif médical implantable actif faisant partie d'un médicament combiné de thérapie innovante répond aux exigences essentielles énoncées à l'annexe I de la directive 90/385/CEE.

Article 7

Exigences spécifiques concernant les médicaments de thérapie innovante contenant des dispositifs

Outre les exigences figurant à l'article 6, paragraphe 1, du règlement (CE) n° 726/2004, les demandes d'autorisation concernant un médicament de thérapie innovante contenant des dispositifs médicaux, des biomatériaux, des supports ou des matrices incluent une description des caractéristiques physiques et du fonctionnement dudit produit, ainsi qu'une description de ses méthodes de conception, conformément à l'annexe I de la directive 2001/83/CE.

CHAPITRE 3

PROCÉDURE D'AUTORISATION DE MISE SUR LE MARCHÉ

Article 8

Procédure d'évaluation

1. Le comité des médicaments à usage humain consulte le comité des thérapies innovantes sur toute évaluation scientifique des médicaments de thérapie innovante nécessaire à la formulation des avis scientifiques visés à l'article 5, paragraphes 2 et 3, du règlement (CE) n° 726/2004. Le comité des thérapies innovantes est également consulté en cas de réexamen d'un avis conformément à l'article 9, paragraphe 2, du règlement (CE) n° 726/2004.

2. Lorsqu'il prépare un projet d'avis soumis à l'approbation finale du comité des médicaments à usage humain, le comité des thérapies innovantes s'emploie à parvenir à un consensus scientifique. Si un tel consensus n'est pas possible, le comité des thérapies innovantes adopte la position de la majorité de ses membres. Le projet d'avis mentionne les opinions divergentes et les raisons qui les motivent.

3. Le projet d'avis formulé par le comité des thérapies innovantes au titre du paragraphe 1 est transmis en temps utile au président du comité des médicaments à usage humain, de sorte que le délai fixé à l'article 6, paragraphe 3, ou à l'article 9, paragraphe 2, du règlement (CE) n° 726/2004 puisse être respecté.

4. Lorsque l'avis scientifique concernant un médicament de thérapie innovante formulé par le comité des médicaments à usage humain en vertu de l'article 5, paragraphes 2 et 3, du règlement (CE) n° 726/2004 n'est pas conforme au projet d'avis du comité des thérapies innovantes, le comité des médicaments à usage humain annexe à son avis une explication circonstanciée des raisons scientifiques ayant motivé les différences.

5. L'Agence établit des procédures spécifiques pour l'application des paragraphes 1 à 4.

Article 9

Médicaments combinés de thérapie innovante

1. Dans le cas d'un médicament combiné de thérapie innovante, l'ensemble du produit fait l'objet d'une évaluation finale par l'Agence.

2. La demande d'autorisation de mise sur le marché d'un médicament combiné de thérapie innovante inclut les éléments prouvant la conformité avec les exigences essentielles visées à l'article 6.

3. La demande d'autorisation de mise sur le marché d'un médicament combiné de thérapie innovante inclut, lorsqu'ils sont disponibles, les résultats de l'évaluation par un organisme notifié conformément à la directive 93/42/CEE ou à la directive 90/385/CEE de la partie du dispositif médical ou de la partie du dispositif médical implantable actif.

L'Agence reconnaît les résultats obtenus à cette occasion dans son évaluation du médicament concerné.

L'Agence peut demander à l'organisme notifié de lui transmettre toute information relative aux résultats de l'évaluation qu'il a réalisée. L'organisme notifié communique ces informations dans un délai d'un mois.

Si la demande n'inclut pas les résultats de l'évaluation, l'Agence peut demander un avis sur la conformité du dispositif médical avec les exigences de l'annexe I de la directive 93/42/CEE ou de l'annexe 1 de la directive 90/385/CEE à un organisme notifié identifié avec le concours du demandeur, à moins que le comité des thérapies innovantes, conseillé par ses experts en dispositifs médicaux, ne décide qu'il n'est pas nécessaire de faire intervenir un organisme notifié.

CHAPITRE 4

RÉSUMÉ DES CARACTÉRISTIQUES DU PRODUIT, ÉTIQUETAGE ET NOTICE

Article 10

Résumé des caractéristiques du produit

Par dérogation à l'article 11 de la directive 2001/83/CE, le résumé des caractéristiques du produit, dans le cas des médicaments de thérapie innovante, contient les informations énumérées à l'annexe II du présent règlement, dans l'ordre indiqué.

Article 11

Emballage extérieur/conditionnement primaire

Par dérogation à l'article 54 et à l'article 55, paragraphe 1, de la directive 2001/83/CE, les indications énumérées à l'annexe III du présent règlement figurent sur l'emballage extérieur des médicaments de thérapie innovante ou, à défaut d'emballage extérieur, sur le conditionnement primaire.

Article 12

Conditionnement primaire spécial

Outre les indications prévues à l'article 55, paragraphes 2 et 3, de la directive 2001/83/CE, les indications suivantes figurent sur le conditionnement primaire des médicaments de thérapie innovante:

- a) les codes uniques du don et du produit visés à l'article 8, paragraphe 2, de la directive 2004/23/CE;
- b) dans le cas des médicaments de thérapie innovante à usage autologue, l'identifiant unique du patient et la mention «Usage autologue uniquement».

