

# Thérapie cellulaire

## Produit de thérapie cellulaire Dermagen® pour le traitement de plaies difficiles

D. Vacher

**Résumé.** La réalisation de feuillets épidermiques pour le traitement de certaines plaies cutanées difficiles fait déjà l'objet de produit commercialisé comme Epibase®. Ce produit est très efficace mais insuffisant lorsque les atteintes dermiques sont trop importantes. C'est le cas, par exemple, chez certains grands brûlés.

Un derme reconstruit fonctionnel ou derme équivalent (DE), associant une matrice tridimensionnelle (substrat dermique) et des fibroblastes dermiques allogéniques capable de sécréter de nombreuses cytokines, facteurs de croissance et inhibiteurs de métalloprotéases a été développé dans notre centre de biotechnologies certifié ISO 9000 selon certains standards de fabrication pharmaceutique (BPF).

Ce produit de thérapie cellulaire, comparable à un derme normal d'un point de vue histologique et physiologique est obtenu après 21 jours de culture de fibroblastes allogéniques provenant d'une banque de travail (WCB) validée sur le plan microbiologique viral et phénotypique dans une matrice collagénique brevetée.

Nos laboratoires ont de plus réussi le développement d'un procédé de congélation permettant la conservation, le stockage et la mise en place d'une vraie stratégie de contrôle qualité pour ce type de produit comparativement à d'autres produits autologues.

L'utilisation simple de ce produit se résume en quelques lignes. Lors de la demande du clinicien, un ou plusieurs DE, en fonction de la surface de la plaie à traiter, sont décongelés puis remis en culture de 48 h à 72 h. Le métabolisme cellulaire est alors réactivé. Le produit est ensuite conditionné dans un double blister contenant un milieu de culture semi-solide afin d'assurer la viabilité du produit pendant le transport.

Dans certaines indications, le DE va être appliqué une seule fois et agir comme un véritable greffon qui remplacera le derme détruit (grands brûlés) en s'intégrant dans la plaie. Dans d'autres indications, il peut être appliqué plusieurs fois à une fréquence hebdomadaire et agir alors comme un pansement biologique qui va stimuler le processus de cicatrisation grâce aux nombreux facteurs de croissance, cytokines et protéines matricielles sécrétés par ce pansement.

**Mots-clés :** *Thérapie cellulaire, Produits de thérapie cellulaire, Fibroblastes, Dermes équivalents, Dermagen®, Plaies cutanées, Brûlés.*

**Summary.** Epidermal sheets were developed for the treatment of hard-to-heal skin wounds. Products currently marketed in France, e.g. Epibase®, are very efficient but not totally satisfactory in cases of very deep dermal injury which often occurs in burn victims.

A function dermis or "dermis equivalent" association a three-dimensional matrix (dermal substrate) and allogenic dermal fibroblasts able to secrete numerous cytokines, growth factors, and protease inhibitors, was developed in our biotechnology laboratory using good manufacturing standards (ISO9000).

This cell therapy product which is histologically and physiologically close to normal dermis is obtained after culturing fibroblasts obtained from a microbiologically and virologically validated cell bank for 21 days in a patented collagenous sponge. Our laboratories successfully developed a freezing process allowing preservation of the product at -80°C. This allows us to perform high-performance quality control of the batches.

The product is easy to use and instructions can be described in a few lines. When clinicians order one or more Dermagen® sheets, depending on the wound area to treat, Dermagen® is thawed and cultured at 37°C for 48 to 72 hours. Metabolic activity is recovered and the product is then packaged in a specific blister with a semi-solid medium to ensure good viability during transportation.

In some indications, Dermagen® acts like a true transplant and in others like a biological dressing secreting numerous mediators such as growth factors or matrix proteins.

**Key-words:** *Cell therapy, Cell-based products, Fibroblasts, Dermagen®, Dermal equivalent, Skin wounds, burns.*

**Cell therapy product (Dermagen®) for treatment of hard-to-heal skin wounds.** D. Vacher. *Ann Pharm Fr* 2005, 63: 207-210.

Laboratoire Génévrier, Département Biotechnologie, Parc de Sophia-Antipolis, ZI les 3 Moulins, F06600 Antibes.  
Présentation devant l'Académie nationale de Pharmacie, séance du 6 octobre 2004.

