

## DIPLÔME NATIONAL DE DOCTORAT

(Arrêté du 25 mai 2016)

Date de la soutenance : **17 décembre 2024**

Nom de famille et prénom de l'auteur. e : **Madame Chloé LAIGLE**

Titre de la thèse : Optimisation et mécanisme d'action d'une matrice biomimétique innovante pour la réparation de la peau

### Résumé



La peau est constituée de trois couches : l'épiderme, qui protège contre les agressions extérieures grâce à un épithélium pluristratifié de kératinocytes ; le derme, riche en matrice extracellulaire produite par les fibroblastes ; et l'hypoderme, un tissu graisseux assurant une protection thermique et mécanique. Lors d'une blessure, un processus complexe de cicatrisation s'initie, mais s'il est dérégulé, cela peut mener à des plaies chroniques, touchant plus de 2,5 millions de Français. L'ingénierie tissulaire développe des substituts biologiques pour réparer les tissus lésés. Parmi ces technologies, les hydrogels synthétiques présentent des avantages, tels que la biocompatibilité et une haute teneur en eau, favorisant un environnement propice à la guérison. Cependant, leur utilisation clinique est limitée par un manque de compréhension de leur mécanisme d'action. Les objectifs ont été d'identifier les capacités d'un hydrogel à favoriser la réparation cutanée, d'en comprendre les mécanismes sous-jacents et d'optimiser ses propriétés biomécaniques afin de développer la meilleure formulation pour une application clinique. Cet hydrogel s'auto-assemble en milieu physiologique, formant un réseau de nanofibrilles qui imite la matrice extracellulaire du derme. La capacité de réépithélialisation des plaies a d'abord été étudiée in vitro en utilisant des kératinocytes primaires humains. Le gel a montré une capacité à soutenir le développement de feuillets épidermiques similaires à ceux obtenus avec du collagène I, favorisant ainsi la croissance et la prolifération cellulaires. Il a également démontré ses propriétés à favoriser l'adhésion rapide des kératinocytes dont nous avons exploré le mécanisme sous-jacent. La laminine-332 est une protéine de la matrice extracellulaire essentielle pour l'adhésion, la migration et la survie des kératinocytes. Les kératinocytes déposent cette protéine dans la matrice afin de s'y accrocher, grâce à des

récepteurs transmembranaires, principalement des intégrines. Nos tests d'adhésion en présence d'inhibiteurs de la laminine-332 et des intégrines ont démontré que ces protéines étaient essentielles pour l'adhésion des kératinocytes sur le gel. L'immunomarquage de la laminine-332 a confirmé que les kératinocytes déposaient rapidement cette protéine dans la matrice formée par le gel. Nous avons cherché à comprendre pourquoi ce gel favorisait le dépôt de cette protéine de la matrice extracellulaire et avons découvert que celle-ci interagissait directement et spécifiquement avec la séquence peptidique composant l'hydrogel. Nous avons également évalué les aptitudes du gel à accueillir le front de migration épidermique généré aux bords des plaies. Pour cela, un test quantitatif de fermeture de blessure en trois dimensions a été développé. Ce test a révélé que le gel favorisait la migration cellulaire, grâce à sa capacité à recruter et à interagir avec la laminine-332. L'impact de la rigidité du gel a été analysé en testant différentes concentrations d'hydrogels présentant des rigidités allant de 0,5 à 5 kPa. Les résultats montrent que la migration des kératinocytes et la fermeture des plaies augmentent avec la rigidité du gel, atteignant un plateau à 3,5 kPa. Ces observations ont été confirmées par des expériences de vidéomicroscopie time-lapse. Une première preuve de concept in vivo, réalisée sur un modèle de plaie semi-profonde chez le porc, a corroboré les résultats in vitro en démontrant sa capacité à promouvoir l'initiation et la progression de la réépithélialisation aboutissant à la restauration d'un épiderme de bonne qualité. Le gel le plus rigide a favorisé une réépithélialisation plus rapide qu'un gel actuellement utilisé en clinique humaine. En conclusion, cette étude démontre la capacité de l'hydrogel à favoriser l'épithélialisation des plaies, grâce à son interaction essentielle et spécifique avec la laminine-332.

**Mots-clés :** Cicatrisation, Réparation tissulaire, Régénération