

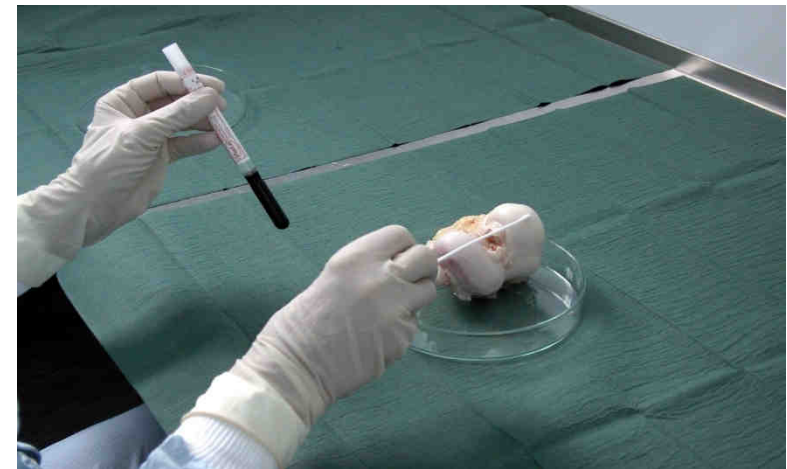
# CRYOCONSERVATION DES CELLULES, DES TISSUS ET DES ORGANES

Pavel Měříčka, M.D., Ph.D.

Responsable de la Banque de tissus  
Hôpital universitaire de Hradec Králové,  
République tchèque  
Ancien Président de la Commission C1 de l'IIF

# Les débuts de la cryobiologie

- 1912 : Alexis Carrel établit les bases scientifiques de la conservation à basse température des tissus humains et d'origine animale et l'utilisation chirurgicale des basses températures
- Les premières méthodes simples de conservation. Les tissus sont conservés dans les réfrigérateurs (+4°C) - en chambre humide (peau, cornée). Le refroidissement rapide est appliqué dans des tentatives de vitrification lors de la congélation des cellules et des tissus, sans réussite notable. Luyet and Gehenio : *Life and Death at Low Temperatures*, 1940



# Découverte d'un cryoprotecteur : glycérol

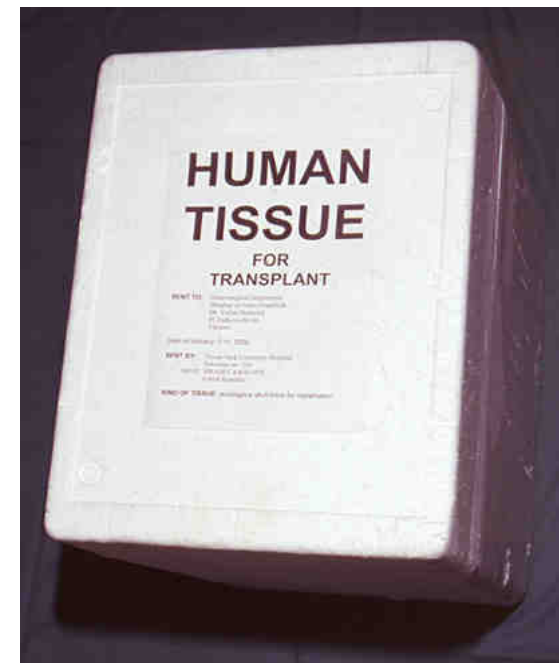
- Découverte importante à Cambridge (Royaume-Uni) en 1949. Polge, Smith et Parkes découvrent l'action cryoprotectrice du glycérol. Références antérieures : Rostand (France) 1946, Maximov (Russie) 1912. Ces auteurs ne voyaient pas encore la signification pratique de leurs travaux
- Le mécanisme d'action du glycérol n'est pas encore complètement élucidé : A. Smith : *Biological Effect of Freezing and Supercooling*, 1961

# L'application de la cryoprotection en médecine a démarré au cours des années 50

- Transfusion - utilisation des globules rouges congelés - Smith 1950, Tullis 1958
- Médecine de la reproduction - utilisation du sperme congelé - Sherman 1954
- Cellules et tissus congelés, par exemple peau, utilisés dans les procédures de transplantation expérimentales et cliniques - Pomerat et Morehead 1956, Taylor et Gerstner 1955

# Création de banques des tissus

- Monobanques - spécialisées dans la conservation d'un seul type de tissu (peau, yeux, os) - instaurées avant la Seconde Guerre mondiale
- Banques utilisées pour plusieurs types de tissus - collection de plusieurs types de tissus



