

## **Sujet de thèse : Validation in vivo de construction cartilagineuse à l'aide d'un biomatériau végétal décellularisé (VEGECART)**

mots-clés associés au projet : Ingénierie tissulaire, Cartilage, Biomatériau, Matrice végétale, Décellularisation

### **Informations sur le laboratoire d'accueil :**

Biologie du cartilage, biotechnologie et télémédecine, BIOCONNECT UR 7451, Université de Caen Normandie

**Contact : karim.boumediene@unicaen.fr**

---

**Résumé :** Le cartilage est un tissu qui remplit plusieurs rôles en fonction de sa localisation dans l'organisme. Sa structure est différente selon qu'il soit situé au niveau des articulations (cartilage hyalin), des côtes (fibrocartilage) ou de l'oreille externe (cartilage élastique). Ceci est essentiellement dû à une origine différente d'un point de vue embryologique. Il peut être le siège de nombreuses pathologies et du fait qu'il ne possède qu'une faible capacité de réparation, celles-ci peuvent rapidement devenir invalidantes à moyen et long terme.

Des prises en charge chirurgicales existent en prélevant du cartilage dans des zones saines pour une reconstruction tissulaire, mais elles sont loin d'être complètement satisfaisantes, notamment par leur effets indésirables tels que la création d'un site donneur ou la formation d'un tissu incorrect. Ceci conduit bien souvent à la pose de prothèse pour remplacer le tissu endommagé. Une approche récente pour la reconstruction du cartilage est l'ingénierie tissulaire qui repose sur une triade d'éléments composée de cellules, d'un environnement adéquat pouvant orienter la formation du tissu souhaité dans un biomatériau donné.

Dans ce projet, nous visons la reconstruction de cartilage auriculaire élastique et sa validation par l'intermédiaire d'une implantation in vivo dans un modèle animal. En effet, de nombreuses affections concernent l'oreille externe (anotie, microtie, traumatismes, cancers) et peu d'alternatives de reconstructions sont proposées aux patients.

Nous utiliserons des cellules souches mésenchymateuses issues de la moëlle osseuse, bien connues dans la littérature pour s'orienter vers la chondrogénèse et nous les comparerons à des cellules progénitrices du périchondre auriculaire, dont nous avons déjà montré qu'elles étaient plus à même de produire du cartilage élastique. Elles seront incubées avec un milieu de différenciation chondrogénique dans un biomatériau végétal décellularisé. Le choix de ce dernier et sa validation constituent l'innovation de ce projet. Nous avons déjà réalisé des expériences préliminaires en utilisant un biomatériau naturel d'origine végétale, qui a été décellularisé au préalable puis ensemencé de cellules souches humaines. Les premiers résultats sont très encourageants et montrent la biocompatibilité d'un tel matériau ainsi qu'une orientation des cellules souches vers un tissu de type cartilagineux.

Dans ce projet de thèse, nous voulons valider ces premiers résultats de constructions de cartilage sur biomatériau végétal décellularisé, à partir d'un nombre plus important de prélèvements cellulaires puis en comparant deux types de cellules progénitrices (issues de la moëlle osseuse et du périchondre auriculaire). L'analyse des tissus formés se fera par histologie et expression génique (RT-qPCR) des marqueurs tissulaire du cartilage, pour désigner le modèle cellulaire le plus intéressant.

Nous chercherons par la suite à les étendre à une expérimentation *in vivo*, dans un modèle de défaut cartilagineux chez le lapin que nous avons établi au laboratoire. Pendant cette incubation *in vivo*, les greffons seront suivis par imagerie IRM. Après 1 et 2 mois, les tissus seront prélevés pour être analysés par histologie/immunohistologie et permettre ainsi d'évaluer l'insertion des greffons dans les tissus alentour et leur nature. Des tests de biomécanique seront également effectués afin de tester la qualité et les propriétés de résistance et d'élasticité.

