



HAL
open science

Développement d'hydrogels injectables autoréparants pour l'encapsulation de cellules souches mésenchymateuses en vue d'une thérapie cellulaire de l'arthrose

Mathilde Ambrosino

► **To cite this version:**

Mathilde Ambrosino. Développement d'hydrogels injectables autoréparants pour l'encapsulation de cellules souches mésenchymateuses en vue d'une thérapie cellulaire de l'arthrose. Sciences pharmaceutiques. 2024. dumas-04521721

HAL Id: dumas-04521721

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-04521721>

Submitted on 26 Mar 2024

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



Distributed under a Creative Commons Attribution - NonCommercial - NoDerivatives 4.0
International License

THESE

PRESENTEE ET PUBLIQUEMENT SOUTENUE DEVANT LA
FACULTE DE PHARMACIE DE MARSEILLE

Le 19 Mars 2024

PAR

Madame Mathilde AMBROSINO

Née le 13 Février 1995 à Bergerac (24)

EN VUE D'OBTENIR

LE DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE

TITRE :

**Développement d'hydrogels injectables autoréparants pour
l'encapsulation de cellules souches mésenchymateuses en vue
d'une thérapie cellulaire de l'arthrose**

JURY :

Président : Docteur Alain NICOLAY

Membres : Docteur Jérémy MAGALON (Directeur de thèse)
Docteur Catherine LE VISAGE

27 Boulevard Jean Moulin – 13385 MARSEILLE Cedex 05
Tel. : 04 91 83 55 00 – Fax : 04 91 80 26 12

ADMINISTRATION :

<i>Doyen :</i>	M. Jean-Paul BORG
<i>Vice-Doyens :</i>	Mme Florence SABATIER-MALATERRE, M. François DEVRED, M. Pascal RATHELOT, Mme Alexandrine BERTAUD
<i>Chargés de Mission :</i>	Mme Pascale BARBIER, Mme Alexandrine BERTAUD, M. David BERGELFRANC, Mme Manon CARRE, Mme Caroline DUCROS, M. Philippe GARRIGUE, M. Guillaume HACHE, M. Thierry TERME
<i>Conseiller du Doyen :</i>	M. Patrice VANELLE, Mme Françoise DIGNAT-GEORGE
<i>Doyens honoraires :</i>	M. Patrice VANELLE, M. Pierre TIMON-DAVID,
<i>Professeurs émérites :</i>	M. José SAMPOL, M. Athanassios ILIADIS, M. Philippe CHARPIOT, M. Riad ELIAS
<i>Professeurs honoraires :</i>	M. Guy BALANSARD, M. Yves BARRA, Mme Claudette BRIAND, M. Jacques CATALIN, Mme Andrée CREMIEUX, M. Gérard DUMENIL, M. Alain DURAND, Mme Danielle GARÇON, M. Maurice JALFRE, M. Joseph JOACHIM, M. Maurice LANZA, M. Patrick REGLI, M. Jean-Claude SARI
<i>Chef des Services Administratifs :</i>	Mme Sylvie BUREAU
<i>Chef de Cabinet :</i>	Mme Manon BONIFAY
<i>Responsable de la Scolarité :</i>	Mme Flora GLATIGNY

DEPARTEMENT BIO-INGENIERIE PHARMACEUTIQUE

Responsable : Professeur Philippe PICCERELLE

PROFESSEURS

BIOPHYSIQUE	M. Vincent PEYROT M. Hervé KOVACIC M. François DEVRED
GENIE GENETIQUE ET BIOINGENIERIE	M. Christophe DUBOIS
PHARMACIE GALENIQUE, PHARMACOTECHNIE INDUSTRIELLE, BIOPHARMACIE ET COSMETOLOGIE	M. Philippe PICCERELLE

MAITRES DE CONFERENCES

BIOPHYSIQUE

Mme Odile RIMET-GASPARINI
Mme Pascale BARBIER
Mme Manon CARRE
M. Gilles BREUZARD
Mme Alessandra PAGANO

GENIE GENETIQUE ET BIOTECHNOLOGIE

M. Eric SEREE-PACHA
Mme Véronique REY-BOURGAREL

PHARMACIE GALENIQUE, PHARMACOTECHNIE INDUSTRIELLE,
BIOPHARMACIE ET COSMETOLOGIE

M. Pierre REBOUILLON
M. Emmanuel CAUTURE
Mme Véronique ANDRIEU
Mme Marie-Pierre SAVELLI

BIO-INGENIERIE PHARMACEUTIQUE ET BIOTHERAPIES
PHARMACO ECONOMIE, E-SANTE

M. Jérémy MAGALON
Mme Carole SIANI
Mme Muriel MASI

ENSEIGNANT CDI

ANGLAIS

Mme Angélique GOODWIN

A.H.U.

PHARMACOTECHNIE

Mme Mélanie VELIER

DEPARTEMENT BIOLOGIE PHARMACEUTIQUE
Responsable : Professeur Françoise DIGNAT-GEORGE

PROFESSEURS

BIOLOGIE CELLULAIRE

M. Jean-Paul BORG

HEMATOLOGIE ET IMMUNOLOGIE

Mme Françoise DIGNAT-GEORGE
Mme Laurence CAMOIN-JAU
Mme Florence SABATIER-MALATERRE
Mme Nathalie BARDIN
Mme Aurélie LEROYER
M. Romaric LACROIX

MICROBIOLOGIE

M. Jean-Marc ROLAIN
M. Philippe COLSON

PARASITOLOGIE ET MYCOLOGIE MEDICALE, HYGIENE ET
ZOOLOGIE

Mme Nadine AZAS-KREDER

MAITRES DE CONFERENCES

BIOCHIMIE FONDAMENTALE, MOLECULAIRE ET CLINIQUE	M. Edouard LAMY Mme Alexandrine BERTAUD Mme Claire CERINI Mme Edwige TELLIER M. Stéphane POITEVIN Mme Sandra GHAYAD
HEMATOLOGIE ET IMMUNOLOGIE	Mme Sylvie COINTE
MICROBIOLOGIE	Mme Anne DAVIN-REGLI Mme Véronique ROUX M. Fadi BITTAR Mme Isabelle PAGNIER Mme Sophie EDOUARD M. Seydina Mouhamadou DIENE
PARASITOLOGIE ET MYCOLOGIE MEDICALE, HYGIENE ET ZOOLOGIE	Mme Carole DI GIORGIO M. Aurélien DUMETRE Mme Magali CASANOVA Mme Anita COHEN
BIOLOGIE CELLULAIRE BIOLOGIE CELLULAIRE ET MOLECULAIRE	Mme Anne-Catherine LOUHMEAU Mme Alexandra WALTON

A.H.U.

HEMATOLOGIE ET IMMUNOLOGIE	Mme Amandine BONIFAY
----------------------------	----------------------

MAITRES DE CONFERENCE ASSOCIES A TEMPS PARTIEL (M.A.S.T.)

PRATIQUE OFFICINALE	M. Jérôme JOUVE Mme Emmanuelle TONNEAU-PFLUG
---------------------	---

DEPARTEMENT CHIMIE PHARMACEUTIQUE

Responsable : Professeur Patrice VANELLE

PROFESSEURS

CHIMIE ANALYTIQUE, QUALITOLOGIE ET NUTRITION	Mme Catherine BADENS
CHIMIE PHYSIQUE – PREVENTION DES RISQUES ET NUISANCES TECHNOLOGIQUES	M. David BERGE-LEFRANC
CHIMIE THERAPEUTIQUE - CHIMIE MINERALE ET STRUCTURALE	M. Pascal RATHELOT M. Maxime CROZET
CHIMIE ORGANIQUE PHARMACEUTIQUE	M. Patrice VANELLE M. Thierry TERME
PHARMACOGNOSIE, ETHNOPHARMACOLOGIE	Mme Sok Siya BUN

MAITRES DE CONFERENCES

BOTANIQUE ET CRYPTOLOGIE, BIOLOGIE CELLULAIRE	Mme Anne FAVEL M. Quentin ALBERT
CHIMIE ANALYTIQUE, QUALITOLOGIE ET NUTRITION	Mme Catherine DEFOORT M. Alain NICOLAY Mme Estelle WOLFF Mme Elise LOMBARD Mme Camille DESGROUAS M. Charles DESMARCHELIER M. Mathieu CERINO
CHIMIE PHYSIQUE – PREVENTION DES RISQUES ET NUISANCES TECHNOLOGIQUES	M. Duje BURIC M. Pascal PRINDERRE
CHIMIE THERAPEUTIQUE - CHIMIE MINERALE ET STRUCTURALE	Mme Sandrine ALIBERT Mme Caroline DUCROS M. Marc MONTANA Mme Manon ROCHE Mme Fanny MATHIAS
CHIMIE ORGANIQUE PHARMACEUTIQUE HYDROLOGIE	M. Armand GELLIS M. Christophe CURTI Mme Julie BROGGI M. Nicolas PRIMAS M. Cédric SPITZ M. Sébastien REDON
PHARMACOGNOSIE, ETHNOPHARMACOLOGIE	Mme Valérie MAHIOU-LEDDER Mme Béatrice BAGHDIKIAN M. Elnur GARAYEV

MAITRES DE CONFERENCE ASSOCIES A TEMPS PARTIEL (M.A.S.T.)

CHIMIE ANALYTIQUE, QUALITOLOGIE ET NUTRITION CHIMIE PHYSIQUE – PREVENTION DES RISQUES ET NUISANCES TECHNOLOGIQUES	Mme Haïfa LAYACHI RAHABI M. Cyril PUJOL
DROIT ET ETHIQUE	Mme Laurie PAHUS
GESTION PHARMACEUTIQUE, PHARMACOECONOMIE ET ETHIQUE PHARMACEUTIQUE OFFICINALE, DROIT ET COMMUNICATION PHARMACEUTIQUES A L'OFFICINE ET GESTION DE LA PHARMAFAC	Mme Félicia FERRERA
DISPOSITIFS MEDICAUX	Mme Valerie MINETTI-GUIDONI

DEPARTEMENT MEDICAMENT ET SECURITE SANITAIRE

Responsable : Professeur Benjamin GUILLET

PROFESSEURS

PHARMACIE CLINIQUE	M. Stéphane HONORÉ
PHARMACODYNAMIE	M. Benjamin GUILLET
TOXICOLOGIE ET PHARMACOCINETIQUE	M. Bruno LACARELLE M. Joseph CICCOLINI
TOXICOLOGIE GENERALE	Mme Caroline SOLAS-CHESNEAU

MAITRES DE CONFERENCES

PHARMACIE CLINIQUE	M. Florian CORREARD Mme Marie-Anne ESTEVE
PHARMACODYNAMIE	M. Guillaume HACHE Mme Ahlem BOUHLEL M. Philippe GARRIGUE
PHYSIOLOGIE	Mme Sylviane LORTET
PHYSIOLOGIE / PHARMACOLOGIE	Mme Anaïs MOYON
TOXICOLOGIE ET PHARMACOCINETIQUE	Mme Raphaëlle FANCIULLINO Mme Florence GATTACECCA Mme Anne RODALLEC M. Nicolas FABRESSE
TOXICOLOGIE GENERALE	M. Pierre-Henri VILLARD

A.H.U.

PHYSIOLOGIE / PHARMACOLOGIE	M. Vincent NAIL
PHARMACIE CLINIQUE	Mme Maeva MONTALEYTANG Mme Charlotte BERARD

CHARGES D'ENSEIGNEMENT A LA FACULTE

Mme Valérie AMIRAT-COMBRALIER, Pharmacien-Praticien hospitalier

M. Pierre BERTAULT-PERES, Pharmacien-Praticien hospitalier

Mme Martine BUES-CHARBIT, Pharmacien-Praticien hospitalier

Mme Annie CILIA, Pharmacien-Praticien hospitalier

M. Yann COTTE, Pharmacien Assistant

M. Nicolas COSTE, Pharmacien-Praticien hospitalier

Mme Mélanie FALZON, Pharmacie-Adjoint

Mme Nicole FRANCOIS, Pharmacien-Praticien hospitalier

Mme Sophie GENSOLLEN, Pharmacien-Praticien hospitalier

M. Sylvain GONNET, Pharmacien titulaire

Mme Céline HIRSCH, Pharmacien Conseil de l'Assurance Maladie

Mme Christelle LABRANDE, Pharmacien-Praticien hospitalier

Mme Florence LEANDRO-DIJON, Pharmacien adjoint

Mme Nathalie MARTIN, Pharmacien-Praticien hospitalier

Mme Sophie MERLIN, Pharmacien Assistant

Mme Vanessa METZ, Pharmacien hospitalier

Mme Alice PERINEAU, Pharmacien Assistant

Mme Florence PEYRON, Pharmacien-Praticien hospitalier

M. Stéphane PICHON, Pharmacien titulaire

M. Bertrand POURROY, Pharmacien-Praticien hospitalier

Mme Clémence TABELLE, Pharmacien-Praticien attaché

M. Badr Eddine TEHHANI, Pharmacien – Praticien hospitalier

M. Joël VELLOZZI, Expert-Comptable

Mise à jour le 23 février 2023

« L'Université n'entend donner aucune approbation, ni improbation aux opinions émises dans les thèses. Ces opinions doivent être considérées comme propres à leurs auteurs. »

Remerciements

Je tiens à adresser mes remerciements à l'ensemble des membres du jury qui ont consacré leur temps et leur expertise à l'évaluation approfondie de mon travail de thèse.

Je remercie chaleureusement le **Docteur Alain NICOLAY** pour avoir accepté de présider le jury de ma thèse. Je tiens également à exprimer ma gratitude envers le **Docteur Jérémie MAGALON**, qui a généreusement accepté de diriger ce travail de thèse malgré des délais serrés. Je suis reconnaissante pour le temps qu'ils ont consacré à la lecture de mes travaux, leur bienveillance et leurs précieux commentaires.

