

DIPLÔME NATIONAL DE DOCTORAT

(Arrêté du 25 mai 2016)

Date de la soutenance : **08 décembre 2023**

Nom de famille et prénom de l'auteur : **Madame TROTZIER Chloé**

Titre de la thèse : « *Effet du vieillissement sur les cellules stromales mésenchymateuses du tissu adipeux* »



Résumé

Contexte : La greffe de tissu adipeux autologue est utilisée pour améliorer la qualité de la peau notamment lors du vieillissement cutané. Les cellules souches mésenchymateuses qui le composent (ASC) sont décrites pour leur rôle clef dans les effets régénératifs de ce tissu et dans la survie du greffon. Les bénéfices observés seraient médiés par le potentiel de différenciation des ASC ainsi que leurs propriétés angiogéniques et immunomodulatrices, *via* leur sécrétome. Les applications thérapeutiques de ces cellules se focalisent surtout sur des patients âgés. Ainsi, une étude investiguant l'effet du vieillissement sur ces cellules est essentielle et manque encore à ce jour.

Matériel et méthode : Le sécrétome, ainsi que le potentiel clonogénique et la capacité de différenciation en lignages mésenchymateux d'ASC de donneurs jeunes et âgés ont été évalués. Leur potentiel angiogénique a été déterminé par un test de bourgeonnement *in vitro*, utilisant des cellules endothéliales microvasculaires (hDMEC) et des ASC en gel de fibrine. L'effet des ASC, de leur milieu conditionné ou de certains facteurs pro-angiogéniques ont été évalués sur la longueur du réseau vasculaire et les facteurs synthétisés. Le potentiel immunomodulateur des ASC a été évalué par co-culture de macrophages M0 ou M1 avec des ASC. L'effet des ASC sur l'expression génique et celle des marqueurs membranaires des macrophages, ainsi que sur les facteurs inflammatoires sécrétés a été déterminé.

Résultats : L'âge des donneurs ne module ni la capacité des ASC à former des colonies, ni leur capacité à se différencier en lignages mésenchymateux. Le vieillissement a tendance à réduire la synthèse de HGF, PIGF et SCF par les ASC. Nous avons adapté avec succès un test de bourgeonnement afin d'évaluer le

potentiel angiogénique des ASC. Les co-cultures hDMEC/ASC induisent un réseau vasculaire plus long que celui des hDMEC/Fb, mais il n'y a pas de différence entre les catégories d'âge d'ASC. Les co-cultures hDMEC/ASC contiennent plus de VEGF-A avec les donneurs jeunes que âgés. L'ajout de facteurs solubles ou de milieux conditionnés, en absence d'ASC ou fibroblastes, ne permet pas la formation d'un réseau vasculaire. L'ajout de milieux conditionnés d'ASC sur les co-cultures hDMEC/ASC augmente significativement la longueur du réseau vasculaire formé. Afin d'évaluer le potentiel immunomodulateur des ASC, nous avons mis au point une co-culture des ASC avec des macrophages. La co-culture M0/ASC ne module ni l'expression génique ni celle des marqueurs membranaires des macrophages, ou les niveaux de cytokines inflammatoires. La co-culture M1/ASC induit un phénotype hybride exprimant des marqueurs pro-inflammatoire et pro-résolutifs. Cette co-culture augmente les niveaux de facteurs pro-angiogéniques. L'âge des donneurs d'ASC n'a pas d'impact sur les paramètres observés dans nos conditions.

Conclusion : Dans nos conditions expérimentales, le vieillissement n'altère pas les caractéristiques des ASC. Ces cellules maintiennent un sécrétome stable, un potentiel de différenciation et pro-angiogénique équivalent entre les classes d'âge. Les ASC n'exercent pas leur potentiel immunomodulateur, suggérant un phénotype inflammatoire lors d'une inflammation à bas bruit. Nos résultats soulignent l'importance du microenvironnement des ASC et leur adaptabilité à celui-ci. Le taux de survie du greffon lors de greffes autologues pouvant être altéré avec le vieillissement, nos résultats suggèrent que d'autres acteurs tissulaires jouent sûrement un rôle dans ce phénomène.