Article 13**Notice**

1. Par dérogation à l'article 59, paragraphe 1, de la directive 2001/83/CE, la notice d'un médicament de thérapie innovante est rédigée conformément au résumé des caractéristiques du produit et inclut les informations énumérées à l'annexe IV du présent règlement, dans l'ordre indiqué.

2. La notice reflète les résultats de la consultation de groupes cibles de patients, de sorte que sa lisibilité, sa clarté et sa facilité d'utilisation soient assurées.

CHAPITRE 5

EXIGENCES APPLICABLES APRÈS L'AUTORISATION

Article 14**Suivi de l'efficacité et des effets indésirables et gestion des risques après l'autorisation**

1. Outre les exigences de pharmacovigilance instaurées par les articles 21 à 29 du règlement (CE) n° 726/2004, le demandeur précise, dans sa demande d'autorisation de mise sur le marché, les mesures envisagées pour assurer le suivi de l'efficacité et des effets indésirables des médicaments de thérapie innovante.

2. Lorsqu'il existe un motif de préoccupation particulier, la Commission, sur avis de l'Agence, exige au titre de l'autorisation de mise sur le marché la mise en place d'un système de gestion des risques ayant pour but de déceler, caractériser, prévenir ou réduire au minimum les risques liés aux médicaments de thérapie innovante, ainsi que l'évaluation de l'efficacité de ce système, ou la réalisation par le titulaire de l'autorisation après la mise sur le marché d'études spécifiques qui seront soumises à l'Agence pour évaluation.

En outre, l'Agence peut demander la présentation de rapports additionnels évaluant l'efficacité de tout système de gestion des risques et les résultats de toute étude qui aurait été réalisée.

L'évaluation de l'efficacité des éventuels systèmes de gestion des risques et les résultats des études effectuées sont inclus dans les rapports périodiques actualisés relatifs à la sécurité, visés à l'article 24, paragraphe 3, du règlement (CE) n° 726/2004.

3. L'Agence informe immédiatement la Commission si elle constate que le titulaire de l'autorisation de mise sur le marché ne s'est pas conformé aux exigences visées au paragraphe 2.

4. L'Agence établit des lignes directrices détaillées concernant la mise en œuvre des paragraphes 1, 2 et 3.

5. Si des incidents ou effets indésirables graves surviennent relativement à un médicament combiné de thérapie innovante, l'Agence en informe les autorités compétentes nationales concernées qui sont chargées de la mise en œuvre des directives 90/385/CEE, 93/42/CEE et 2004/23/CE.

Article 15**Traçabilité**

1. Le titulaire d'une autorisation de mise sur le marché concernant un médicament de thérapie innovante établit et tient à jour un système assurant la traçabilité du médicament concerné ainsi que de ses matières de départ et de ses matières premières, y compris toutes les substances en contact avec les éventuels tissus ou cellules, depuis leur origine jusqu'à l'hôpital, l'institution ou le cabinet de consultation où le médicament est utilisé, en passant par les étapes de fabrication, de conditionnement, de stockage, de transport et de distribution.

2. L'hôpital, l'institution ou le cabinet de consultation où est utilisé le médicament de thérapie innovante établissent et tiennent à jour un système permettant la traçabilité du patient et du produit. Ce système comporte suffisamment de détails pour que l'on puisse relier chaque produit au patient qui l'a reçu et inversement.

3. Lorsqu'un médicament de thérapie innovante contient des cellules ou tissus humains, le titulaire de l'autorisation de mise sur le marché, ainsi que l'hôpital, l'institution ou le cabinet de consultation où le médicament est utilisé s'assurent que les systèmes de traçabilité établis conformément aux paragraphes 1 et 2 du présent article complètent et respectent les exigences énoncées aux articles 8 et 14 de la directive 2004/23/CE pour ce qui est des cellules et tissus humains autres que les cellules sanguines, et aux articles 14 et 24 de la directive 2002/98/CE pour ce qui est des cellules sanguines humaines.

4. Le titulaire de l'autorisation de mise sur le marché conserve les données visées au paragraphe 1 pendant au moins trente ans après la date de péremption du produit, ou plus longtemps si la Commission en fait une condition de l'autorisation de mise sur le marché.

5. En cas de faillite ou de liquidation du titulaire de l'autorisation de mise sur le marché, lorsque celle-ci n'est pas transférée à une autre entité juridique, les données visées au paragraphe 1 sont transmises à l'Agence.

6. Si l'autorisation de mise sur le marché est suspendue, révoquée ou retirée, le titulaire reste soumis aux obligations énoncées aux paragraphes 1, 3 et 4.

7. La Commission établit des lignes directrices détaillées concernant la mise en œuvre des paragraphes 1 à 6, en particulier en ce qui concerne le type et la quantité de données visées au paragraphe 1.

CHAPITRE 6

MESURES INCITATIVES

Article 16**Avis scientifique**

1. Le demandeur ou le titulaire d'une autorisation de mise sur le marché peut solliciter l'avis de l'Agence sur la conception et la mise en œuvre de la pharmacovigilance et du système de gestion des risques visé à l'article 14.

2. Par dérogation à l'article 8, paragraphe 1, du règlement (CE) n° 297/95 du Conseil du 10 février 1995 concernant les redevances dues à l'Agence européenne pour l'évaluation des médicaments ⁽¹⁾, une réduction de 90 % pour les petites et moyennes entreprises et de 65 % pour les autres demandeurs s'applique à la redevance due à l'Agence pour tout avis scientifique donné dans le cas des médicaments de thérapie innovante, en vertu du paragraphe 1 du présent article et de l'article 57, paragraphe 1, point n), du règlement (CE) n° 726/2004.