Je remercie également le **Docteur Catherine LE VISAGE**, mon encadrante de thèse de sciences. Sa bienveillance, son soutien constant et son encouragement à explorer de nouvelles voies de recherche ont été des piliers essentiels dans la réussite de ce travail et m'ont permis de repousser mes limites.

Enfin, je souhaite exprimer ma reconnaissance envers toutes les personnes qui, de près ou de loin, ont contribué à l'aboutissement de cette thèse et qui ont déjà été honorées dans les remerciements de ma thèse de sciences. Je les invite cordialement à se référer à ces précédents remerciements pour découvrir l'étendue de ma gratitude envers elles.

Liste des figures

Figure 1 : Illustration de la pathologie de l'arthrose du genou, adapté de (8).	5
Figure 2 : Critères de diagnostic EULAR et ACR pour l'arthrose du genou, d'après (21).	6
Figure 3 : Thérapies recommandées par l'ACR pour la prise en charge de l'arthrose, adapté de (20).	8
Figure 4 - Les nouvelles approches thérapeutiques pour le traitement de l'arthrose.....	12
Figure 5 - Caractéristiques des CSM (76)	20
Figure 6 - Schéma du concept de la thérapie cellulaire de l'arthrose, basée sur la capacité des CSM à produire des facteurs thérapeutiques solubles en réponse à leur activation (80)	22
Figure 7 - Synthèse des effets positifs et des limites liées à l'injection intra-articulaire de CSM dans la thérapie cellulaire de l'arthrose	23
Figure 8 - Schéma illustratif de la diffusion bidirectionnelle de l'encapsulation des CSM.....	24
Figure 9 : Représentation schématique d'un hydrogel	25
Figure 10 - Représentation schématique des liaisons non covalentes et réversibles.....	27
Figure 11 - Représentation schématique des liaisons covalentes et non réversibles.....	28
Figure 12 - Représentation schématique des liaisons dynamiques covalentes et réversibles ..	28
Figure 13 - Confirmation macroscopique des propriétés d'auto-réparation des hydrogels dynamiques covalents après rupture du réseau. Adapté de (139)	31
Figure 14 - Représentation schématique des liaisons dynamiques covalentes et réversibles à base d'esters de boronate.....	32
Figure 15 - Exemples de différents partenaires envisagés pour la formulation d'hydrogels boroniques auto-réparants à base d'esters de boronate	33
Figure 16 - Schéma de la réaction générale de la formation d'esters de boronate (121) ; a) Réaction entre acides boroniques et diols 1,2 formant un cycle à 5 chaînons ; b) Réaction entre acides boroniques et diols 1,3 formant un cycle à 6 chaînons	33
Figure 17 - Complexation entre acides boroniques de type Wulff et diols 1,2 (121)	34
Figure 18 - a) Dégradation in vitro de l'hydrogel lorsqu'il est incubé dans du tampon à pH neutre (7,4) ou à pH acide (6,5) à 37 °C. b) Libération de DOX à partir de l'hydrogel chargé de médicament les différentes conditions de pH. Adapté de (129).....	36
Figure 19 - Résumé graphique de (136), avec les cellules du cancer du sein humain en rose et les fibroblastes pulmonaires humains en vert.....	38

Figure 20 - a) Schéma du modèle de lésion cérébrale chez la souris. b) Modèle de lésion cérébrale chez la souris. c) Cerveaux contrôle NS et cerveaux traités à l'hydrogel 7, 14 et 21 jours après la lésion, fixés au paraformaldéhyde (échelle = 5 mm). Adapté de (137).....	39
Figure 21 – Schéma de l'hydrogel autoréparant sacrificiel sensible au glucose, recouvert d'un autre hydrogel non sacrificiel puis immergé dans un milieu de culture. Le tunnel s'est formé à l'intérieur de la construction en 15 minutes. Adapté de (138).....	40
Figure 22 - a) Schéma de la réaction réversible entre un dérivé de l'acide phénylboronique (PBA) et un diol, qui produit des fonctions esters de boronate utilisées pour la conception d'hydrogels dynamiques covalents. b) Sélection de PBA aminés (en rose) et de diols aminés (en bleu) étudiés pour produire des hydrogels d'acide hyaluronique. c) Heat map du criblage du couple PBA/diol, révélant la capacité unique du couple wPBA/glucamine à former un hydrogel au pH physiologique. Adapté de (139).....	41

Liste des tableaux

Tableau 1 : Liste non exhaustive des traitements pharmacologiques pour le traitement de l'arthrose (4,9,21). AINS = anti-inflammatoire non stéroïdien ; AIS = anti-inflammatoire stéroïdien ; AASAL = anti-arthrosique symptomatique d'action lente ; COX-2 = cyclo-oxygénase 2 ; EI = effets indésirables.	10
Tableau 2 : Traitements ciblant les anticorps monoclonaux dirigés contre le facteur de croissance nerveuse (EI = effets indésirables).	13
Tableau 3 : Traitements ciblant les canaux ioniques (EI = effets indésirables).	14
Tableau 4 : Traitements ciblant les cytokines pro-inflammatoires (AH = acide hyaluronique).	15
Tableau 5 : Traitements ciblant les voies de signalisation pro-inflammatoires.	16
Tableau 6 : Traitements ciblant les cytokines anti-inflammatoires (EIG = effets indésirables graves ; EI = effets indésirables).	16
Tableau 7 : Traitements ciblant les processus cataboliques (COL2 = collagène de type 2). ...	18
Tableau 8 : Traitements ciblant les processus anaboliques (FT = fémoro-tibial, FTL = fémoro-tibial latéral, FTMC = fémoro-tibial médian central).	19
Tableau 9 - Systèmes de réticulation envisageables pour la conception d'hydrogels et l'encapsulation de CSM	26

Liste des abréviations

AASAL : Anti-arthrosique symptomatique d'action lente

ACR : American College of Rheumatology

ADAMTS : Aggrécanases

ADIPOA : Adipose derived mesenchymal stromal cells in patients with knee osteoarthritis

AH : Acide hyaluronique

AINS : Anti-inflammatoire non stéroïdien

ASC : Cellules souches mésenchymateuses dérivées du tissu adipeux

BIA : Biopolymères, Interactions, Assemblages

BMSC : Cellules souches mésenchymateuses issues de la moelle osseuse

CEISAM : Chimie Et Interdisciplinarité : Synthèse, Analyse, Modélisation

CNRS : Centre National de la Recherche Scientifique

COX-2 : Cyclo-oxygénase 2

CSM : Cellules souches mésenchymateuses

EI : Effets indésirables

EIG : Effets indésirables graves

EULAR : European League Against Rheumatism

FDA : Food and Drug Administration

FGF : Facteurs de croissance des fibroblastes

IA : Intra-articulaire

IEDDA : Réaction de Diels-Alder à demande électronique inversée

IFN- β : Interféron beta

IL : Interleukine

INRAE : Institut national de recherche pour l'agriculture, l'alimentation et l'environnement

Inserm : Institut national de la santé et de la recherche médicale

ISCT : International Society for Cellular Therapy

I κ B : Inhibiteur du NF- κ B

MAP-K p38 : Protéine kinase activée par le mitogène p38

MEC : Matrice extracellulaire

MMP : Métalloprotéinases

NExT : Nantes Excellence Trajectory

NF- κ B : Facteur nucléaire- κ B

NGF : Facteur de croissance nerveuse

OARSI : Osteoarthritis Research Society International

PBA : Acide phénylboronique

RMeS : Regenerative Medicine and Skeleton

SFR : Société Française de Rhumatologie

SHELBY : Self-Healing Boronic Hydrogels for Osteoarthritis

SPAAC : Cycloaddition azoture-alcyne promue par tension de cycle

TGF- β : Facteur de croissance transformant beta

TNF- α : Facteur de nécrose tumorale alpha

TRPV1 : Récepteur transitoire de la sous-famille V membre 1

wPBA : Acide phénylboronique de type Wulff

Table des matières

Introduction	1
1 L'arthrose	3
1.1 Généralités	3
1.2 Epidémiologie.....	4
1.3 Étiologie.....	4
1.4 Physiopathologie	5
1.5 Diagnostic	6
1.6 Prise en charge thérapeutique de l'arthrose	7
1.6.1 Directives	7
1.6.2 Traitements non pharmacologiques	8
1.6.3 Traitements pharmacologiques	9
1.6.4 Viscosupplémentation	10
1.6.5 Approches chirurgicales	11
1.7 Nouvelles approches thérapeutiques	12
1.7.1 Traitements ciblant les processus de la douleur	12
1.7.2 Traitements ciblant les médiateurs et les processus inflammatoires.....	14
1.7.3 Traitements ciblant les modifications structurales	17
2 La thérapie cellulaire pour l'arthrose	20
2.1 Les cellules souches mésenchymateuses	20
2.1.1 Généralités.....	20
2.1.2 Propriétés de sécrétion et immunomodulation	21
2.1.3 Injection intra-articulaire de CSM pour le traitement de l'arthrose	22
2.2 L'encapsulation cellulaire.....	23
2.2.1 Généralités.....	23
2.2.2 Les hydrogels	25
2.3 Injection intra-articulaire de CSM encapsulées dans des hydrogels pour le traitement de l'arthrose	29
3 Conception d'hydrogels autoréparants pour l'encapsulation de CSM et la thérapie cellulaire de l'arthrose	31
3.1 Les hydrogels autoréparants	31
3.2 Les esters de boronate.....	32
3.2.1 Les partenaires.....	32

3.2.2	La réaction.....	33
3.2.3	Les acides boroniques de type Wulff	34
3.1	Applications biomédicales émergentes des hydrogels à base d'esters de boronate ...	35
3.1.1	Les systèmes d'administration de médicaments	35
3.1.2	Les systèmes de culture cellulaire en 3D	36
3.1.3	La réparation guidée par les hydrogels	38
3.1.4	Les hydrogels comme matériaux sacrificiels	39
3.1.5	La thérapie cellulaire de l'arthrose	40
	Conclusion.....	42
	Bibliographie.....	44
	Le serment de Galien	

Introduction

L'arthrose est la maladie articulaire la plus répandue. Elle se traduit principalement par la destruction du cartilage articulaire et l'inflammation de la membrane synoviale. Malgré son incidence et son impact sur la qualité de vie des patients, il n'existe aucun traitement efficace à ce jour, uniquement des traitements symptomatiques.

Les cellules souches mésenchymateuses (CSM) ont récemment été proposées comme une approche thérapeutique pertinente pour le traitement de l'arthrose. En effet, elles sont capables de sécréter des facteurs anti-inflammatoires et immunomodulateurs. Des études pré-cliniques et cliniques ont partiellement confirmé l'efficacité de l'injection intra-articulaire (IA) des CSM dans le traitement de l'arthrose. Cette injection permet un ralentissement de la destruction du cartilage, une diminution de l'inflammation, une diminution de la douleur et une amélioration de la fonctionnalité articulaire. Malgré ces résultats prometteurs, l'injection IA de CSM présente certaines limites qui impactent leur efficacité à long terme, notamment une faible viabilité de ces cellules in situ et une fuite des cellules en dehors du site d'injection.

Pour remédier à ces limites, des techniques d'encapsulation de CSM dans des hydrogels ont été développées depuis de nombreuses années. Un hydrogel est défini comme un réseau de polymères hydratés obtenu à partir de polymères naturels et/ou synthétiques. Le réseau est formé par la réticulation de ces polymères par des liaisons non covalentes, covalentes ou dynamiques covalentes, permettant de concevoir une structure adaptée à leur application thérapeutique d'intérêt. Ces hydrogels peuvent donc être chargés en agents thérapeutiques tels que des médicaments, des cellules ou des molécules bioactives, puis être injectés dans le site cible de manière peu invasive.

L'encapsulation de CSM dans des hydrogels vise à améliorer la survie des cellules, à favoriser leur action thérapeutique prolongée et à limiter leur migration indésirable hors de la zone d'injection. De plus, la stabilité de l'hydrogel joue un rôle essentiel pour assurer la présence prolongée des CSM dans la cavité articulaire et pour exploiter pleinement leur capacité à sécréter des facteurs thérapeutiques « à la demande » afin de répondre aux épisodes inflammatoires de l'arthrose et d'éviter de multiples administrations au patient.

Dans le cadre de ma thèse de doctorat, soutenue en décembre 2023 au sein du laboratoire RMeS (Inserm 1229 – Nantes), nous avons exploré une approche en développant un hydrogel réticulé par des liaisons covalentes, via la cycloaddition azoture-alcyne promue par tension de cycle (SPAAC), une méthode de réticulation stable et cytocompatible. Cependant, la question de la

fragilité des liaisons covalentes se pose, car celles-ci qui pourraient se rompre sous une forte contrainte, entraînant une potentielle fuite des cellules.

C'est pour cette raison que nous avons proposé une alternative en développant des hydrogels autoréparants à base d'esters de boronate, qui présentent la particularité de former des liaisons dynamiques covalentes réversibles et compatibles avec une encapsulation de CSM. C'est dans ce contexte que s'inscrit le projet Self-Healing Boronic Hydrogels for Osteoarthritis (SHELBY), financé par Nantes Excellence Trajectory (NEXT), ayant pour but l'encapsulation et l'injection intra-articulaire de CSM dans un hydrogel innovant. Ce projet multidisciplinaire est une collaboration entre trois laboratoires de Nantes : le laboratoire RMeS avec les Docteurs Catherine LE VISAGE et Vianney DELPLACE (Inserm), le laboratoire CEISAM avec le Docteur Arnaud TESSIER (CNRS) et le laboratoire BIA avec le Docteur Denis RENARD (INRAE). Ces liaisons dynamiques covalentes du réseau d'hydrogel nous intéressent particulièrement car elles permettent la déformation de l'hydrogel sous la contrainte, comme les contraintes mécaniques de l'articulation, tout en assurant la stabilité de l'hydrogel.

