

**DIPLÔME NATIONAL DE DOCTORAT**

**(Arrêté du 25 mai 2016)**

Date de la soutenance : **19 novembre 2018**

Nom de famille et prénom de l’auteur : **DUFOUR Alexandre**

Titre de la thèse : « Combinaison de peptides auto-assemblants et de chondrocytes autologues pour la réparation du cartilage - Etude préclinique chez le primate non-humain».



**Résumé**

Le cartilage a une capacité de régénération très limitée car il n’est pas vascularisé. La réparation de ce tissu est un défi et les techniques chirurgicales actuelles sont insatisfaisantes à long terme. Le cartilage est donc un bon candidat pour l’ingénierie tissulaire. La transplantation de chondrocytes autologues (TCA) a été la première thérapie cellulaire développée en rhumatologie mais cette procédure implique une amplification des cellules qui aboutit à une perte du phénotype chondrocytaire (perte de l’expression du collagène de type II, protéine majoritaire du cartilage), au profit d’un phénotype fibroblastique (caractérisé par l’expression du collagène de type I, retrouvé dans les tissus fibreux). La TCA conduit donc à une greffe de chondrocytes dédifférenciés produisant un fibrocartilage, dont les propriétés mécaniques sont inférieures à celles du cartilage articulaire. Aujourd'hui, les agences de santé au niveau international s'accordent pour dire que cette procédure nécessite d'être améliorée, par un meilleur contrôle du phénotype cellulaire et l'utilisation de biomatériaux pour mieux combler les lésions articulaires. Il s'agit donc de passer de la thérapie cellulaire à l'ingénierie tissulaire du cartilage.

L’objectif de nos travaux a été d’évaluer la capacité d’un gel innovant de peptides auto-assemblants, l’hydrogel IEIK13, à jouer le rôle de support pour des chondrocytes humains afin qu'ils produisent une matrice cartilage sous l'action de facteurs chondrogéniques. L'objectif visé a été la création d'un gel cartilage implantable par arthroscopie. Le défi a été de surmonter la dédifférenciation des chondrocytes inhérente à leur amplification et incontournable pour augmenter le réservoir cellulaire. L'amplification de chondrocytes humains a été réalisée en présence de FGF-2 et d'insuline (cocktail FI) puis leur redifférenciation a été induite en gel IEIK13 sous l'action de BMP-2, d'insuline et d'hormone T3 (cocktail BIT). C'est la combinaison sélective des deux cocktails qui permet la séquence dédifférenciation-redifférenciation. Le phénotype des chondrocytes et la nature de la matrice extracellulaire synthétisée en gel ont été évalués dans un premier temps *in vitro*, par des analyses de PCR en temps réel, Western-blots et d'immunohistochimie. Dans un second temps, nous avons transplanté le gel cartilage dans des lésions articulaires de genou d'un modèle original de primate non-humain (singe *cynomolgus*), un type de gros animal dont la posture et le fonctionnement des articulations s'apparentent à l'homme. Nos études d'imagerie non invasive (telle qu'elle est pratiquée chez l'homme) et immunohistochimiques trois mois après implantation montrent une réparation satisfaisante des lésions, en comparaison avec les lésions laissées non comblées. L'ensemble de nos résultats montre pour la première fois que l'hydrogel IEIK13 est un biomatériau favorable pour reconstruire le cartilage et que le primate non-humain est un modèle préclinique unique pour évaluer l'efficacité de l'ingénierie tissulaire du cartilage.

Mots Clés: ingénierie tissulaire du cartilage, chondrocytes, biomatériau, peptides auto-assemblants, primate non humain