Article 17

Recommandation scientifique concernant la classification en tant que thérapie innovante

1. Tout demandeur ayant mis au point un produit à base de gènes, de cellules ou de tissus peut demander à l'Agence de formuler une recommandation scientifique visant à déterminer si le produit concerné répond, d'un point de vue scientifique, à la définition de médicament de thérapie innovante. L'Agence formule cette recommandation après avoir consulté la Commission et dans un délai de soixante jours à compter de la réception de la demande.

2. L'Agence publie le résumé des recommandations émises conformément au paragraphe 1, après suppression de toutes les informations confidentielles de nature commerciale.

Article 18

Certification de la qualité et des données non cliniques

Les petites et moyennes entreprises qui mettent au point un médicament de thérapie innovante peuvent soumettre à l'Agence toutes les données pertinentes sur la qualité et, lorsqu'elles sont disponibles, les données non cliniques requises au titre des modules 3 et 4 de l'annexe I de la directive 2001/83/CE, en vue d'une évaluation scientifique et d'une certification.

La Commission établit des dispositions relatives à l'évaluation et à la certification de ces données, conformément à la procédure de réglementation visée à l'article 26, paragraphe 2.

Article 19

Réduction de la redevance relative à l'autorisation de mise sur le marché

1. Par dérogation au règlement (CE) n° 297/95, la redevance relative à l'autorisation de mise sur le marché est réduite de 50 % si le demandeur est un hôpital ou une petite ou moyenne entreprise et peut prouver que le médicament de thérapie innovante concerné présente, au sein de la Communauté, un intérêt particulier pour la santé publique.

⁽¹⁾ JO L 35 du 15.2.1995, p. 1. Règlement modifié en dernier lieu par le règlement (CE) n° 1905/2005 (JO L 304 du 23.11.2005, p. 1).

2. Les dispositions du paragraphe 1 sont également applicables aux redevances relatives aux activités menées par l'Agence au cours de la première année suivant l'octroi de l'autorisation de mise sur le marché du médicament de thérapie innovante.

3. Les paragraphes 1 et 2 sont applicables pendant la période transitoire fixée à l'article 29.

CHAPITRE 7

COMITÉ DES THÉRAPIES INNOVANTES

Article 20

Comité des thérapies innovantes

1. Un comité des thérapies innovantes est institué au sein de l'Agence.

2. Sous réserve des dispositions du présent règlement, le règlement (CE) n° 726/2004 s'applique au comité des thérapies innovantes.

3. Le directeur exécutif de l'Agence assure une coordination appropriée entre le comité des thérapies innovantes et les autres comités de l'Agence, notamment le comité des médicaments à usage humain, le comité des médicaments orphelins, leurs groupes de travail et tout autre groupe scientifique consultatif.

Article 21

Composition du comité des thérapies innovantes

1. Le comité des thérapies innovantes est composé comme suit:

- a) cinq membres ou membres cooptés du comité des médicaments à usage humain, issus de cinq États membres, ainsi que leurs suppléants qui sont soit proposés par leur État membre respectif, soit, pour les membres cooptés du comité des médicaments à usage humain, sélectionnés par ce dernier sur le conseil du membre coopté correspondant. Ces cinq membres et leurs suppléants sont nommés par le comité des médicaments à usage humain;
- b) un membre et un suppléant nommés par chaque État membre dont l'autorité compétente nationale n'est pas représentée parmi les membres et les suppléants nommés par le comité des médicaments à usage humain;
- c) deux membres et deux suppléants nommés par la Commission, sur la base d'un appel public de manifestations d'intérêt et après consultation du Parlement européen, pour représenter les cliniciens;

d) deux membres et deux suppléants nommés par la Commission, sur la base d'un appel public de manifestations d'intérêt et après consultation du Parlement européen, pour représenter les associations de patients.

Les suppléants représentent les membres et votent pour ces derniers en leur absence.

2. Tous les membres du comité des thérapies innovantes sont choisis pour leurs qualifications scientifiques ou pour leur expérience en matière de médicaments de thérapie innovante. Aux fins du paragraphe 1, point b), les États membres coopèrent, sous la coordination du directeur exécutif de l'Agence, afin de faire en sorte que la composition finale du comité des thérapies innovantes assure une couverture appropriée et équilibrée des domaines scientifiques en rapport avec celles-ci, y compris les dispositifs médicaux, l'ingénierie tissulaire, la thérapie génique, la thérapie cellulaire, la biotechnologie, la chirurgie, la pharmacovigilance, la gestion des risques et l'éthique.

Au moins deux membres et deux suppléants du comité des thérapies innovantes doivent avoir des compétences scientifiques dans le domaine des dispositifs médicaux.

3. Les membres du comité des thérapies innovantes sont nommés pour une période de trois ans renouvelable. Ils peuvent être accompagnés d'experts lors des réunions du comité.

4. Le comité des thérapies innovantes élit parmi ses membres un président, pour un mandat de trois ans, renouvelable une fois.

5. Le nom et les qualifications scientifiques de tous les membres sont rendus publics par l'Agence, en particulier sur son site internet.