Cette thèse de pharmacie présente donc une nouvelle approche de réticulation des hydrogels, utilisant des liaisons dynamiques covalentes, dans le but d'encapsuler des CSM au sein d'hydrogels autoréparants en vue d'une thérapie cellulaire de l'arthrose, avec une attention particulière aux hydrogels à base d'esters de boronate, afin d'optimiser l'injection intra-articulaire chez les patients atteints d'arthrose.

Ce manuscrit de thèse constitue une revue de la littérature axée sur trois principaux domaines : (1) l'arthrose, en explorant sa physiopathologie et les approches thérapeutiques qui lui sont associées ; (2) la thérapie cellulaire de l'arthrose, en se concentrant sur les cellules souches mésenchymateuses, les hydrogels et l'encapsulation cellulaire ; et enfin, (3) la conception d'hydrogels autoréparants à base d'esters de boronate. Cette dernière partie abordera les différentes molécules envisagées pour la formation de ce réseau, ainsi que les applications biomédicales émergentes de ces hydrogels.

1 L'arthrose

L'arthrose est la maladie articulaire la plus répandue dans le monde, c'est une cause majeure de douleur et d'incapacité physique, sans qu'aucun traitement curatif ne soit disponible à l'heure actuelle (1).

1.1 Généralités

L'arthrose est une affection multifactorielle qui peut être causée par une combinaison de facteurs génétiques, environnementaux et liés au mode de vie, notamment le vieillissement, le surpoids ou les traumatismes articulaires (1).

Plusieurs organisations ont cherché à proposer une définition actualisée et plus moderne de l'arthrose. Selon l'Osteoarthritis Research Society International (OARSI), l'arthrose est une maladie qui affecte les articulations mobiles, caractérisée par des contraintes cellulaires et une altération de la matrice extracellulaire. Elle commence par un dérèglement au niveau moléculaire, marqué par un métabolisme anormal de tissus articulaires, et évolue ensuite vers des perturbations anatomiques et/ou physiologiques, se traduisant principalement par la dégradation du cartilage, l'inflammation de la membrane synoviale et le remodelage osseux, conduisant à l'installation de la maladie. Sur le plan clinique, l'arthrose se caractérise par des douleurs articulaires, une gêne fonctionnelle, une limitation des mouvements, une rigidité articulaire ainsi qu'une inflammation locale (2).

Le fardeau de la maladie devrait s'alourdir avec l'augmentation de la prévalence de l'obésité et l'allongement de l'espérance de vie de la population mondiale. Selon une étude datant de 2015 portant sur la charge mondiale de morbidité, l'arthrose se classait au 13^{ème} rang en termes d'années de vie vécues avec un handicap à l'échelle mondiale (3).

L'arthrose peut être classée en deux catégories. L'arthrose primaire ou idiopathique résulte d'une combinaison de facteurs de risque, les plus importants étant l'âge et l'obésité. Dans l'arthrose secondaire, une maladie ou une affection est généralement responsable de la pathologie (e.g. les infections, les traumatismes, les interventions chirurgicales sur les structures articulaires et les anomalies articulaires à la naissance) (4).

1.2 Epidémiologie

La prévalence de l'arthrose est supérieure à 7 % de la population mondiale, soit plus de 500 millions de personnes. Le nombre de personnes touchées dans le monde a augmenté de 48 % entre 1990 et 2019 (5). Elle affecte 1 personne sur 5 dans la population générale et 1 personne sur 3 chez les plus de 50 ans (1). Bien qu'elle puisse toucher n'importe quelle articulation, l'arthrose est plus fréquente au niveau du genou, représentant 365 millions de personnes dans le monde, suivi de la main (142 millions) puis de la hanche (33 millions) (6). La prévalence de l'arthrose augmente en fonction de l'âge, de l'indice de masse corporelle, du sexe et de la sollicitation répétée des articulations dans le cadre d'activités sportives ou professionnelles. Il a été montré que l'obésité multiplie par trois le risque d'arthrose du genou (7). En France, selon la Société Française de Rhumatologie (SFR), cette maladie concerne environ 17% de la population, soit 11 millions de français et dont la moitié sont symptomatiques. À l'horizon 2030, elle touchera 22% de la population en France.

1.3 Étiologie

Le processus physiopathologique de l'arthrose est lié à plusieurs facteurs de risques identifiés, qui peuvent être divisés entre ceux qui agissent au niveau de la personne et ceux qui agissent au niveau des articulations. Les premiers comprennent l'âge croissant, les troubles métaboliques générés par l'obésité ou un diabète, le sexe féminin, les facteurs génétiques et la biomécanique des articulations. Les seconds comprennent les lésions articulaires, un excès de pression dans l'articulation (e.g. surcharge pondérale, activité physique trop intense, contraintes articulaires répétées), certaines maladies de l'articulation telles que la polyarthrite rhumatoïde, la fragilité naturelle du cartilage et le mauvais alignement des articulations (7). Pour comprendre les origines de l'arthrose et choisir des cibles pour sa prévention et son traitement, il est essentiel d'identifier les facteurs de risque.

1.4 Physiopathologie

Une articulation saine relie deux os adjacents, recouverts d'une couche de cartilage articulaire et entourés d'une capsule appelée membrane synoviale. L'arthrose est une maladie de l'ensemble de l'articulation qui se manifeste principalement par une dégradation voire une perte du cartilage articulaire, une inflammation de la membrane synoviale, des modifications de l'os sous-chondral, la formation d'ostéophytes (excroissances osseuses) et une hypertrophie de la capsule articulaire (Figure 1). Cette maladie est caractérisée par un déséquilibre entre la réparation et la destruction des tissus articulaires (8).

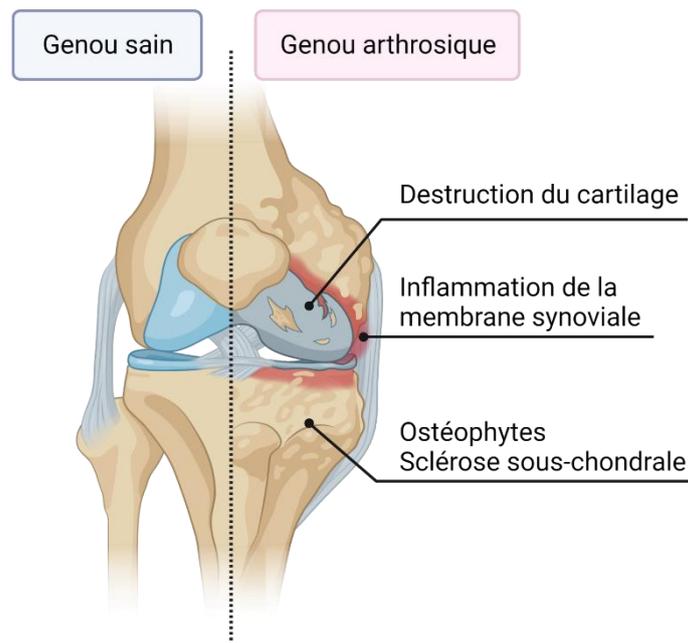


Figure 1 : Illustration de la pathologie de l'arthrose du genou, adapté de (8).

L'arthrose est une maladie évolutive qui peut prendre plusieurs années pour se développer et qui peut également connaître des phases de poussées, entraînant une aggravation de la maladie et des symptômes. La douleur mécanique et la gêne fonctionnelle sont les symptômes principaux de la maladie, réduisant la qualité de vie des patients en entraînant une instabilité voire une incapacité physique. La raideur matinale, l'instabilité articulaire, la faiblesse musculaire, la réduction de l'amplitude des mouvements, la fatigue et la détresse psychologique liées à la douleur sont également fréquemment observées chez les patients (9).

La nature multifactorielle de l'arthrose fait intervenir des facteurs mécaniques, inflammatoires et métaboliques, conduisant finalement à une défaillance de l'articulation. La découverte de modifications pathologiques dans tous les tissus articulaires, en raison de leur étroite association physique et fonctionnelle, suggère de concevoir l'arthrose comme une maladie de l'articulation

en tant qu'organe. Le cartilage, la membrane synoviale et l'os sous-chondral semblent tous jouer un rôle essentiel dans le développement de la maladie (10).

1.5 Diagnostic

L'arthrose, bien que très courante, est une maladie complexe difficile à diagnostiquer. Le diagnostic clinique d'arthrose repose sur la base des symptômes, tels que la douleur mécanique, la raideur matinale et la gêne fonctionnelle, ainsi que sur un examen physique avec une détection des crépitations (i.e., bruits articulaires anormaux lors du mouvement d'une articulation), de la faiblesse musculaire et de la restriction des mouvements. De plus, le diagnostic de l'arthrose repose sur une radiographie simple, qui révèle des signes tels qu'un rétrécissement de l'espace articulaire, la présence d'ostéophytes, ainsi qu'une sclérose de l'os sous-chondral (9). L'utilisation appropriée des critères de diagnostic élaborés par plusieurs organisations professionnelles internationales, telles que l'European League Against Rheumatism (EULAR) ou l'American College of Rheumatology (ACR), est recommandée (Figure 2) (11–13).

	EULAR	ACR
Age \geq 50 ans		●
Symptômes		
Douleur au genou	●	●
Pas de raideur matinale, ou \leq 30 min	●	●
Limitation fonctionnelle	●	
Signes cliniques		
Crépitation	●	●
Restriction de l'amplitude des mouvements	●	
Elargissement de l'os	●	●
Sensibilité du bord de l'os		●
Pas de chaleur palpable		●
Critères EULAR (European League Against Rheumatism) ● Caractéristique nécessaire		
Critères ACR (American College of Rheumatology) ● Caractéristique nécessaire ● 3 ou plus de ces caractéristiques		

Figure 2 : Critères de diagnostic EULAR et ACR pour l'arthrose du genou, d'après (21).

Cependant, la nécessité de critères d'arthrose précoce a été soulignée pour identifier les patients à un stade précoce de la maladie, afin de permettre un traitement dès l'apparition des premiers symptômes (14,15).

Malgré son incidence et son impact sur la qualité de vie des patients, seuls des traitements à visées symptomatiques existent à l'heure actuelle pour le traitement de l'arthrose.

1.6 Prise en charge thérapeutique de l'arthrose

Les patients atteints d'arthrose doivent faire l'objet d'une évaluation complète (gravité et impact fonctionnel de l'arthrose, perception personnelle de leur santé) afin de garantir une stratégie de gestion personnalisée et adaptée à leurs besoins. La prévention demeure un pilier fondamental de la prise en charge de l'arthrose, s'adressant également aux personnes non atteintes par la pathologie, mais présentant des facteurs de risques susceptibles de développer la maladie.

Les approches modernes de la prise en charge de l'arthrose se focalisent sur une approche multidisciplinaire centrée sur le patient et englobant des changements de style de vie, des séances de kinésithérapie, des traitements médicamenteux et des interventions chirurgicales. L'objectif principal de ces traitements est de gérer les symptômes, d'améliorer la mobilité articulaire et de prévenir d'autres lésions articulaires.

En 2020, la SFR a établi des recommandations quant à la prise en charge pharmacologique de l'arthrose du genou. Cinq principes généraux ont été émis sur « 1) la nécessité de combiner traitements pharmacologiques et non pharmacologiques, 2) la personnalisation de la prise en charge, 3) l'objectif symptomatique et/ou fonctionnel des traitements pharmacologiques, 4) la nécessité d'une réévaluation médicale régulière des traitements et 5) la discussion d'une arthroplastie en cas d'échec du traitement médical » (16).

1.6.1 Directives

Des lignes directrices pour la prise en charge de l'arthrose ont été élaborées par plusieurs organisations professionnelles internationales telles que l'EULAR (17), l'OARSI (18,19) ou encore l'ACR (20) (Figure 3). Toutes les directives recommandent l'éducation pour la santé, la promotion de l'autogestion et une combinaison multidisciplinaire centrée sur le patient. Les traitements non pharmacologiques sont fortement recommandés et sont considérés comme un traitement de première intention. L'exercice physique régulier, la perte de poids en cas de surpoids, la chirurgie, les informations sur la maladie, sur la physiopathologie et sur l'imagerie diagnostique sont des aspects très importants pour l'éducation du patient.

