



Université Claude Bernard



DIPLÔME NATIONAL DE DOCTORAT

(Arrêté du 25 mai 2016)

Date de la soutenance : **30 novembre 2018**

Nom de famille et prénom de l'auteur : **ROVERE Maria**

Titre de la thèse : « *Reconstruction cornéenne : traitement des déficiences en cellules souches limbiques totales et bilatérales associées ou non à une atteinte du stroma* »



Résumé

Certaines brûlures oculaires graves ou d'autres pathologies oculaires rares peuvent être associées à une perte totale de cellules souches épithéliales de la cornée (DCSL), ce qui conduit à une opacification de la cornée par invasion de la conjonctive. Lorsque la DCSL est totale et bilatérale, le limbe controlatéral n'est pas disponible pour la greffe de limbe autologue ou la culture de cellules souches autologues limbiques et la transplantation allogénique de la cornée est impossible car toujours rejetée en raison de la néovascularisation.

Une thérapie innovante testée avec succès au sein de notre laboratoire, en collaboration avec le service d'ophtalmologie des HCL, consiste en une greffe autologue de Feuillet Epithélial (FE) dérivé de Muqueuse Orale (MO). Cette approche permet de restaurer la transparence et autorise, si nécessaire, une greffe cornéenne complémentaire. Cette technique a montré son efficacité lors d'un essai clinique conduit dans notre hôpital mais le dispositif breveté permettant le détachement non enzymatique des feuillets cultivés n'est plus disponible en Europe. Nous avons donc mis au point un nouveau procédé de production de FE dérivant de la MO dont la preuve de concept a été obtenue à partir d'études *in-vitro* et *ex-vivo*. En effet, un détachement avec 0,5 mg / mL de collagénase n'endommage pas le FE de MO et les protéines de la membrane basale, et, dans un modèle de stroma porcin *ex-vivo*, ces feuillets adhérents au stroma, continuent à se renouveler sous la forme d'épithélium différencié. De plus, dans le cas d'une opacité stromale associée à une DCSL, une greffe secondaire de cornée est nécessaire pour améliorer l'Acuité Visuelle (AV), c'est pourquoi nous avons cherché à développer pour ces patients à haut risque de rejet, un stroma décellularisé. Ce stroma pourrait également répondre à la pénurie de cornées dans les pays en voie de développement grâce à sa conservation longue et facile. La lyophilisation a été combinée à la décellularisation des cornées au SDS à 0,1 %, validée sur les cornées humaines sur le maintien de leur transparence et de l'ultrastructure du stroma associé à l'absence des antigènes HLA-ABC et HLA-DR. Enfin, dans un modèle de Kératoplastie Lamellaire Antérieure Profonde (KLAP) *ex-vivo*, nous avons montré que les cellules épithéliales et stromales de la cornée humaine receveuse colonise le stroma décellularisé.

Ainsi, nos travaux permettent de proposer un traitement des DCSL totales et bilatérales associées ou non à une atteinte du stroma.