Article 22

Conflits d'intérêt

En sus des exigences visées à l'article 63 du règlement (CE) n° 726/2004, les membres et les suppléants du comité des thérapies innovantes ne peuvent avoir d'intérêt financier ou autre dans le secteur de la biotechnologie et des dispositifs médicaux qui serait de nature à compromettre leur impartialité. Tout intérêt indirect susceptible d'avoir un lien avec ces secteurs est déclaré dans le registre visé à l'article 63, paragraphe 2, du règlement (CE) n° 726/2004.

Article 23

Tâches du comité des thérapies innovantes

Le comité des thérapies innovantes exerce les tâches suivantes:

a) formuler un projet d'avis sur la qualité, la sécurité et l'efficacité d'un médicament de thérapie innovante soumis à l'approbation finale du comité des médicaments à usage humain et conseiller celui-ci sur toute donnée obtenue lors de la mise au point d'un tel médicament;

b) donner un avis, conformément à l'article 17, sur le point de savoir si un produit relève de la définition du médicament de thérapie innovante;

c) conseiller le comité des médicaments à usage humain, à sa demande, sur tout médicament pour lequel l'évaluation de la qualité, de la sécurité et de l'efficacité pourrait nécessiter une expertise dans l'un des domaines scientifiques visés à l'article 21, paragraphe 2;

d) formuler un avis sur toute question liée aux médicaments de thérapie innovante, à la demande du directeur exécutif de l'Agence ou de la Commission;

e) prêter son assistance scientifique lors de l'élaboration de tout document concernant la réalisation des objectifs du présent règlement;

f) fournir, à la demande de la Commission, une expertise et des conseils scientifiques pour toute initiative communautaire liée à la mise au point de thérapies et de médicaments innovants nécessitant une expertise dans l'un des domaines scientifiques visés à l'article 21, paragraphe 2;

g) contribuer aux procédures d'avis scientifique visées à l'article 16 du présent règlement et à l'article 57, paragraphe 1, point n), du règlement (CE) n° 726/2004.

CHAPITRE 8

DISPOSITIONS GÉNÉRALES ET FINALES

Article 24

Adaptation des annexes

La Commission modifie les annexes I à IV, après avoir consulté l'Agence et conformément à la procédure de réglementation avec contrôle visée à l'article 26, paragraphe 3, afin de les adapter à l'évolution de la science et de la technique.

Article 25

Rapport et réexamen

Au plus tard le 30 décembre 2012, la Commission publie un rapport général sur l'application du présent règlement qui inclut des informations complètes sur les différents types de médicaments de thérapie innovante autorisés conformément au présent règlement.

Dans ce rapport, la Commission examine l'impact du progrès technique sur l'application du présent règlement. Elle réexamine également le champ d'application du présent règlement et, en particulier, le cadre réglementaire des médicaments combinés de thérapie innovante.

Article 26

Procédure de comité

1. La Commission est assistée par le comité permanent des médicaments à usage humain institué par l'article 121, paragraphe 1, de la directive 2001/83/CE.

2. Dans le cas où il est fait référence au présent paragraphe, les articles 5 et 7 de la décision 1999/468/CE s'appliquent, dans le respect des dispositions de l'article 8 de celle-ci.

La période prévue à l'article 5, paragraphe 6, de la décision 1999/468/CE est fixée à trois mois.

3. Lorsqu'il est fait référence au présent paragraphe, l'article 5 bis, paragraphes 1 à 4, et l'article 7 de la décision 1999/468/CE s'appliquent, dans le respect des dispositions de l'article 8 de celle-ci.

Article 27

Modifications du règlement (CE) n° 726/2004

Le règlement (CE) n° 726/2004 est modifié comme suit:

1) À l'article 13, paragraphe 1, premier alinéa, la première phrase est remplacée par le texte suivant:

«Sans préjudice de l'article 4, paragraphes 4 et 5, de la directive 2001/83/CE, une autorisation de mise sur le marché délivrée conformément au présent règlement est valable dans l'ensemble de la Communauté.»

2) L'article 56 est modifié comme suit:

a) au paragraphe 1, le point suivant est inséré:

«d bis) du comité des thérapies innovantes;»;

b) au paragraphe 2, premier alinéa, première phrase, les termes «paragraphe 1, points a) à d)» sont remplacés par les termes «paragraphe 1, points a) à d bis)».

3) L'annexe est modifiée comme suit:

a) le point suivant est inséré:

«1 bis. Médicaments de thérapie innovante, tels que définis à l'article 2 du règlement (CE) n° 1394/2007 du Parlement européen et du Conseil du 13 novembre 2007 concernant les médicaments de thérapie innovante (*).

(*) JO L 324 du 10.12.2007, p. 121.»

b) au point 3, le deuxième alinéa est remplacé par le texte suivant:

«Après le 20 mai 2008, la Commission, après avoir consulté l'Agence, peut présenter toute proposition appropriée pour modifier ce point, et le Parlement européen et le Conseil statuent sur ce point conformément au traité.»

Article 28

Modifications de la directive 2001/83/CE

La directive 2001/83/CE est modifiée comme suit:

1) À l'article 1^{er}, le point suivant est ajouté:

«4 bis. Médicament de thérapie innovante

Un produit tel que défini à l'article 2 du règlement (CE) n° 1394/2007 du Parlement européen et du Conseil du 13 novembre 2007 concernant les médicaments de thérapie innovante (*).

(*) JO L 324 du 10.12.2007, p. 121.»