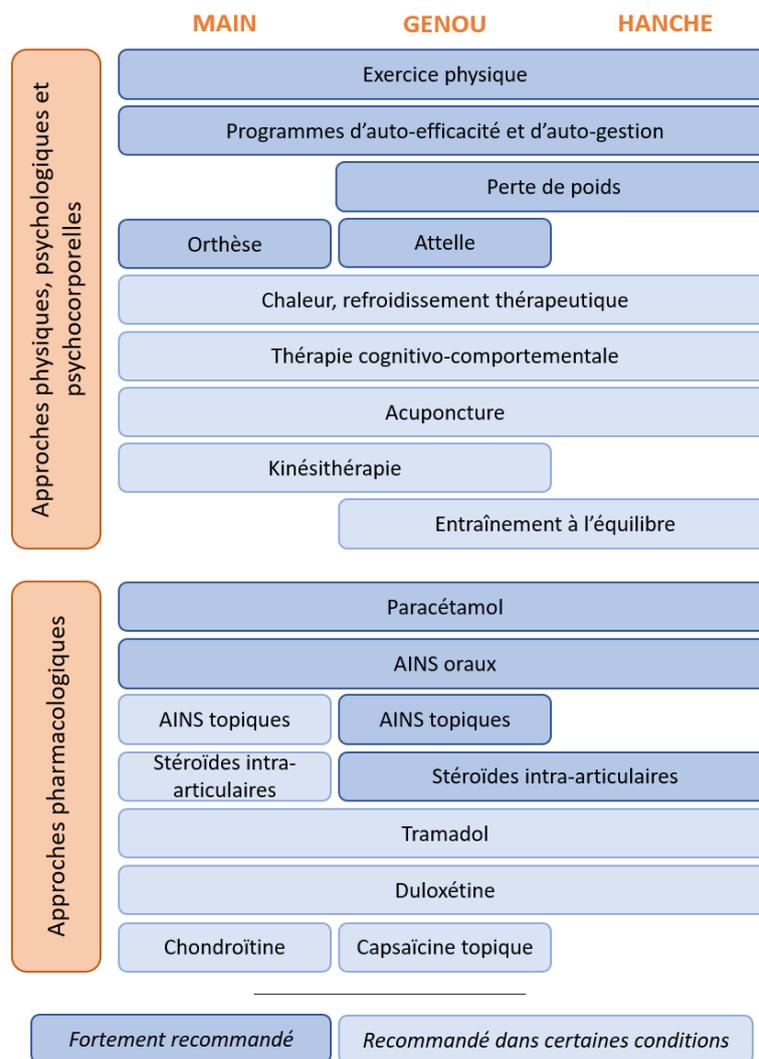


Figure 3 : Thérapies recommandées par l'ACR pour la prise en charge de l'arthrose, adapté de (20).

1.6.2 Traitements non pharmacologiques

Les méthodes non pharmacologiques telles que l'éducation et la prise en charge personnelle, l'activité sportive, la perte de poids avec des objectifs réalistes, l'encouragement et les aides à la marche sont largement recommandées et considérées comme les traitements de première intention dans l'arthrose. Les patients doivent comprendre leur pathologie (comme par exemple l'échec de la réparation de l'articulation), leurs propres facteurs de risques et leur pronostic. Les aides à la marche, telles que les attelles, les orthèses, les dispositifs d'adaptation et les chaussures à semelles épaisses sans élévation du talon, sont largement recommandées dans toutes les lignes directrices. Elles peuvent réduire les symptômes et faciliter les activités de la vie quotidienne des patients atteints d'arthrose (4,21).

L'activité physique (e.g., exercices de renforcement musculaire et exercices aérobiques généraux) et la perte de poids sont particulièrement utiles pour réduire la douleur et améliorer le mouvement des articulations. Les patients doivent être encouragés à faire de l'exercice et à perdre du poids, ils doivent être informés de leurs avantages et doivent recevoir des conseils diététiques. Les recommandations hygiéno-diététiques sont désormais considérées comme des éléments clé de la prise en charge de l'arthrose par modifications du mode de vie du patient. La combinaison d'un régime alimentaire et de l'exercice physique améliore les effets sur la douleur et sur la fonction articulaire, avec comme défi le maintien de la perte de poids à long terme (22–24).

1.6.3 Traitements pharmacologiques

Avant de prescrire un traitement pharmacologique, l'âge, les médicaments concomitants et les affections comorbides (en particulier cardio-vasculaires et gastro-intestinales) doivent être pris en compte pour chaque individu. Les traitements pharmacologiques sont énumérés dans le Tableau 1 (liste non exhaustive) (4,9,21).

Traitements pharmacologiques	Utilisation dans l'arthrose	Limites
Paracétamol	Traitement de 1 ^{ère} intention, très recommandé, utile en association avec d'autres traitements	Problème de sécurité
AINS topiques	Traitement de 1 ^{ère} intention, recommandés et couramment utilisés, meilleur profil de sécurité que AINS oraux	Pénétration articulaire et multiples applications quotidiennes
AINS oraux : non sélectifs et inhibiteurs sélectifs de la COX-2	Couramment utilisés, amélioration clinique pertinente de la douleur et de la fonction, utilisation limitée à court terme à la plus petite dose possible	Toxicité (complications gastro-intestinales et cardiovasculaires)
Opioides	Utilisés de manière variable selon les pays, mais restent la seule option pour les personnes non tolérantes aux AINS ou qui ne devraient pas y être exposés, découragement général de la prescription de ces produits	Toxicité (étourdissements, nausées, constipation, chutes), risque d'accoutumance et de surdosage, faible gain pondéré par les EI

Duloxétine : inhibiteur du recaptage de la sérotonine et de la noradrénaline	Les lignes directives de l'OARSI et l'ACR recommandent son utilisation, autorisée pour les douleurs musculosquelettiques aux Etats-Unis (pas en Europe)	Preuves limitées de son utilisation
Corticostéroïdes intra-articulaires	Recommandés pour l'arthrose du genou et de la hanche chez les patients résistants aux analgésiques oraux ou topiques, avantages analgésiques à court terme	Preuves des bénéfices cliniques restent peu claires (faible qualité globale des essais)
AASAL (nutraceutiques) : glucosamine et chondroïtine sulfate	Ne sont pas recommandées dans les lignes directives publiées par les organismes internationaux	Résultats des essais cliniques contradictoires, pas d'avantages cliniques pertinents dans l'ensemble

*Tableau 1 : Liste non exhaustive des traitements pharmacologiques pour le traitement de l'arthrose (4,9,21).
AINS = anti-inflammatoire non stéroïdien ; AIS = anti-inflammatoire stéroïdien ; AASAL = anti-arthrosique symptomatique d'action lente ; COX-2 = cyclo-oxygénase 2 ; EI = effets indésirables.*

Les traitements actuels sont donc modérément efficaces et soulagent uniquement les symptômes des patients (douleur et gêne fonctionnelle). La plupart des patients atteints d'arthrose ont des douleurs persistantes malgré la prise des thérapies qui leur sont prescrites.

1.6.4 Viscosupplémentation

L'acide hyaluronique est un glycosaminoglycane présent dans le liquide synovial et le cartilage. L'injection IA d'acide hyaluronique améliore la mobilité grâce à ses propriétés viscoélastiques qui confèrent au liquide synovial des propriétés de lubrification et d'absorption des chocs. Le traitement comporte une injection par semaine, avec une durée du traitement de 2 à 5 semaines. Les résultats apparaissent après quelques jours et persistent jusqu'à 1 an dans le meilleur des cas. Aujourd'hui, l'utilisation de l'acide hyaluronique dans l'arthrose reste controversée et n'est généralement pas recommandée. En effet, des études sur l'injection IA d'acide hyaluronique ont indiqué que le bénéfice de son utilisation est limité et n'a pas montré de pertinence significative dans l'arthrose (25–27).

1.6.5 Approches chirurgicales

La chirurgie ne doit être envisagée que lorsque toutes les autres méthodes appropriées et moins invasives ont été mises en œuvre. Elle représente la solution extrême pour traiter l'arthrose à un stade très avancé, caractérisée par la dégradation presque totale du cartilage articulaire conduisant à une articulation non fonctionnelle. Les informations concernant les avantages et les risques de la chirurgie doivent être correctement expliquées au patient (28).

L'arthroscopie est une technique chirurgicale mini-invasive qui utilise un arthroscope, un tube mince muni d'une caméra, pour visualiser l'intérieur de l'articulation. Elle permet au chirurgien d'examiner l'articulation, d'effectuer des réparations mineures, de retirer des tissus ou des débris endommagés, et de traiter divers problèmes articulaires en temps réel. L'intérêt thérapeutique de l'arthroscopie est controversé avec plusieurs essais montrant une faible amélioration de la douleur et de la gêne fonctionnelle chez les patients (28).

L'ostéotomie est une intervention chirurgicale permettant de rééquilibrer les pressions en transférant la charge du compartiment malade vers le compartiment sain. Elle est souvent utilisée pour les articulations de charge comme la hanche ou le genou, et est limitée aux patients souffrant d'arthrose unicompartmentale. L'ostéotomie vise principalement à diminuer la douleur, à améliorer la fonction et éventuellement à ralentir la progression de l'arthrose (28).

L'arthroplastie est une procédure chirurgicale majeure consistant à remplacer l'articulation endommagée par une prothèse. Cette approche vise à réduire la douleur, à améliorer la mobilité et à restaurer la fonction articulaire. Elle est envisagée uniquement pour les patients qui n'ont pas répondu de manière appropriée aux autres traitements et dont l'état fonctionnel est sévèrement altéré. C'est une procédure très efficace pour les personnes atteintes d'arthrose en phase terminale, bien que son rétablissement soit généralement de longue durée (28).

À ce jour, aucun traitement n'est capable de modifier ou stopper les dommages induits par la maladie. Les traitements symptomatiques permettent, au mieux, le soulagement de la douleur et de la gêne fonctionnelle. Le principal défi est donc le développement de nouveaux traitements sûrs et efficaces pour l'arthrose, comprenant simultanément la modification de sa progression structurelle et la réduction de ses conséquences symptomatiques (29).

1.7 Nouvelles approches thérapeutiques

Cette partie se concentre sur les nouvelles approches thérapeutiques à diverses phases de développement clinique, dans le but d'améliorer la gestion de la douleur tout en inhibant les phénomènes inflammatoires et dégénératifs qui contribuent à la pathogénèse de la maladie (Figure 4).

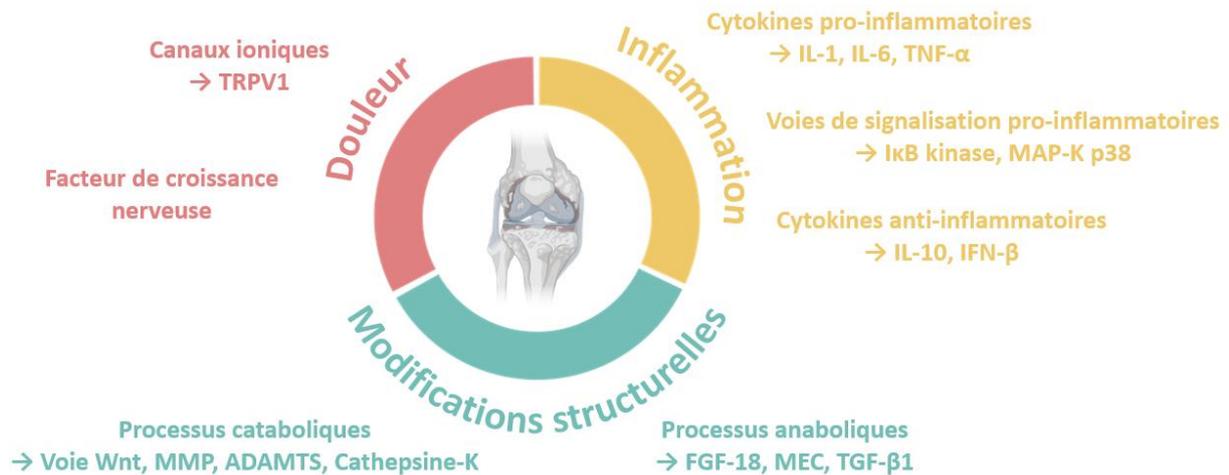


Figure 4 - Les nouvelles approches thérapeutiques pour le traitement de l'arthrose

1.7.1 Traitements ciblant les processus de la douleur

Les options thérapeutiques actuelles pour traiter la douleur chronique chez les patients atteints d'arthrose sont limitées et peuvent avoir des effets indésirables importants. Par conséquent, des ressources considérables ont été consacrées au développement de nouveaux médicaments efficaces et sûrs pour contrôler la douleur liée à l'arthrose.

1.7.1.1 Anticorps monoclonaux dirigés contre le facteur de croissance nerveuse

Le facteur de croissance nerveuse (NGF) est une protéine neurotrophique qui active les neurones nociceptifs responsables de la transmission de la douleur et exerce ses effets sur les neurones par l'intermédiaire de récepteurs tyrosine kinase. Depuis près de 20 ans, les anticorps monoclonaux dirigés contre le NGF ont montré des résultats encourageants pour soulager la douleur chez les patients atteints d'arthrose (30). Néanmoins, l'Agence fédérale américaine des produits alimentaires et médicamenteux (FDA) a suspendu les essais en cours en 2010 en raison de rapports signalant des effets indésirables graves, de progression rapide de l'arthrose et d'une augmentation de la demande d'arthroplastie (31). Les essais ont repris en 2015 avec des conditions strictes, notamment une surveillance étroite, des doses limitées (i.e., 2,5 mg et 5 mg) et des restrictions d'inscriptions (32).

Médicament	Cible	Articulation touchée	Résultats	ID et phase de l'étude
Tanezumab (33)	NGF	Hanche et genou	Réductions significatives de la douleur et amélioration de la fonction physique à 16 semaines, mais arthrose évoluant rapidement et arthroplastie plus fréquentes	NCT02697773 Phase III
Tanezumab (34)	NGF	Hanche et genou	Réductions significatives de la douleur, de la fonction physique et de l'évaluation globale de l'arthrose à 24 semaines, mais arthrose évoluant rapidement plus fréquente	NCT02709486 Phase III
Tanezumab (35)	NGF	Hanche et genou	Efficacité précoce et durable de tanezumab sous-cutané ou des AINS oraux jusqu'à 56 semaines, avec réduction de la douleur, de la fonction physique et de l'évaluation globale de l'arthrose Tanezumab bien toléré, mais des EI dose-dépendants plus fréquents qu'avec les AINS	NCT02528188 Phase III
Fasinumab (REGN475) (36)	NGF	Hanche et genou	Réductions significatives de la douleur, de la fonction physique et de l'évaluation globale de l'arthrose pour toutes doses, avec des taux d'EI de 17% pour le Fasinumab vs 10% pour le placebo	NCT02447276 Phase IIb/III

Tableau 2 : Traitements ciblant les anticorps monoclonaux dirigés contre le facteur de croissance nerveuse (EI = effets indésirables).

