

## DIPLÔME NATIONAL DE DOCTORAT

(Arrêté du 25 mai 2016)

Date de la soutenance : **24 octobre 2025**

Nom de famille et prénom de l'auteur. e : **Madame Hisoilat BACAR**

Titre de la thèse : Le poisson zèbre comme modèle d'étude de la régénération cutanée et du remodelage de la matrice extracellulaire en temps réel

### Résumé



La cicatrisation chez les mammifères est un processus complexe qui comprend plusieurs étapes : l'hémostase, l'inflammation, la ré-épithélialisation, la formation d'un tissu de granulation et le remodelage du derme. Chez l'homme, ce processus aboutit souvent à la formation d'une cicatrice car le derme ne se remodèle pas complètement. Pour mieux comprendre, et ainsi améliorer la cicatrisation, nous utilisons le modèle poisson zèbre. Ce petit vertébré possède des capacités de régénération remarquables, notamment de la rétine, des reins, du cœur et de la nageoire caudale. Leur taille, leur transparence aux stades larvaires, la disponibilité de lignées transgéniques fluorescentes et leur perméabilité aux petites molécules en font un modèle idéal pour l'étude en temps réel de la réparation cutanée et le test de composés bioactifs. Nous avons mis au point un protocole reproductible de lésions cutanées in vivo, induites par laser, chez des larves de quatre jours post-fécondation, en utilisant un microscope confocal spinning-disk couplé à un laser UV. Nous avons utilisé la lignée transgénique Tg(krtt1c19e:egfp ; lyndtomato), qui marque les kératinocytes basaux, avec le cytoplasmique en vert et les membranes en rouge. Cette technique permet un contrôle précis de la forme, de la taille et de la profondeur de la plaie. En utilisant cette approche, et à partir des vidéos time-lapse réalisées, nous avons identifié cinq phases rapides et reproductibles de ré-épithélialisation. Au cours de ce processus, les kératinocytes basaux subissent des changements morphologiques, formant une rosette permettant une fermeture rapide de la plaie, qui se résorbe par la suite. L'étude de la dynamique du cytosquelette d'actine près injection de Lifeact-GFP dans les embryons au stade 1 cellule, a révélé la formation d'un anneau d'actine et la mobilisation de cellules « leaders » projetant des lamellipodes pour migrer alors que les cellules « suiveuses » forment des lamellipodes cryptiques. La segmentation (Cellpose) et le suivi cellulaire (Trackpy) révèlent une migration active des kératinocytes basaux depuis l'arrière de la plaie, suivie d'un retour à leur position initiale. Puis, à l'aide d'un modèle de « vertex » existant, la formation de rosettes a été

simulée permettant d'identifier trois paramètres clés influençant la formation de la rosette, que nous avons intégrés dans un modèle d'interactions cellulaires. Le suivi des cellules immunitaires en time-lapse en utilisant les lignées Tg(mpx:egfp) et Tg(mfap4:mCherry), montre l'arrivée rapide des neutrophiles à la fermeture de la plaie, suivi des macrophages plus tardifs, présents jusqu'à huit heures post-lésion. Le retard significatif du recrutement des neutrophiles chez les larves col14a1-/-, confirme des données préalablement observées chez le rat, par une autre équipe. L'épaississement du derme, riche en protéines matricielles, comme les collagènes de type I et XII, et la ténascine-C, observés par immunofluorescence, ainsi que la présence de vaisseaux sanguins néo-formés, confirment la formation d'un tissu de granulation. Ce tissu persiste plusieurs jours, ce qui suggère un mécanisme de réparation similaire à celui observé chez les mammifères, mais sans formation de cicatrice visible. Enfin, nous avons établi un protocole pour tester l'efficacité de bio-molécules, validées en système in vitro, sur la cicatrisation cutanée. Après avoir effectué des tests de toxicité chez l'embryon, nous avons évalué in vivo un composé bioactif, fourni par notre partenaire, qui s'est révélé capable d'accélérer significativement la ré-épithelialisation. Ces expériences valident le poisson zèbre comme un modèle fiable pour le criblage de composés actifs. Dans l'ensemble, nos résultats ouvrent la voie à de futures études sur les mécanismes de la réparation cutanée sans séquelle cicatricielle et confirment la pertinence du poisson zèbre et de la méthode de lésion par laser pour la recherche en dermatologie.

**Mots-clés :** Poisson zèbre, régénération de la peau, time lapse, Cicatrisation,