2) À l'article 3, le point suivant est ajouté:

«7. aux médicaments de thérapie innovante, tels que définis dans le règlement (CE) n° 1394/2007, préparés de façon ponctuelle, selon des normes de qualité spécifiques, et utilisés au sein du même État membre, dans un hôpital, sous la responsabilité professionnelle exclusive d'un médecin, pour exécuter une prescription médicale déterminée pour un produit spécialement conçu à l'intention d'un malade déterminé.

La fabrication de ces produits est autorisée par l'autorité compétente de l'État membre. Les États membres veillent à ce que les exigences nationales de traçabilité et de pharmacovigilance, ainsi que les normes de qualité spécifiques mentionnées au présent paragraphe, soient équivalentes à celles prévues au niveau communautaire pour les médicaments de thérapie innovante pour lesquels une autorisation est nécessaire en application du règlement (CE) n° 726/2004 du Parlement européen et du Conseil du 31 mars 2004 établissant des procédures communautaires pour l'autorisation et la surveillance en ce qui concerne les médicaments à usage humain et à usage vétérinaire, et instituant une Agence européenne des médicaments (*).

(*) JO L 136 du 30.4.2004, p. 1. Règlement modifié par le règlement (CE) n° 1901/2006 (JO L 378 du 27.12.2006, p. 1).»

3) À l'article 4, le paragraphe suivant est ajouté:

«5. La présente directive et tous les règlements visés par celle-ci n'affectent pas l'application des législations nationales interdisant ou limitant l'utilisation de tel ou tel type de cellules humaines ou animales, ou la vente, la distribution ou l'utilisation de médicaments contenant de telles cellules, consistant dans de telles cellules ou issus de celles-ci pour des motifs non prévus par la législation communautaire susmentionnée. Les États membres sont tenus de communiquer à la Commission les législations nationales concernées. La Commission met ces informations à la disposition du public dans un registre.»

- 4) À l'article 6, paragraphe 1, le premier alinéa est remplacé par le texte suivant:

«Aucun médicament ne peut être mis sur le marché d'un État membre sans qu'une autorisation de mise sur le marché n'ait été délivrée par l'autorité compétente de cet État membre, conformément à la présente directive, ou qu'une autorisation n'ait été délivrée conformément aux dispositions combinées du règlement (CE) n° 726/2004 et du règlement (CE) n° 1394/2007.»

Article 29

Période transitoire

1. Les médicaments de thérapie innovante autres que les produits issus de l'ingénierie tissulaire légalement sur le marché de la Communauté en vertu de la législation nationale ou communautaire le 30 décembre 2008 se conforment aux dispositions de celui-ci au plus tard le 30 décembre 2011.

Le présent règlement est obligatoire dans tous ses éléments et directement applicable dans tout État membre.

Fait à Strasbourg, le 13 novembre 2007.

Par le Parlement européen
Le président
H.-G. PÖTTERING

2. Les produits issus de l'ingénierie tissulaire qui étaient légalement sur le marché de la Communauté en vertu de la législation nationale ou communautaire le 30 décembre 2008 doivent se conformer aux dispositions du présent règlement au plus tard le 30 décembre 2012.

3. Par dérogation à l'article 3, paragraphe 1, du règlement (CE) n° 297/95, aucune redevance n'est due à l'Agence au titre des demandes d'autorisation des médicaments de thérapie innovante mentionnés aux paragraphes 1 et 2 du présent article.

Article 30

Entrée en vigueur

Le présent règlement entre en vigueur le vingtième jour suivant celui de sa publication au *Journal officiel de l'Union européenne*.

Il est applicable à partir du 30 décembre 2008.

Par le Conseil
Le président
M. LOBO ANTUNES

ANNEXE I

Manipulations visées à l'article 2, paragraphe 1, point c), premier tiret

- découpage,
 - broyage,
 - façonnage,
 - centrifugation,
 - trempage dans des solutions antibiotiques ou antimicrobiennes,
 - stérilisation,
 - irradiation,
 - séparation, concentration ou purification de cellules,
 - filtration,
 - lyophilisation,
 - congélation,
 - cryoconservation,
 - vitrification.
-

ANNEXE II

Résumé des caractéristiques du produit visé à l'article 10

1. Nom du médicament.
2. Composition du produit:
 - 2.1. description générale du produit accompagnée, le cas échéant, d'images et de dessins explicatifs;
 - 2.2. composition qualitative et quantitative en substances actives et autres constituants du produit dont la connaissance est nécessaire à une utilisation, une administration ou une implantation correctes du produit. Si le produit contient des cellules ou des tissus, ils doivent être décrits de manière détaillée et leur origine spécifique indiquée, y compris l'espèce animale en cas d'origine non humaine.