1.7.1.2 Canaux ioniques

Les canaux ioniques jouent un rôle important dans la transmission des signaux de la douleur. Il est possible de bloquer cette transmission en ciblant certains de ces canaux, tels que les canaux TRPV1, qui ont été identifiés comme des cibles thérapeutiques prometteuses pour le traitement de la douleur dans l'arthrose (37). Le TRPV1 (récepteur transitoire de la sous-familles V membre 1) est un canal ionique non sélectif exprimé par les neurones sensoriels responsables de la régulation de la température corporelle et de la transmission des signaux de la douleur au cerveau.

Médicament	Cible	Articulation touchée	Résultats		ID de l'étude
Capsaïcine (CNTX-4975) (38)	Canal TRPV1 (agoniste)	Genou	Réduction significative de la douleur à 24 semaines, bon profil de sécurité, phases III en cours		NCT02558439 Phase II
NEO6860 (39) et (40)	Canal TRPV1 (antagoniste)	Sujets sains	Amélioration de la douleur et de l'hyperalgésie secondaire	Pas d'impact sur la température corporelle ni sur le seuil de douleur thermique	NCT02337543 Phase I
		Genou	Tendance analgésique vs placebo		NCT02712957 Phase II
JNJ-39439335 (Mavatrep) (41)	Canal TRPV1 (antagoniste)	Genou	Réduction significative à 7 jours de la douleur, raideur et fonction physique vs placebo, mais nécessaire d'ajuster les doses car EI de perception thermique		NCT00933582 Phase I

Tableau 3 : Traitements ciblant les canaux ioniques (EI = effets indésirables).

1.7.2 Traitements ciblant les médiateurs et les processus inflammatoires

Aujourd'hui, l'inflammation fait partie intégrante du développement de l'arthrose (42). Les médiateurs inflammatoires libérés par les cellules articulaires jouent un rôle crucial dans la douleur et la dégradation de l'articulation. Dans ce contexte, de nombreuses recherches se sont concentrées sur l'inhibition de la production ou des effets de ces médiateurs inflammatoires, tandis que d'autres ont exploré le potentiel anti-inflammatoire des cytokines pour réduire l'inflammation.

1.7.2.1 Cytokines pro-inflammatoires

L'interleukine 1 (IL-1), l'IL-6 et le facteur de nécrose tumorale (TNF- α) sont les principales cytokines pro-inflammatoires impliquées dans la physiopathologie de l'arthrose.

Médicament	Cible	Articulation touchée	Résultats	ID de l'étude
Anakinra (43)	IL-1 (agoniste IL-1RA)	Genou	Pas d'amélioration des symptômes, 12 semaines	NCT00110916 Phase II

AMG 108 (44)	IL-1 (inhibiteur)	Genou	Pas d'amélioration de la douleur, 12 semaines	NCT00110942 Phase II
Lutikizumab (ABT-981) (45)	IL-1 (antagoniste)	Genou et signes de synovite	Amélioration limitée de la douleur et absence d'amélioration de la synovite, 50 semaines	NCT02087904 Phase II
Tocilizumab (46)	IL-6 (inhibiteur)	Main	Pas d'amélioration de la douleur ni de la fonction physique vs placebo, 12 semaines	NCT02477059 Phase III
Adalimumab (47)	TNF- α (inhibiteur)	Main	Pas d'amélioration significative de la douleur ni de la synovite vs placebo, 12 semaines	Essai HUMOR
Adalimumab (48)	TNF- α (inhibiteur)	Genou	Semble efficace sur la réduction des symptômes, 12 semaines, mais pas de groupe témoin pour comparaison	NCT00686439 Phase I/II
Adalimumab (49)	TNF- α (inhibiteur)	Genou	Bien toléré, réduction de la douleur, amélioration de la fonction et de l'évaluation globale vs AH, 4 semaines	
Etanercept (50) et (51)	TNF- α (inhibiteur)	Main	Pas de réduction significative de la douleur vs placebo, 24 semaines, mais des effets sur l'os sous- chondral et une réduction des niveaux sériques de MMP-3	Etude EHOA

Tableau 4 : Traitements ciblant les cytokines pro-inflammatoires (AH = acide hyaluronique).

1.7.2.2 Voies de signalisation pro-inflammatoires

Jusqu'à maintenant, le choix de cibler une seule cytokine s'est révélé peu efficace. Récemment, des approches ont été développées pour perturber les éléments en amont de la cascade de signalisation pro-inflammatoire. La voie de signalisation du facteur nucléaire- κ B (NF- κ B) joue un rôle essentiel dans la synthèse des cytokines pro-inflammatoires et d'autres médiateurs majeurs associés à l'inflammation, la douleur et la détérioration des tissus. L'I κ B kinase est une enzyme clé de la voie NF- κ B. Une autre approche vise à cibler la voie de signalisation de la protéine kinase activée par le mitogène p38 (MAP-K p38), qui joue un rôle clé dans la production de médiateurs inflammatoires.

Médicament	Cible	Articulation touchée	Résultats	ID de l'étude
SAR113945 (52)	I κ B kinase (inhibiteur)	Genou	Tendance positive sur les scores de douleur et de fonction articulaire, sûr et bien toléré	NCT01113333 NCT01463488 NCT01511549 Phases I
			Efficacité supérieure mais uniquement dans un sous-groupe présentant un épanchement au début de l'étude	NCT01598415 Phase IIa
PH-797804 (53)	MAP-K p39 (inhibiteur)	Genou	En cours	NCT01102660 Phase II
FX-005 (54)		Genou	En cours	NCT01291914 Phase I/II

Tableau 5 : Traitements ciblant les voies de signalisation pro-inflammatoires.

1.7.2.3 Cytokines anti-inflammatoires

Le XT-150 est une thérapie génique injectable localement qui utilise la technologie de l'ADN plasmidique pour délivrer une version brevetée de l'IL-10 humain. Le ART-I02 est un vecteur recombinant du virus adéno-associé de type 5 exprimant l'interféron β (IFN- β), sous le contrôle transcriptionnel du promoteur répondant au facteur nucléaire κ -B.

Médicament	Cible	Articulation touchée	Résultats	ID de l'étude
XT-150 (55)	IL-10	Genou	Réduction significative de la douleur et amélioration des scores fonctionnels vs placebo, avec un bon profil de sécurité, 8 EIG non liés au médicament	NCT03282149 NCT03477487 Phases I NCT04124042 Phase IIb
ART-I02 (56)	IFN- β	Arthrite inflammatoire de la main	EI chez 3 patients sur 4, essai interrompu, en attente de résultats pour l'arthrose	NCT02727764 Phase I

Tableau 6 : Traitements ciblant les cytokines anti-inflammatoires (EIG = effets indésirables graves ; EI = effets indésirables).

1.7.3 Traitements ciblant les modifications structurelles

Comme mentionné précédemment, l'arthrose est une maladie de l'ensemble de l'articulation qui se manifeste principalement par une dégradation du cartilage articulaire et des modifications de l'os sous-chondral. Un déséquilibre entre les processus cataboliques et anaboliques entraîne la détérioration de l'articulation. C'est pourquoi de nombreuses études se sont penchées sur le rétablissement de l'équilibre naturel de l'articulation, que ce soit en inhibant les voies cataboliques, ou en améliorant les voies anaboliques.

1.7.3.1 Processus cataboliques

La voie Wnt joue un rôle essentiel dans le maintien de l'équilibre et la régénération des tissus et est considérée comme un régulateur clé dans la différenciation des cellules progénitrices dans l'articulation du genou. Une autre stratégie cible les métalloprotéinases (MMP) et les aggrecanases (ADAMTS), des enzymes impliquées dans la dégradation de la matrice extracellulaire (MEC), en particulier du collagène de type II et de l'agrecane, qui assurent élasticité et compressibilité du cartilage. De plus, une autre approche vise la cathepsine-K, une protéase à cystéine essentielle au remodelage osseux et récemment identifiée comme un facteur contribuant à l'apparition et à la progression de l'arthrose. Cette découverte ouvre la voie à des recherches sur le potentiel de la cathepsine-K en tant que cible thérapeutique pour le traitement de l'arthrose (57). Bien que les recherches et les effets de l'inhibition de la cathepsine-K dans le traitement de l'ostéoporose soient bien documentés, des améliorations sont encore nécessaires dans les études relatives à leur utilisation dans le contexte de l'arthrose.

Médicament	Cible	Articulation touchée	Résultats	ID de l'étude
Lorecivivint (SM04690) (58) et (59,60)	Voie Wnt (inhibiteur)	Genou	Améliorations de la douleur et de la fonction physique pour un sous-groupe souffrant d'arthrose unilatérale symptomatique du genou, sûr et bien toléré	NCT02536833 Phase IIa NCT03122860 Phase IIb
PG-116800 (PG-530742) (61)	MMP (inhibiteur)	Genou	Pas de différence significative, effets musculosquelettiques graves, essai interrompu	NCT00041756 Phase II
M6495 (62)	ADAMTS-5 (inhibiteur)	Sujets sains masculins	Profil de sécurité acceptable pour développement clinique	NCT03224702 Phase I

GLPG1972 / S201086 (63)	ADAMTS-5 (inhibiteur)	Genou	Aucune différence significative sur la perte du cartilage ni sur les symptômes vs placebo, 52 semaines	NCT03595618 Phase II
Balicatib (AAE581) (64)	Cathepsine-K (inhibiteur)	Genou	Réduction significative osseuse et sur la dégradation du COL2, mais aucune influence sur le volume du cartilage, essai interrompu dû à des éruptions cutanées et fibrose dermique	NCT00371670 Phase II
MIV-711 (65) et (66)	Cathepsine-K (inhibiteur)	Genou	Pas d'amélioration de la douleur mais une réduction significative sur la progression des os et du cartilage vs placebo, réduction significative de la douleur et bénéfices structurels dans un sous-groupe (douleur unilatérale)	NCT02705625 Phase II NCT03037489 (prolongation)

Tableau 7 : Traitements ciblant les processus cataboliques (COL2 = collagène de type 2).

1.7.3.2 Processus anaboliques

La famille des facteurs de croissance des fibroblastes (FGF) joue un rôle dans l'équilibre anabolique/catabolique du cartilage. Des études cliniques ont validé les propriétés de modification de la structure du FGF-18 humain recombinant, connu sous le nom de sprifermine, pour traiter l'arthrose du genou. La sprifermine cible les récepteurs FGFR3 présents sur les cellules du cartilage, favorisant la chondrogenèse, la formation de la matrice extracellulaire ainsi que la réparation du cartilage. Une autre approche cible le TPX-100, un peptide synthétique dérivé de la matrice qui stimule la formation d'os et de cartilage. Enfin, une nouvelle thérapie vise le TGF- β , qui joue un rôle important dans la régulation de l'homéostasie et des maladies articulaires. Dans l'arthrose, une perturbation de cette homéostasie peut survenir en raison d'un dysfonctionnement ou d'une diminution de l'activité de TGF- β , conduisant à une détérioration de la structure et de la fonction du cartilage. TissueGene-C est une thérapie génique à médiation cellulaire impliquant des chondrocytes humains allogéniques génétiquement modifiés exprimant le TGF- β 1 (GEC-TGF- β 1).

Médicament	Cible	Articulation touchée	Résultats	ID de l'étude
Sprifermine (67,68)	FGF-18	Genou	Bon profil sécurité, avec réduction de la perte de l'épaisseur du cartilage FT et FTL, pas de changement de l'épaisseur du cartilage FTMC vs placebo, 12 mois	NCT01033994 Phase I
Sprifermine (69) et (70)	FGF-18	Genou	Amélioration de l'épaisseur du cartilage de l'articulation FT totale, maintenue jusqu'à 5 ans, pas d'amélioration de la douleur ni de la fonction articulaire, 2 ans	NCT01919164 Phase II (FORWARD)
TPX-100 (71)	MEC	Genou	Diminution significative du changement de la forme de l'os vs placebo, corrélation avec l'épaisseur du cartilage, 12 mois	NCT01925261 Phase II
TissueGene-C (GEC-TGF- β 1) (72) et (73)	TGF- β 1	Genou	Effets positifs sur la fonction articulaire, la douleur vs placebo Suivi IRM après 1 an : moins de progression des lésions du cartilage et de la synovite	NCT01221441 Phase II NCT03291470 NCT03203330 Phases III (en cours)

Tableau 8 : Traitements ciblant les processus anaboliques (FT = fémoro-tibial, FTL = fémoro-tibial latéral, FTMC = fémoro-tibial médian central).

Les avancées récentes dans la compréhension de l'arthrose ont mis en évidence l'importance cruciale de plusieurs nouvelles voies. Actuellement, de nombreuses approches thérapeutiques sont en cours d'exploration dans le but de soulager la douleur, de réduire l'inflammation et de modifier la progression de la maladie. Cependant, l'arthrose est une maladie très hétérogène et multifactorielle qui implique l'ensemble de l'articulation. Un traitement qui se concentre uniquement sur un seul tissu articulaire, une seule voie de signalisation ou un seul facteur peut se révéler inefficace, comme en témoigne les résultats décevants observés dans de nombreuses études cliniques chez l'Homme. Il est probable que le développement d'une thérapie combinant différentes stratégies soit plus efficace pour contrôler à la fois les symptômes et la progression structurelle de la maladie.

2 La thérapie cellulaire pour l'arthrose

La thérapie cellulaire vise à restaurer la fonction d'un tissu ou d'un organe en greffant des cellules. Son objectif principal est d'offrir un traitement durable en utilisant, de préférence, une seule administration de cellules thérapeutiques. La découverte des cellules souches mésenchymateuses (CSM) a ouvert de nouvelles perspectives dans le domaine de la thérapie cellulaire et de la médecine régénérative, en particulier grâce à leur capacité à sécréter des facteurs anti-inflammatoires et immunomodulateurs (74).