Cette étude est la première en France à utiliser des biomatériaux végétaux décellularisés pour créer des tissus destinés à être greffés. Les résultats attendus permettront d'envisager la possibilité d'utiliser de tels biomatériaux pour la confection de greffons de cartilage pour la reconstruction tissulaire chez l'homme et ouvriront un nouveau champ d'investigation pour l'utilisation des végétaux pour la médecine régénératrice personnalisée.

### **Résumé Anglais :**

Cartilage is a tissue that fulfills several roles, depending on its location in the body. Its structure differs according to whether it is located in the joints (hyaline cartilage), ribs (fibrocartilage) or outer ear (elastic cartilage). This is mainly due to their different embryological origins. It can be the site of numerous pathologies, and since it has only a limited capacity of repair, these can rapidly become disabling in the mid and long term.

Surgical approaches exist by harvesting cartilage from healthy areas for tissue reconstruction, but they are far from completely satisfactory, not least because of undesirable side-effects such as the creation of a donor site or the formation of incorrect tissue. This often leads to prosthesis placement to replace the damaged tissue. A recent approach to cartilage reconstruction is tissue engineering, which relies on a triad of elements - cells, a suitable environment to guide the formation of the desired tissue in a given biomaterial.

In this project, we aim to reconstruct elastic auricular cartilage and validate it through *in vivo* implantation in an animal model. The external ear is affected by a wide range of pathologies (otitis, microtia, trauma, cancer), and few alternative of reconstructions are available to patients.

We will use bone marrow-derived mesenchymal stem cells, which are well known in the literature for their orientation towards chondrogenesis, and we will compare them with progenitor cells from the auricular perichondrium, which we have already shown to be more capable of producing elastic cartilage. They will be incubated with a chondrogenic differentiation medium in a decellularized plant biomaterial. The choice of the latter and its validation constitute the innovative part of this project. We have already carried out preliminary experiments using a natural biomaterial of plant origin, which has been decellularized previously and then seeded with human stem cells. Initial results are very encouraging, demonstrating the biocompatibility of such a material and the orientation of stem cells towards cartilage-type tissue.

In this PhD project, we aim to validate these initial results of cartilage construction on decellularized plant biomaterial, using a larger number of cell samples and then comparing two types of progenitor cells (from bone marrow and auricular perichondrium). The tissues formed will be analyzed by histology and gene expression (RT-qPCR) of cartilage tissue markers, to identify the most interesting cellular model. We will then seek to extend them to *in vivo* experimentation, in a rabbit cartilage defect model we have established in the laboratory. During this *in vivo* incubation, the grafts will be monitored by MRI imaging. After 1 and 2 months, the tissues will be harvested for

histological/immunohistological analysis, enabling us to assess the insertion of the grafts into the surrounding tissues and their nature. Biomechanical tests will also be carried out to test the quality and properties of resistance and elasticity.

This study is the first in France to use decellularized plant biomaterials to create tissue for grafting. The expected results will make it possible to consider the possibility of using such biomaterials to make cartilage grafts for tissue reconstruction in humans, and will open up a new field of investigation into the use of plants for personalized regenerative medicine.

**Candidat** : Titulaire d'un Master2 en biologie, il(elle) devra avoir une bonne connaissance de la biologie du cartilage et des possibilités de reconstruction tissulaire de ce tissu. Le projet comportera plusieurs approches techniques : isolement de cellules à partir de biopsies, culture cellulaire 2D et 3D, expérimentation in vivo, exérèse et analyse des biopsies, histologie et immunohistologie, analyse d'expression génique (qRT-PCR, Western blot), analyses protéomiques, etc. Le(a) candidat(e) devra maîtriser une bonne partie de ces techniques. Une expérience d'utilisation de biomatériaux et en expérimentation animale sera appréciée.

**Candidature** : envoyer avant le 1<sup>er</sup> Juillet 2024 : CV, lettre de motivation, copies de diplômes et références à karim.boumediene@unicaen.fr