**Tirés à part :** D. Vacher, à l'adresse ci-dessus.

## Introduction

Le traitement de plaies aiguës telles les plaies des grands brûlés, ou celui de certaines plaies chroniques récalcitrantes aux traitements conventionnels peut bénéficier d'une approche biotechnologique lorsque des produits de thérapie cellulaire ou d'ingénierie tissulaire sont validés et disponibles auprès des cliniciens.

Le premier produit disponible en France dans ce domaine fût *epibase*<sup>®</sup>, un feuillet épidermique autologue [1-3].

Les Laboratoires Genevrier ont développé un équivalent dermique (Dermagen<sup>®</sup>) dont les applications seront dans un premier temps le traitement des grands brûlés, puis dans un deuxième temps le traitement de plaies chroniques difficiles.

Concernant le traitement des grands brûlés, de nombreux arguments, *in vitro* et *in vivo*, chez l'animal et même chez l'homme montrent que la greffe d'un substitut du derme constitué de fibroblastes dans une matrice avant une solution d'épidermisation — autogreffe de peau fine ou culture de kératinocytes autologues — peut améliorer la qualité de la peau cicatricielle en permettant la formation d'un derme proche d'un derme normal et donc une coopération entre fibroblastes et cellules épithéliales, proche de celle d'une peau normale. Une éponge constituée de collagène et de glycosaminoglycanes (chondroïtine 4 et 6 sulfate), réticulée par l'adjonction de chitosane (dérivé désacétylé de la chitine) avant lyophilisation, a été mise au point en France [4-6]. Cette éponge est un produit non toxique du fait de son procédé non chimique de réticulation, biocompatible et biodégradable, aisément manipulable et stockable. Le chitosane a des propriétés, en particulier anti-bactériennes, favorables à son utilisation pour la couverture des brûlés. La taille de ses pores fait qu'il est colonisable par des fibroblastes [6], y compris dans notre propre expérience [7]. Les fibroblastes humains cultivés dans cette matrice tri-dimensionnelle synthétisent du collagène en plus grande quantité que dans un gel de collagène ou en monocouche [8, 9] et produisent des cytokines comme le VEGF (*vascular endothelial growth factor*), l'IL-8 et le KGF (*keratinocyte growth factor*) importantes pour la cicatrisation [7]. De plus ce derme équivalent colonisé par des fibroblastes permet, *in vitro*, une pousse de

kératinocytes qui aboutit à la formation d'une peau équivalente bien organisée comme permettent d'en juger la formation d'une jonction dermo-épidermique proche de la normale et l'organisation de la matrice extra-cellulaire du derme, en ce qui concerne en particulier l'organisation des fibres de collagène et la formation d'élastine [10-12]. Des peaux reconstruites dans ce système (matrice de collagène-GAG-chitosane, colonisée par des fibroblastes humains puis recouverte par des kératinocytes humains) ont été greffées sur des souris nude [13, 14] et chez le porc immuno-supprimé [15] permettant de montrer la faisabilité de ces greffes, leur bonne tolérance et la formation rapide d'un derme proche de la normale avec en particulier la formation d'élastine humaine dès J90 [14]. En effet, la fonction normale des fibroblastes dans la matrice et sa destruction progressive aboutissent en quelques semaines au remplacement de l'éponge par la matrice des fibroblastes greffés, pour lesquels l'éponge de collagène aura fait office de matrice provisoire. Chez l'homme, de tels substrats dermiques, non cellularisés, ont été utilisés en couverture définitive chez des brûlés avant la pose de la solution d'épidermisation (autogreffe ou culture de kératinocytes autologues) permettant de montrer la bonne tolérance et la colonisation de l'éponge de collagène par les fibroblastes de l'hôte [16]. Nous nous attachons donc à montrer qu'un tel substitut cellularisé par des fibroblastes allogéniques, respectant toutes les conditions de sécurité sanitaire, permet d'aboutir à une cicatrisation de bonne qualité chez les sujets brûlés, comme de nombreux arguments le font penser. Notre objectif est qu'un tel substrat cellularisé soit disponible facilement, donc conservable, pour la couverture des grands brûlés dans un premier temps.

## Méthodes et matériel

### Techniques de culture des dermes équivalents (DE)

*Production et amplification des fibroblastes à partir de la banque de travail (WCB)*

À chaque campagne de production d'un lot de DE, des ampoules de la WCB sont décongelées et

Download English Version:

<https://daneshyari.com/en/article/8992998>

Download Persian Version:

<https://daneshyari.com/article/8992998>

[Daneshyari.com](https://daneshyari.com)