2.1 Les cellules souches mésenchymateuses

2.1.1 Généralités

Les CSM sont des cellules hétérogènes capables de s'auto-renouveler, de se différencier en plusieurs lignées et d'exercer leurs effets paracrines. Elles ont été découvertes dans les années 70 par Friedenstein *et al* (75).

En raison de l'essor de nombreuses études portant sur les propriétés des CSM, l'International Society for Cellular Therapy (ISCT) a établi des critères minimaux à respecter pour qu'une cellule puisse être qualifiée de cellule stromale mésenchymateuse (Figure 5). Tout d'abord, les CSM doivent adhérer au plastique lorsqu'elles sont maintenues dans des conditions de culture standard. Ensuite, plus de 95% de la population des CSM doit exprimer les marqueurs positifs CD105, CD73 et CD90 ; à l'inverse, moins de 2% de la population des CSM doit exprimer les marqueurs négatifs CD45, CD34, CD14 ou CD11b, CD79 α ou CD19 et HLA classe II. Pour finir, les CSM sont définies comme des cellules multipotentes et doivent être capables de se différencier en ostéoblastes, adipocytes et chondrocytes dans des conditions de différenciation *in vitro* standard (76).

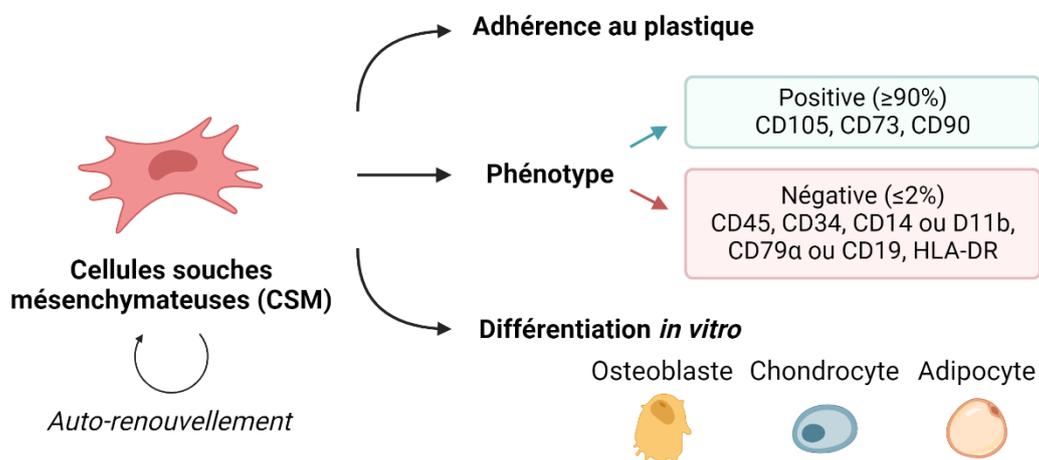


Figure 5 - Caractéristiques des CSM (76)

Initialement identifiées et isolées à partir de la moëlle osseuse, les CSM peuvent désormais être isolées à partir de nombreux types de tissus tels que le tissu adipeux, le sang de cordon ombilical, la peau, le tendon, le muscle et la pulpe dentaire (77). Les cellules souches mésenchymateuses dérivées du tissu adipeux (ASC) offrent des avantages techniques par rapport à d'autres sources de CSM : disponibilité et abondance du tissu, facilité de prélèvement par liposuction et procédure moins invasive. De plus, les ASC possèdent un potentiel de différenciation élevé ainsi qu'une bonne capacité de prolifération (78).

Les CSM représentent donc une source de cellules pertinente pour les applications en ingénierie tissulaire, car elles peuvent se différencier en trois types cellulaires différents et peuvent être rapidement multipliées en grandes quantités après leur isolement à partir de différentes sources tissulaires. En plus de ces propriétés, les CSM ont également suscité un grand intérêt en raison de leurs capacités immunomodulatrices et sécrétrices, reposant à la fois sur leurs interactions directes avec d'autres cellules et de leur mode d'action paracrine (79).

2.1.2 Propriétés de sécrétion et immunomodulation

Les CSM se distinguent par leur capacité à moduler leur comportement en fonction de l'environnement dans lequel elles évoluent. Lorsqu'elles sont exposées à un microenvironnement inflammatoire, les CSM sont activées, libérant des médiateurs inflammatoires. Les facteurs thérapeutiques solubles sécrétés par les CSM incluent notamment des cytokines anti-inflammatoires, des facteurs de croissance, des exosomes et des chimiokines. Ces substances bioactives sont connus pour moduler la réponse immunitaire et réduire l'inflammation (80).

Cette sécrétion de facteurs exerce des effets significatifs sur diverses cellules du microenvironnement. Les CSM activées modulent les réponses immunitaires en réduisant l'activation et la prolifération des cellules B, en inhibant la prolifération des cellules T pro-inflammatoires, tout en favorisant la génération de cellules T régulatrices. De plus, les CSM activées influent sur les chondrocytes, en favorisant leur régénération et leur différenciation, participant ainsi à la préservation de l'intégrité du cartilage articulaire (Figure 6) (81,82).

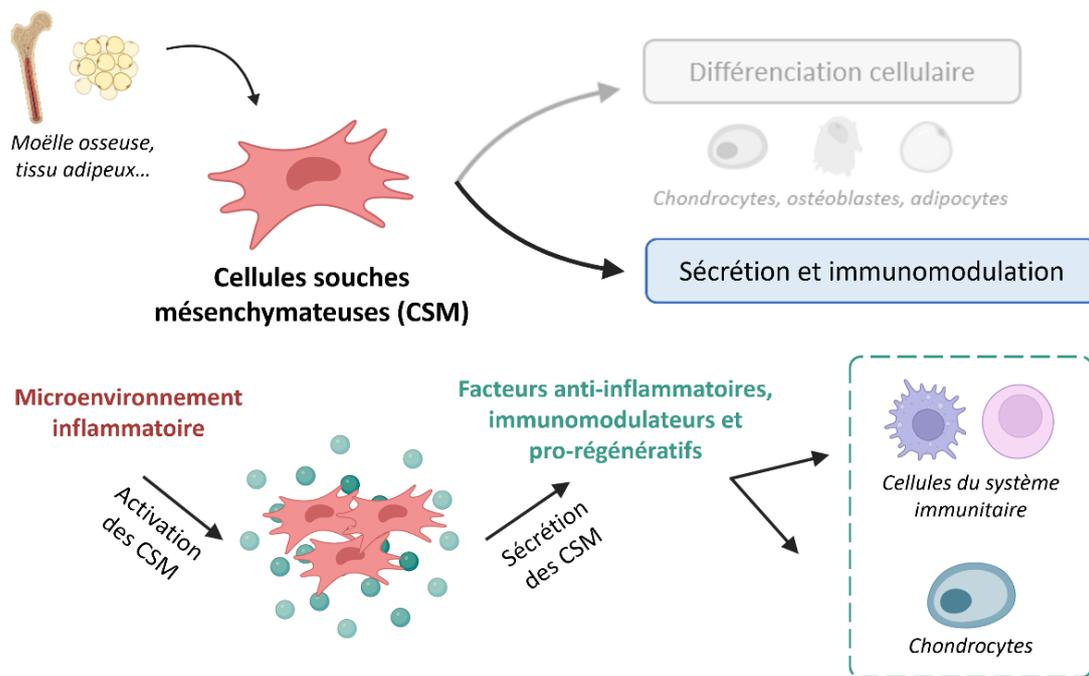


Figure 6 - Schéma du concept de la thérapie cellulaire de l'arthrose, basée sur la capacité des CSM à produire des facteurs thérapeutiques solubles en réponse à leur activation (80)

Ainsi, grâce à leur capacité de différenciation multi-lignées, leur capacité à moduler la réponse immunitaire, leur activité paracrine, leur facilité de prélèvement à partir des tissus sources et leur excellent potentiel de prolifération in vitro, les CSM sont reconnues comme une source idéale pour la thérapie dans le domaine de la régénération tissulaire, ainsi que pour le traitement des maladies inflammatoires.

2.1.3 Injection intra-articulaire de CSM pour le traitement de l'arthrose

Les propriétés anti-inflammatoires, immunomodulatrices et sécrétrices des CSM ont conduit au développement de nouvelles thérapies permettant leur injection IA chez les patients atteints d'arthrose. Des études pré-cliniques ont démontré que l'injection IA de CSM est associée à un ralentissement de la destruction du cartilage et une diminution de l'inflammation (83,84). Plusieurs études chez l'animal ont également démontré que des injections multiples de CSM permettent d'améliorer et de prolonger les effets observés par rapport à une seule injection (85–87).

De plus, l'injection IA de CSM a révélé une diminution de la douleur et une amélioration de la fonctionnalité articulaire chez l'Homme (88–93). Parmi les nombreuses études de phase I et II en cours, on peut notamment citer ADIPOA et ADIPOA-2 (Adipose derived mesenchymal stromal cells in patients with knee osteoarthritis). Ces études ont démontré que l'injection IA

de CSM chez des patients souffrant d'arthrose du genou a conduit à des améliorations significatives des niveaux de douleurs et de la fonction par rapport à la situation de départ.

Tous les résultats de ces études suggèrent que la présence prolongée des CSM au sein de l'articulation est nécessaire pour maximiser les effets du traitement (Figure 7). Cependant, des recherches *in vitro* et *in vivo* ont révélé deux principales limites de l'injection IA des CSM : (i) les méthodes d'injection utilisées entraînent une mort cellulaire importante après injection dans l'espace articulaire (94), et (ii) une fuite des cellules hors de la zone d'injection est observée en raison de leur tendance à migrer (95,96).

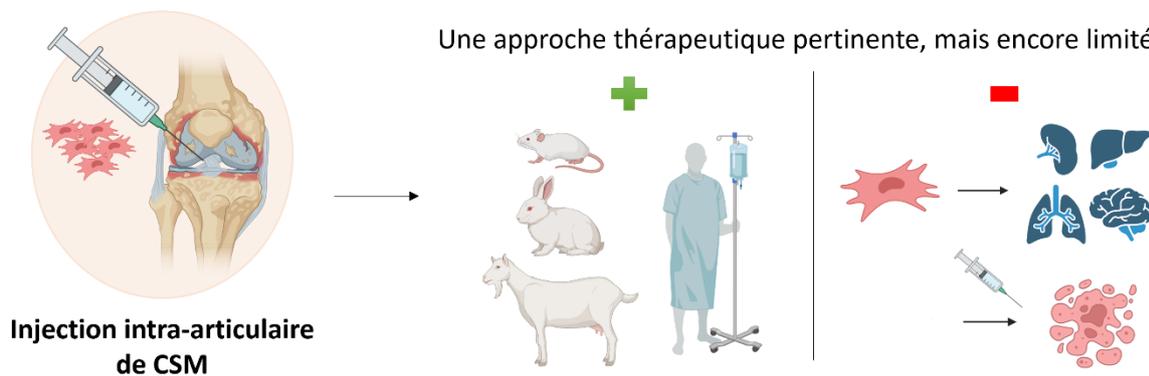


Figure 7 - Synthèse des effets positifs et des limites liées à l'injection intra-articulaire de CSM dans la thérapie cellulaire de l'arthrose

Dans ce contexte, le développement de techniques d'encapsulation de cellules a été suggéré afin d'améliorer la thérapie cellulaire de l'arthrose, éviter les administrations multiples et remédier aux limites de l'injection IA des CSM.

2.2 L'encapsulation cellulaire

L'encapsulation cellulaire a été introduite pour la première fois en 1980 par Lim et Sun pour éviter les effets immunosuppresseurs lors de l'injection de cellules pancréatiques chez des rats diabétiques (97). Depuis, elle a suscité un intérêt croissant en tant que moyen potentiel pour la médecine régénérative et l'administration de médicaments à long terme.

2.2.1 Généralités

L'objectif principal de l'encapsulation cellulaire est de protéger les cellules des forces mécaniques auxquelles elles sont soumises lors de leur injection dans l'organisme, tout en favorisant leur survie, leur fonctionnalité, et leur immobilisation dans le tissu cible.

L'utilisation d'hydrogels pour l'injection de cellules a été investiguée en comparant leur viabilité, qu'elles soient encapsulées ou non dans de l'alginate, après injection à travers une

aiguille. Les cellules non encapsulées présentaient une viabilité cellulaire de 59 %, tandis que l'encapsulation dans l'alginate réticulé au calcium a considérablement amélioré la viabilité cellulaire à 89 % (94). Cette différence met en évidence l'efficacité de l'hydrogel pour protéger les cellules des contraintes de cisaillement lors de l'injection, renforçant ainsi leur potentiel thérapeutique.

L'encapsulation cellulaire offre un potentiel prometteur dans le traitement de l'arthrose en surmontant les limitations de l'injection IA de cellules libres au sein de l'articulation et en évitant les administrations multiples chez le patient. Il est donc essentiel de tenir compte de paramètres fondamentaux tels que la taille des hydrogels, leurs propriétés mécaniques, ainsi que la diffusion des molécules au travers.

De plus, la stabilité des hydrogels doit résister aux contraintes articulaires, car toute perte de l'intégrité des hydrogels peut entraîner la libération des CSM encapsulées, avec le risque de migration vers d'autres tissus. La stabilité de l'hydrogel joue un rôle essentiel pour assurer la présence prolongée des CSM dans la cavité articulaire et pour exploiter pleinement leur capacité à sécréter des facteurs thérapeutiques à la demande afin de répondre aux épisodes inflammatoires de l'arthrose et d'éviter de multiples administrations au patient (98).