Pour la liste des excipients, voir point 6.1.
3. Forme pharmaceutique.
4. Informations cliniques:
 - 4.1. indications thérapeutiques;
 - 4.2. posologie et instructions détaillées relatives à l'emploi, à l'application, à l'implantation ou à l'administration concernant les adultes et, le cas échéant, les enfants ou d'autres populations particulières; au besoin, des images et des dessins explicatifs peuvent être ajoutés;
 - 4.3. contre-indications;
 - 4.4. mises en garde et précautions particulières d'utilisation, notamment précautions particulières que doivent prendre les personnes qui manipulent ces médicaments, les administrent aux patients ou les leur implantent ainsi que les précautions devant éventuellement être prises par le patient;
 - 4.5. interactions médicamenteuses et autres;
 - 4.6. utilisation en cas de grossesse et d'allaitement;
 - 4.7. effets sur la capacité de conduite et d'utilisation de machines;
 - 4.8. effets indésirables;
 - 4.9. surdosage (symptômes, mesures d'urgence).
5. Propriétés pharmacologiques:
 - 5.1. propriétés pharmacodynamiques;
 - 5.2. propriétés pharmacocinétiques;
 - 5.3. données précliniques concernant l'innocuité.
6. Informations qualitatives:
 - 6.1. liste des excipients, y compris des conservateurs;
 - 6.2. incompatibilités;
 - 6.3. durée de stabilité, si nécessaire après reconstitution du médicament ou si le conditionnement primaire est ouvert pour la première fois;

- 6.4. précautions particulières de stockage;
 - 6.5. nature et contenu du récipient et dispositif particulier d'utilisation, d'administration ou d'implantation, avec, si nécessaire, images et dessins explicatifs;
 - 6.6. précautions et instructions particulières de manipulation et d'élimination d'un médicament de thérapie innovante qui a été utilisé, ou de déchets dérivés de ce médicament, s'il y a lieu, avec, si nécessaire, images et dessins explicatifs.
 7. Titulaire de l'autorisation de mise sur le marché.
 8. Numéro(s) d'autorisation de mise sur le marché.
 9. Date de la première autorisation ou du renouvellement de l'autorisation.
 10. Date de mise à jour du texte.
-

ANNEXE III

Étiquetage de l'emballage extérieur/Conditionnement primaire visé à l'article 11

- a) Le nom du médicament et, le cas échéant, la mention du destinataire (nourrissons, enfants ou adultes); la dénomination commune internationale (DCI) doit figurer ou, si le produit n'a pas de DCI, la dénomination commune.
- b) Une description de la (des) substance(s) active(s) en termes qualitatif et quantitatif et, notamment lorsque le produit contient des cellules ou des tissus, la mention «ce produit contient des cellules d'origine humaine/animale [selon le cas]» ainsi qu'une brève description de ces cellules ou de ces tissus ainsi que de leur origine spécifique, y compris l'espèce animale en cas d'origine non humaine.
- c) La forme pharmaceutique et, s'il y a lieu, le contenu en poids, en volume ou en unités de prises.
- d) Une liste des excipients, y compris des conservateurs.
- e) Le mode d'emploi, d'application, d'administration ou d'implantation et, s'il y a lieu, la voie d'administration. Le cas échéant, un espace est prévu pour indiquer la posologie prescrite.
- f) Une mise en garde particulière selon laquelle le médicament doit être gardé hors de la portée et de la vue des enfants.
- g) Une mise en garde spéciale si elle s'impose pour le médicament.
- h) La date de péremption en clair (mois et année ainsi que jour le cas échéant).
- i) Les précautions particulières de stockage, s'il y a lieu.
- j) Les précautions particulières relatives à l'élimination des médicaments non utilisés ou des déchets dérivés de médicaments, le cas échéant, ainsi qu'une référence à tout système de collecte appropriée mis en place.
- k) Le nom et l'adresse du titulaire de l'autorisation de mise sur le marché et, le cas échéant, le nom du représentant du titulaire désigné par ce dernier.
- l) Numéro(s) d'autorisation de mise sur le marché.
- m) Le numéro du lot de fabrication et les codes uniques du don et du produit visés à l'article 8, paragraphe 2, de la directive 2004/23/CE.
- n) En cas de médicaments de thérapie innovante à usage autologue, l'identifiant unique du patient et la mention «Usage autologue uniquement».

ANNEXE IV

Notice visée à l'article 13

- a) Pour l'identification du médicament de thérapie innovante:
- i) le nom du médicament de thérapie innovante et, le cas échéant, la mention du destinataire (nourrissons, enfants ou adultes). La dénomination commune doit figurer;
 - ii) la catégorie thérapeutique ou le type d'activité dans des termes aisément compréhensibles par le patient;
 - iii) dans le cas où le médicament contient des cellules ou des tissus, description de ces cellules ou tissus et de leur origine spécifique, y compris l'espèce animale en cas d'origine non humaine;
 - iv) dans le cas où le médicament contient des dispositifs médicaux ou des dispositifs médicaux implantables actifs, description de ces dispositifs et de leur origine spécifique.
- b) Les indications thérapeutiques.
- c) Une énumération des informations nécessaires avant la prise ou l'utilisation du médicament, comprenant:
- i) contre-indications;
 - ii) précautions d'emploi appropriées;
 - iii) interactions médicamenteuses et autres interactions (par exemple alcool, tabac, aliments) susceptibles d'affecter l'action du médicament;
 - iv) mises en garde spéciales;
 - v) le cas échéant, les effets possibles sur la capacité de conduire un véhicule ou d'utiliser certaines machines;
 - vi) les excipients dont la connaissance est importante pour une utilisation efficace et sans risque du médicament et qui figurent dans les indications détaillées publiées au titre de l'article 65 de la directive 2001/83/CE.
- La liste doit aussi tenir compte de la situation particulière de certaines catégories d'utilisateurs comme les enfants, les femmes enceintes ou allaitant, les personnes âgées, les personnes présentant certaines pathologies spécifiques.
- d) Les instructions nécessaires et habituelles pour une bonne utilisation, en particulier:
- i) la posologie;
 - ii) le mode d'emploi, d'application, d'administration ou d'implantation et, le cas échéant, la voie d'administration;
et, s'il y a lieu, selon la nature du médicament:
 - iii) la fréquence de l'administration en précisant, si nécessaire, le moment auquel le médicament peut ou doit être administré;
 - iv) la durée du traitement, lorsqu'elle doit être limitée;
 - v) l'action à entreprendre en cas de surdosage (par exemple symptômes, mesures d'urgence);
 - vi) des informations sur l'attitude à adopter au cas où l'administration d'une ou de plusieurs doses a été omise;
 - vii) une recommandation explicite de consulter le médecin ou le pharmacien, selon le cas, pour toute précision concernant l'utilisation du médicament.
- e) Une description des effets indésirables pouvant être observés lors de l'usage normal du médicament et, le cas échéant, l'action à entreprendre dans un cas semblable; le patient devrait être expressément invité à signaler à son médecin ou à son pharmacien tout effet indésirable qui ne serait pas décrit dans la notice.