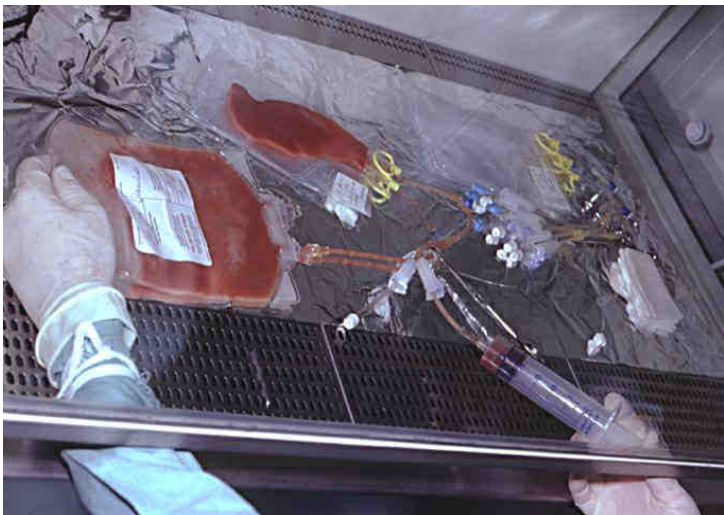
# Lyophilisation

- Lyophilisation : une méthode utilisée dans la fabrication de médicaments, dans la conservation du plasma et de ses dérivés. Elle a également été introduite dans la conservation des tissus



# Un nouveau cryoprotecteur : le sulfoxyde de diméthyle

- Découvert par Lovelock et Bishop 1959
- Plus efficace que le glycérol -  
fondement des technologies de  
cryoconservation actuelles, par  
exemple pour la conservation des  
cellules sanguines souches



# Un nouveau cryoprotecteur : le Diméthyle Sulfoxyde

- Toxique pour les cellules à des températures habituelles
- Responsable de certains effets secondaires dans les applications médicales (arythmies cardiaques, nausées, troubles neurologiques - la posologie quotidienne est limitée



# Explication théorique des altérations dues au froid

- 1963 Mazur, Oak Ridge, Tennessee (Etats-Unis) explique pourquoi certains organismes unicellulaires, par exemple des levures, peuvent survivre suite au refroidissement lent (1 K/min)
- L'eau congelable se cristallise à l'extérieur des cellules - les cellules se déhydratent, se retrécissent et l'eau sort de la cellule: c'est la formation de glace intracellulaire qui serait létal
- Pour la plupart des cellules de mammifères, cette approche n'est pas la bonne à cause de la formation de solutés concentrés qui endommagent les protéines cellulaires
- Il est indispensable d'utiliser des cryoprotecteurs

# Principes de la cryoprotection

- L'utilisation des cryoprotecteurs intracellulaires augmente la fraction non congelée, diminue la concentration osmotique en électrolyte et prévient la déshydratation excessive des cellules
- Voici d'éventuels mécanismes d'action des cryoprotecteurs non pénétrants : inhibition de la nucléation, inhibition de la croissance des cristaux, fixation d'eau et donc prévention d'une déshydratation excessive des cellules

# Une nouvelle opportunité pour l'approche vitrification

- La vitrification (formation d'un état vitreux) a lieu même lorsqu'on utilise des cryoprotecteurs classiques comme le glycérol
- 1980 : nouveaux composés étudiés par P. Boutron, Grenoble, France : des solutions de 1,2-propane-diol ou de 2,3-butane-diol sont utilisées pour la congélation des globules rouges
- Acétamide - un agent de vitrification très efficace
- Cocktails contenant plusieurs agents de vitrification - solutions de vitrification utilisées pour la conservation des tissus solides ou des embryons : une nouvelle opportunité pour la cryoconservation des organes à l'avenir

# Questions actuelles et utilisation des cellules et tissus conservés

- Respect des droits des donneurs - mise en œuvre du principe des dons volontaires et non rémunérés est nécessaire
- Gestion de la traçabilité



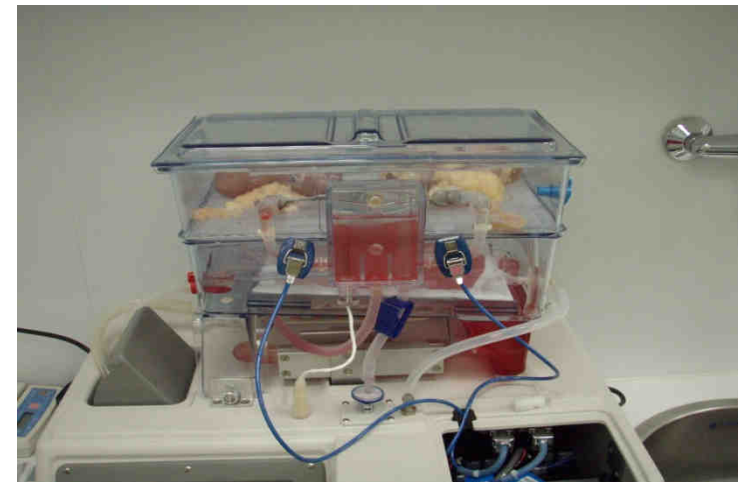
# Questions actuelles et utilisation des cellules et tissus conservés

- Aspects sécuritaires : prévention de la contamination croisée lors des traitements et pendant la conservation
- Etalonnage et validation réguliers des équipements
- Enregistrement des réactions indésirables



# L'avenir

- Améliorations dans la technologie cryobiologique - approche de la vitrification pour la conservation des tissus et probablement des organes aussi (aujourd'hui, seule la conservation hypothermique est disponible)



# L'avenir

- L'utilisation d'approches fondées sur le génie cellulaire et tissulaire pour la réparation ou la construction de tissus et d'organes, l'extension des méthodes existantes employant des kératinocytes, des chondrocytes ou des cellules mésenchymateux autologues