Enfin, une diffusion bidirectionnelle est essentielle afin d'établir une communication entre les cellules encapsulées dans l'hydrogel et les cellules environnantes. Dans un environnement inflammatoire, les molécules pro-inflammatoires entrent dans l'hydrogel pour stimuler les CSM encapsulées, et en réponse à ce stimulus, les CSM libèrent des molécules anti-inflammatoires qui sortent de l'hydrogel et exercent leurs effets sur les cellules cibles (Figure 8) (99).

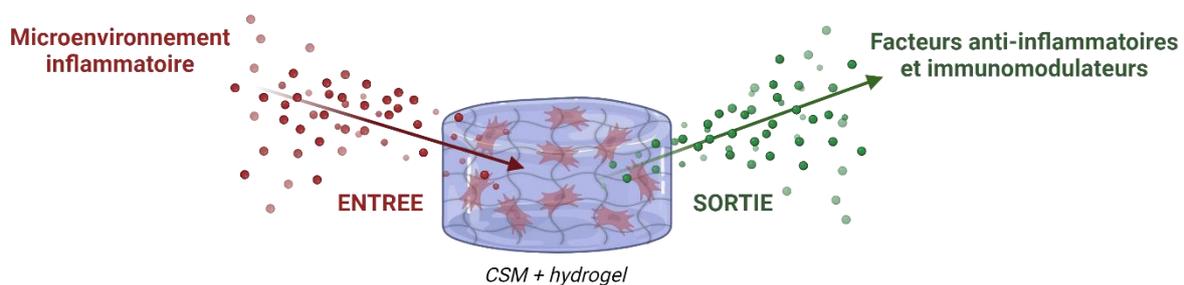


Figure 8 - Schéma illustratif de la diffusion bidirectionnelle de l'encapsulation des CSM

2.2.2 Les hydrogels

Un hydrogel est défini comme un réseau tridimensionnel de polymères hydratés, formé par des liaisons ou interactions chimiques entre les chaînes de polymère (Figure 9). Les hydrogels ont été développés et utilisés dans diverses applications biomédicales telles que la délivrance de petites molécules, de protéines, et de cellules, ainsi que pour des applications d'ingénierie tissulaire (100,101).

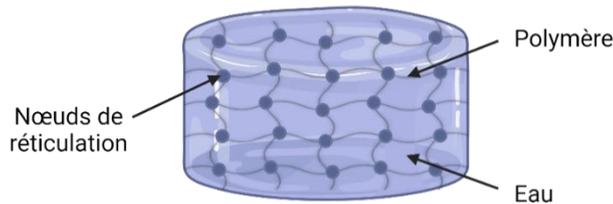


Figure 9 : Représentation schématique d'un hydrogel

La caractérisation des hydrogels inclut notamment l'évaluation de leurs propriétés mécaniques, de leur capacité de gonflement, de la taille des mailles du réseau et de leur dégradation. Les propriétés physicochimiques des hydrogels dépendent fortement du type de réticulation, de la densité de réticulation, du poids moléculaire et des polymères utilisés (102).

Il existe différents types d'hydrogels qui peuvent être classés en fonction de leur origine/source (polymères naturels ou synthétiques), ou en fonction des méthodes de réticulation (liaisons non covalentes, covalentes ou dynamiques covalentes).

2.2.2.1 Polymères utilisés en médecine régénératrice

Les hydrogels peuvent être obtenus à partir de polymères naturels et/ou synthétiques. Les polymères naturels sont généralement dérivés de protéines, tels que la gélatine, le collagène et la fibrine, ou de polysaccharides, tels que l'alginate et l'acide hyaluronique. Ils sont relativement peu coûteux et ont des origines différentes telles que les plantes ou les animaux (103). Les polymères naturels peuvent former un gel grâce à des interactions physiques entre leurs chaînes ou, dans certains cas, par une réticulation ionique avec des ions. Les hydrogels préparés à partir de ces polymères offrent un avantage en raison de leur cytocompatibilité. Cependant, l'obtention de ces polymères peut nécessiter des procédés d'extraction et de purification qui peuvent impliquer l'utilisation de traitements chimiques lourds (104,105).

D'autre part, les hydrogels peuvent être formés à partir de polymères synthétiques, tels que le poly(éthylène glycol), le poly(acrylamide) ou encore le poly(alcool vinylique). Les hydrogels préparés à partir de polymères synthétiques se caractérisent par des propriétés mécaniques fortes et plus reproductibles, ainsi qu'une meilleure stabilité chimique. Ils permettent de

s'adapter aux besoins spécifiques de chaque application, comme par exemple des conditions physiologiques requises pour l'encapsulation de cellules (104,105).

2.2.2.2 Méthodes de réticulation

En fonction des polymères et des molécules réactives impliquées, le réseau des hydrogels peut se former via des liaisons non covalentes, des liaisons covalentes ou des liaisons dynamiques covalentes. Le choix entre ces types de liaisons dépend fortement de l'application spécifique du réseau hydrogel, de ses exigences en termes de stabilité, de réactivité et de flexibilité.

Type de liaisons	Avantages	Inconvénients
Liaisons non covalentes (réversibles)	<ul style="list-style-type: none"> - Autoassemblage, réseaux simples - Réversibilité propice aux adaptations structurelles (déformation de l'hydrogel sous la contrainte) 	<ul style="list-style-type: none"> - Sensibles aux conditions environnementales - Forces d'interactions faibles - Stabilité du réseau limitée
Liaisons covalentes (permanentes)	<ul style="list-style-type: none"> - Hydrogels stables - Réseaux complexes, matériaux plus résistants - Propriétés ajustables 	<ul style="list-style-type: none"> - Irréversibilité des liaisons : possible rupture du gel après une forte contrainte - Moins adaptable
Liaisons dynamiques covalentes (réversibles)	<ul style="list-style-type: none"> - Hydrogels autoréparants - Réversibilité propice aux adaptations structurelles (déformation de l'hydrogel sous la contrainte) - Hydrogels stables 	<ul style="list-style-type: none"> - Sensibles à l'environnement - Peuvent nécessiter des conditions spécifiques (limites applications)

Tableau 9 - Systèmes de réticulation envisageables pour la conception d'hydrogels et l'encapsulation de CSM

2.2.2.2.1 Liaisons non covalentes

Les liaisons non covalentes (Figure 10), telles que les interactions ioniques, les liaisons hydrogène ou les forces de Van der Waals, jouent un rôle essentiel dans l'assemblage des chaînes polymères. Ces interactions faibles mais réversibles permettent une certaine souplesse et adaptabilité dans la structure du réseau hydrogel, facilitant des applications telles que les médicaments à libération contrôlée et les supports de culture cellulaire. L'intervention d'un facteur externe tel que la température, le pH, la lumière ou la concentration ionique, peut initier

la formation d'un réseau. Néanmoins, la présence d'un facteur externe pourrait, au contraire, entraîner la déstabilisation du réseau (106).

Par exemple, la réticulation réversible de l'alginate avec les ions divalents, tels que le calcium, permet la création de ponts ioniques entre les chaînes de polymères, à température et pH physiologiques. Les alginates réticulés par voie ionique sont largement utilisés dans le domaine biomédical et l'ingénierie tissulaire en raison de leur caractère généralement non toxique pour les cellules et les molécules encapsulées. Cependant, la présence d'ions monovalents dans la cavité articulaire pourrait éventuellement conduire à une solubilisation progressive de ce réseau ionique, compromettant ainsi sa stabilité à long terme (107,108).

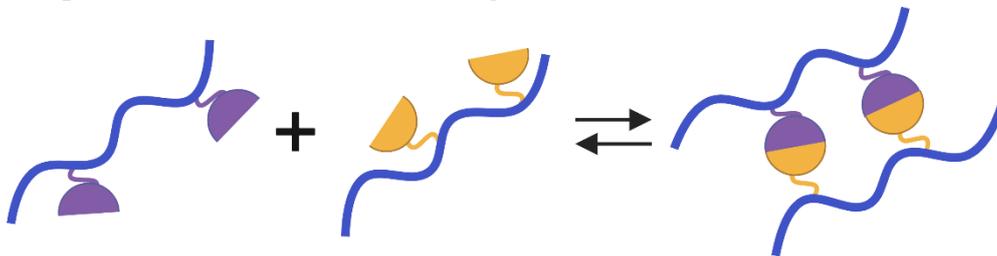


Figure 10 - Représentation schématique des liaisons non covalentes et réversibles

2.2.2.2.2 Liaisons covalentes

D'un autre côté, les liaisons covalentes (Figure 11) créent des liaisons permanentes entre les chaînes de polymères, assurant une stabilité structurelle accrue au réseau. Cependant, cela peut également rendre le réseau moins réversible et donc moins adaptable aux changements environnementaux ou aux exigences spécifiques de certaines applications. Les hydrogels formés d'un réseau de liaisons covalentes présentent également un temps de gélification, déterminé par le temps nécessaire pour la formation des liaisons covalentes entre les chaînes polymériques (109).

Afin d'éviter l'utilisation de catalyseurs incompatibles avec des applications médicales, les approches chimiques dites "click" et "bioorthogonales" sont désormais utilisées dans le domaine biomédical, comme par exemple l'addition de Michael, la réaction de Diels-Alder à demande électronique inversée (IEDDA), ou la cycloaddition azoture-alcyne promue par tension de cycle (SPAAC). La chimie click caractérise des réactions simples à température douce, offrant un rendement élevé, la formation de produits stables et de sous-produits sans danger, ainsi que des procédés de purification simples (110). Le concept de chimie bioorthogonale englobe les réactions chimiques entre des réactifs qui peuvent avoir lieu dans des environnements biologiques sans interférer avec les composants biologiques environnants (111).

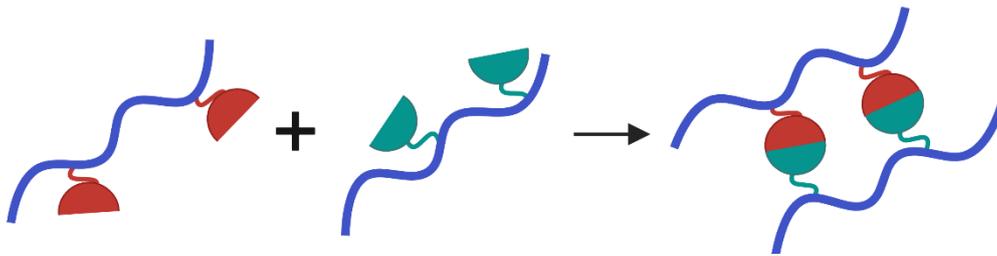


Figure 11 - Représentation schématique des liaisons covalentes et non réversibles

2.2.2.2.3 Liaisons dynamiques covalentes

Enfin, les liaisons dynamiques covalentes (Figure 12) ont la particularité de pouvoir continuellement se former, se rompre et se réorganiser dans l'espace, selon un équilibre chimique. Elles allient la stabilité des liaisons covalentes à la réversibilité des liaisons non covalentes, permettant la modification du réseau sous la contrainte. Ce comportement autoréparant confère aux hydrogels dynamiques covalents des propriétés attrayantes et ouvre de nouvelles perspectives d'applications prometteuses dans le domaine biomédical (112).

Parmi les diverses approches de réticulation dynamique covalente envisageables pour la création d'hydrogels dynamiques, cette thèse se concentre particulièrement sur les liaisons esters de boronate, lesquelles seront détaillées dans la section 3.

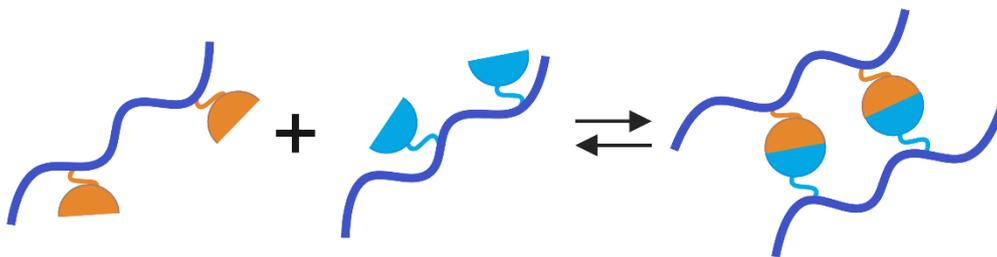


Figure 12 - Représentation schématique des liaisons dynamiques covalentes et réversibles

Ainsi, le choix du type de liaison pour la constitution du réseau hydrogel revêt une importance cruciale, impactant directement les propriétés mécaniques, la réactivité chimique et la fonctionnalité globale du matériau. Ces diverses caractéristiques confèrent aux hydrogels une amplitude d'applications, allant des dispositifs biomédicaux aux technologies émergentes, faisant ainsi de ce domaine de recherche un secteur prometteur et polyvalent.

2.3 Injection intra-articulaire de CSM encapsulées dans des hydrogels pour le traitement de l'arthrose

Les recherches antérieures sur l'injection intra-articulaire de CSM encapsulées dans des hydrogels pour le traitement de l'arthrose ont principalement utilisé des hydrogels à base d'alginate réticulé par voie ionique. L'alginate, en raison de ses propriétés de biocompatibilité et de sa capacité à former des gels en présence d'ions calcium, a été largement exploré depuis les années 80 dans diverses applications thérapeutiques, notamment dans le domaine de la thérapie du diabète.