-
- f) Un renvoi à la date de péremption figurant sur l'emballage, avec:
- i) une mise en garde contre tout dépassement de cette date;
 - ii) s'il y a lieu, les précautions particulières de stockage;
 - iii) le cas échéant, une mise en garde contre certains signes visibles de détérioration;
 - iv) la composition qualitative et quantitative complète;
 - v) le nom et l'adresse du titulaire de l'autorisation de la mise sur le marché et, s'il y a lieu, le nom de ses représentants désignés dans les États membres;
 - vi) le nom et l'adresse du fabricant.
- g) La date à laquelle la notice a été révisée pour la dernière fois.
-

Annexe 2 : Avis du CAT sur les îlots de Langerhans humains



EUROPEAN MEDICINES AGENCY
SCIENCE MEDICINES HEALTH

18 August 2011
EMA/681445/2011
Patient Health Protection

Scientific recommendation on classification of advanced therapy medicinal products

Article 17 – Regulation (EC) No 1394/2007

Disclaimer: This document is a summary for public release of a scientific recommendation on classification of advanced therapy medicinal products. The original text adopted by the Committee for Advanced Therapies (CAT) has been redacted to delete commercially confidential information.

The present scientific recommendation refers exclusively to the case as presented to the European Medicines Agency (EMA) without prejudice to future evaluations by the Agency.

This scientific recommendation is not binding and is without prejudice to any decision taken by Member State competent authorities on matters falling within their own remits.

Short descriptor (or name when available) of the proposed active substance

The active substance is composed of human islets of Langerhans. They are obtained with a manufacturing process in which the raw material is treated in order to isolate the islets from the rest of the pancreatic tissue.

Brief description of the proposed finished product

Suspension containing human islets of Langerhans, autologous or allogeneic.

Proposed indication

Autologous:

Post pancreatectomy for benign pancreatic pathologies

Allogeneic:

Treatment of severe forms of type 1 diabetes

7 Westferry Circus • Canary Wharf • London E14 4HB • United Kingdom
Telephone +44 (0)20 7418 8400 Facsimile +44 (0)20 7523 7051
E-mail info@ema.europa.eu Website www.ema.europa.eu

An agency of the European Union



© European Medicines Agency, 2011. Reproduction is authorised provided the source is acknowledged.

EMA/CAT comment

Fulfilment of Article 2(1) of Regulation (EC) No 1394/2007 (definition of advanced therapy medicinal product – see Annex A)

For defining the product as somatic cell therapy product or tissue engineered product it is required that it contains engineered cells as defined in Article 2(c) of Regulation (EC) No 1394/2007. Therefore the product should "contains or consists of cells or tissues that have been subject to substantial manipulation so that biological characteristics, physiological functions or structural properties relevant for the intended clinical use have been altered, or of cells or tissues that are not intended to be used for the same essential function(s) in the recipient and the donor."

From the information provided by the Applicant, it is considered that the product is derived from pancreatic tissue by a number of steps that do not constitute substantial manipulation. Moreover, information provided by the Applicant show that the manipulation of the tissue does not alter the biological characteristics and physiological functions relevant for the intended clinical use.

Based on the information provided by the Applicant the CAT considered that there is no change in the biological characteristics of the islets. The cells of the islets do not divide. It is considered that the phenotype and function of the cells contained in the product are not changed.

The product is intended to be used for the same essential function in the recipient and the donor, i.e. pancreatic function.

- Thus, the product does not constitute a somatic cell therapy medicinal product or a tissue engineered products.
- The product does not constitute a gene therapy medicinal product.

Based on the above considerations, it is considered that the product does not fall within the definition of an advanced therapy medicinal product as provided in Article 2(1)(a) of Regulation (EC) No 1394/2007.

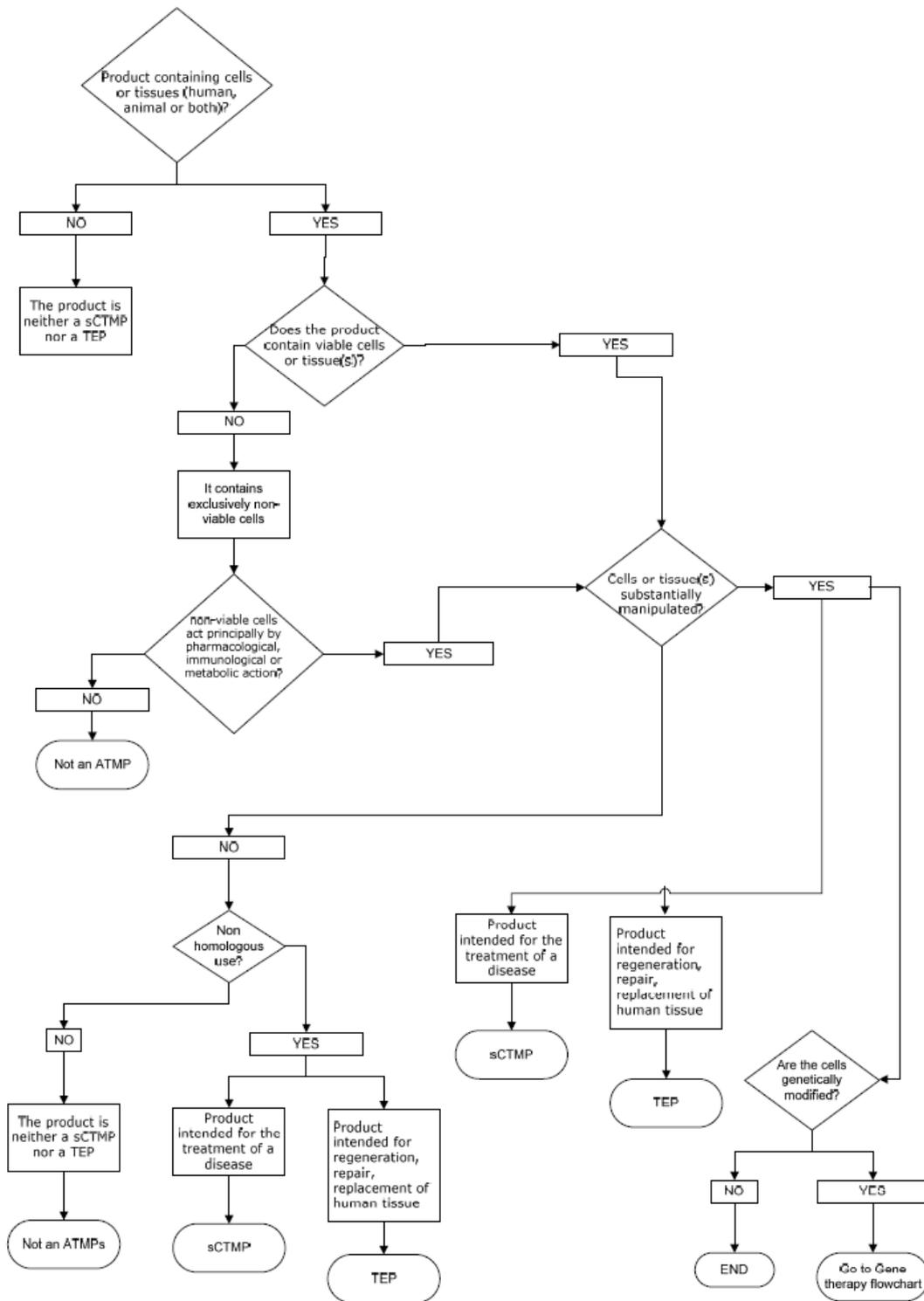
EMA/CAT conclusion

On the basis that:

- the product does not fall neither into somatic cell therapy medicinal products nor of a tissue engineered product
- the product is not gene therapy medicinal product

The Agency/CAT considers that the product does not fall within the definition of an advanced therapy medicinal product as provided in Article 2(1)(a) of Regulation (EC) No 1394/2007.

Annexe 3 : Arbre décisionnel médicament de thérapie somatique (sCMT) versus médicament issu de l'ingénierie cellulaire et tissulaire (TEP)



Serment de Galien

*Faculté de Pharmacie,
Université Joseph Fourier Grenoble I.*



Serment de Galien



« Je jure en présence des Maîtres de la Faculté, des Conseillers de l'Ordre des Pharmaciens et de mes condisciples :

D'honorer ceux qui m'ont instruit(e) dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement.

D'exercer, dans l'intérêt de la santé publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement.

De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine ; en aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser des actes criminels.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses. Que je sois couvert(e) d'opprobre et méprisé(e) de mes confrères si j'y manque ».

Nom : Layal Baalbaki

Titre de la thèse :

Les traitements innovants du diabète de type 1 :
Focus sur la greffe des îlots de Langerhans
(son historique, son optimisation et ses défis réglementaires)

Résumé :

La greffe des îlots de Langerhans est un des traitements innovants du diabète de type 1. Elle consiste à isoler les îlots de pancréas de donneurs décédés, puis de les injecter chez un receveur. Cependant, ce procédé de fabrication souffre d'un manque de reproductibilité. Il semble donc primordial d'optimiser cette technique pour surmonter les 3 obstacles majeurs à savoir : le manque de donneurs d'organes, la variabilité de la production et la prise d'immunosuppresseurs que nécessite la transplantation.

L'optimisation s'effectue alors sur différents niveaux : La source des îlots, leur technique d'isolement et leur encapsulation afin de réduire leur degré d'immunogénicité.

L'objectif de cette thèse est de voir l'état d'avancement de l'optimisation de cette technique et de définir le cadre réglementaire applicable au développement des îlots optimisés.

Mots clés : Diabète de type 1, médicaments de thérapie innovante, thérapie cellulaire, greffe, îlots de Langerhans, insuline, encapsulation.