Plusieurs études pré-cliniques ont démontré l'efficacité de l'alginate réticulé par voie ionique dans la thérapie cellulaire de l'arthrose. Par exemple, des travaux ont montré que l'hydrogel d'alginate permettait une prolongation de la présence *in vivo* des CSM, favorisant ainsi leur action prolongée dans une articulation de rat atteinte d'arthrose (113). Une autre étude a démontré une protection efficace des CSM à la fois contre les contraintes de cisaillement à court terme lors de l'injection (*in vitro*) et contre les frottements articulaires à long terme (*in vivo*) (114). Enfin, une étude récente a montré un ralentissement de la progression de l'arthrose, après injection IA de CSM dans une articulation de lapin atteinte d'arthrose, mais sans différence significative entre les cellules encapsulées et non encapsulées (115). Cependant, il est important de souligner que malgré les avancées réalisées avec l'alginate, certaines limites subsistent. Ces limites incluent notamment sa solubilisation progressive, induite par la présence d'ions monovalents dans des environnements ioniques tels que l'articulation, ainsi que la stabilité relativement faible de la réticulation par voie ionique, compromettant ainsi sa stabilité à long terme.

Ainsi, dans le cadre de ma thèse de sciences, j'ai exploré une alternative prometteuse en utilisant la cycloaddition azoture-alcyne promue par tension de cycle (SPAAC) pour l'encapsulation des cellules dans des hydrogels covalents. Cette méthode présenterait l'avantage de former des liaisons covalentes stables entre les composants de l'hydrogel, prolongeant ainsi la présence des CSM dans la cavité articulaire (116). Bien que les résultats de cette méthode de réticulation soient prometteurs, le laboratoire a mis en place une plateforme d'hydrogels capable de concevoir un hydrogel adapté à l'application biomédicale souhaitée, ouvrant ainsi la voie à de nouvelles réticulations.

L'utilisation d'hydrogels réticulés par des liaisons dynamiques covalentes représente une avancée significative dans le domaine car cette approche n'a pas été explorée auparavant pour le traitement de l'arthrose. Une collaboration a été établie entre les laboratoires RMeS (Inserm), CEISAM (CNRS) et BIA (INRAE) à Nantes, dans le but de développer de nouveaux hydrogels dynamiques à base d'unités boroniques, chaque entité apportant son expertise pour le projet SHELBY. Les liaisons dynamiques covalentes offrent une réversibilité qui peut favoriser une prolongation de la présence des CSM, tout en maintenant une stabilité mécanique adéquate de l'hydrogel dans l'environnement articulaire. En effet, face aux diverses contraintes articulaires, l'hydrogel dynamique covalent pourrait s'adapter et se réorganiser dans la cavité grâce à son comportement autoréparant.

Ainsi, cette thèse propose une perspective innovante et prometteuse pour l'utilisation d'hydrogels autoréparants dans le contexte de l'injection intra-articulaire de CSM pour le traitement de l'arthrose.

3 Conception d'hydrogels autoréparants pour l'encapsulation de CSM et la thérapie cellulaire de l'arthrose

Dans le cadre de la mise au point d'un traitement pour l'arthrose, il est crucial de sélectionner un hydrogel pertinent pour l'encapsulation et la délivrance des cellules. La stratégie envisagée dans cette thèse repose sur la conception d'hydrogels dynamiques, qui se distinguent par leur capacité à former les liaisons covalentes réversibles. Cet hydrogel, caractérisé par son comportement autoréparant, pourrait faire face aux contraintes mécaniques articulaires et ainsi créer un microenvironnement propice à la libération de facteurs anti-inflammatoires et immunomodulateurs sécrétés par les CSM.

3.1 Les hydrogels autoréparants

Les progrès récents sur la conception et l'ingénierie des réseaux de polymères ont conduit à la conception d'une nouvelle classe d'hydrogels possédant un caractère autoréparant. Ce comportement est basé sur la chimie dynamique covalente, où la force des liaisons covalentes est combinée à la réversibilité des interactions non covalentes. Les hydrogels autoréparants sont basés sur le concept d'équilibre rapide entre l'association et la dissociation réversibles des composants. Ainsi, les liaisons dynamiques covalentes ont la particularité de pouvoir continuellement se former, se rompre et se réorganiser dans l'espace suivant cet équilibre chimique (Figure 13) (117,118).

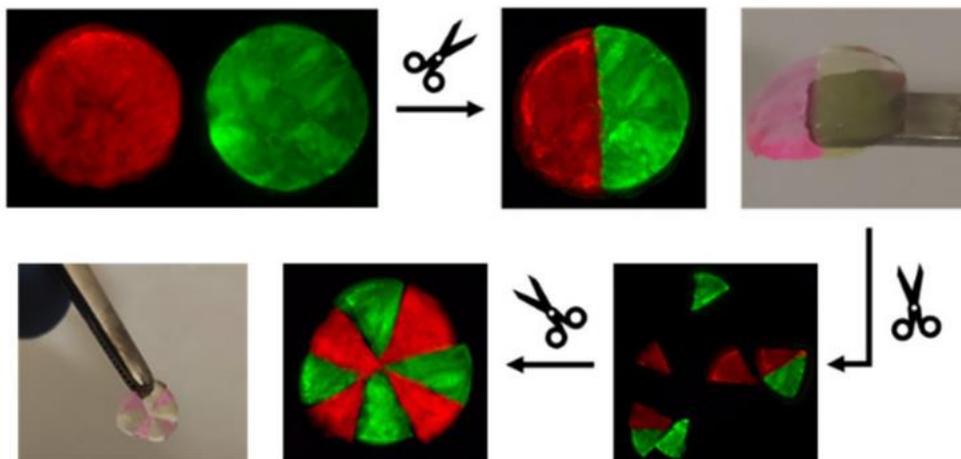


Figure 13 - Confirmation macroscopique des propriétés d'autoréparation des hydrogels dynamiques covalents après rupture du réseau. Adapté de (139)

Parmi les diverses approches de réticulation dynamique covalente envisageables pour la création d'hydrogels dynamiques, on peut citer la réaction de Diels-Alder, les bases de Schiff, et les liaisons esters de boronate. Cependant, les réactions dynamiques covalentes impliquent souvent l'utilisation de précurseurs dont la stabilité est limitée dans des conditions de pH physiologique, tels que les groupes thiol ou carbonyle. Cette thèse se focalisera uniquement sur la formulation d'hydrogels boroniques autoréparants à base d'esters de boronate, qui se distingue des autres réactions par la stabilité de ses précurseurs dans des conditions physiologiques (Figure 14) (119).

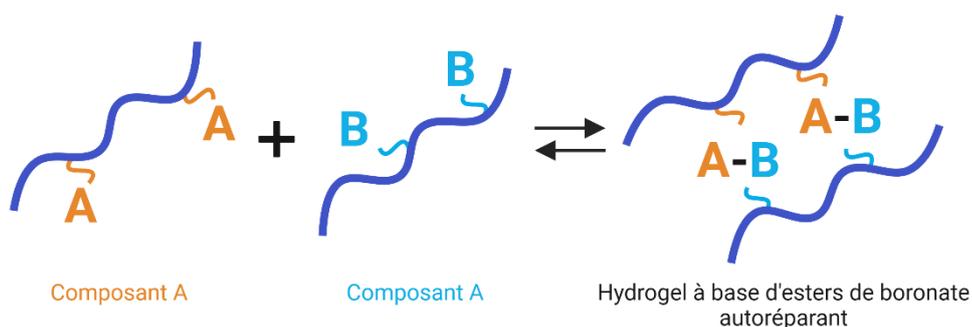


Figure 14 - Représentation schématique des liaisons dynamiques covalentes et réversibles à base d'esters de boronate

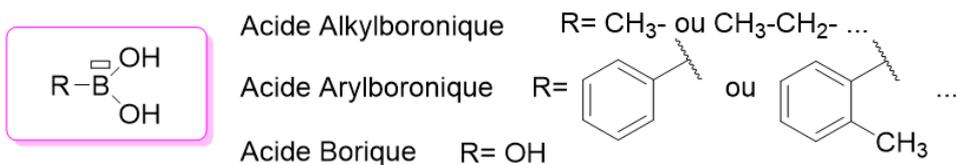
3.2 Les esters de boronate

3.2.1 Les partenaires

Les partenaires de type « acides boroniques » ou de type « acide boriques » sont largement utilisés dans le domaine des biomatériaux, principalement du fait de leur capacité à se lier aux diols 1,2 et 1,3 pour former des hydrogels ayant un comportement dynamique covalent (120).

Un acide boronique est un acide borique substitué par un groupement fonctionnel R de nature alkyle ou aryle, contenant donc une liaison carbone-bore. Dans le cas de l'acide borique, ce substituant R est un groupement fonctionnel hydroxyle. Par soucis de simplification littéraire pour la suite de la discussion, ces partenaires à base d'atome de bore seront tous nommés et globalisés sous du terme « acides boroniques ». Concernant les partenaires diols, ce sont des composés chimiques organiques constitués de deux groupements hydroxyles qui peuvent être en position 1,2 ou en position 1,3. Ce type de motif est notamment extrêmement retrouvé au sein des polysaccharides (Figure 15) (121).

Partenaire acide boronique



Partenaire diol

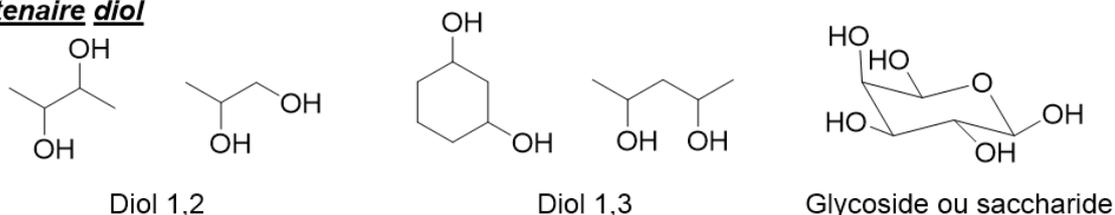


Figure 15 - Exemples de différents partenaires envisagés pour la formulation d'hydrogels boroniques autoréparants à base d'esters de boronate

3.2.2 La réaction

La réaction entre un acide boronique et des diols en configuration 1,2 et/ou 1,3 permet la formation d'esters de boronate (Figure 16). On utilise des diols 1,2 ou 1,3 *cis* (« ensemble » en latin), signifiant que les groupements fonctionnels hydroxylés sont situés du même côté de la chaîne ou du cycle. La réaction entre un acide boronique et un diol conduit ainsi à la formation d'un ester cyclique à cinq ou six chaînons respectivement. Dans un milieu aqueux basique, l'ion borate réagit avec les groupes hydroxyles 1,2 ou 1,3 *cis* par l'intermédiaire de liaisons réversibles borate/diol (122,123).

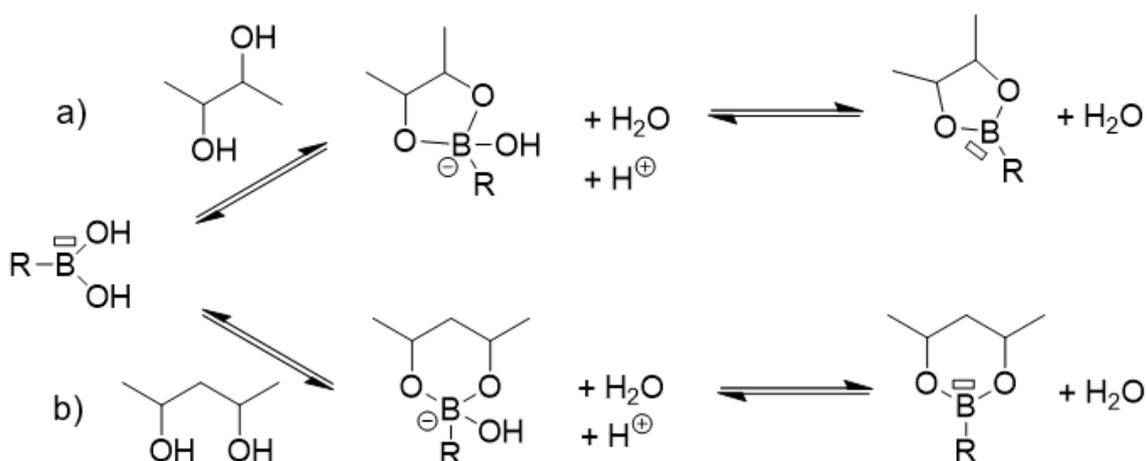


Figure 16 - Schéma de la réaction générale de la formation d'esters de boronate (121) ; a) Réaction entre acides boroniques et diols 1,2 formant un cycle à 5 chaînons ; b) Réaction entre acides boroniques et diols 1,3 formant un cycle à 6 chaînons

La formation des esters de boronate se produit en milieu aqueux et l'équilibre dynamique entre l'acide boronique et l'ester de boronate est dépendant du pH du milieu, de la température et du pKa du couple acide/base des partenaires boroniques (pKa~9) et hydroxylés (pKa~15) mis en association dans le milieu (124).

La valeur optimale du pH du milieu réactionnel entre un acide boronique et un diol dépend de leurs valeurs respectives de pKa et peut être évaluée de façon empirique par l'équation suivante :

$$pH\ optimal = \frac{pKa\ acide\ boronique + pKa\ diol}{2}$$

De fait, à partir de composés boroniques et de polysaccharides, le pH optimal de formation d'un hydrogel boronique est un pH basique (~12).

Cependant, la conception d'hydrogels à pH neutre est nécessaire pour une encapsulation optimale des CSM. Conformément à l'équation ci-dessus, il est donc nécessaire d'utiliser un acide boronique dont la valeur de pKa (~9) est abaissée à une valeur de 7 environ, afin de garantir la viabilité cellulaire lors de la formation de l'hydrogel à pH neutre.

3.2.3 Les acides boroniques de type Wulff

Dans ce contexte, des acides boroniques de type Wulff, qui comportent un groupement amine à proximité de l'atome de bore, ont été envisagés (Figure 17). En effet, l'interaction azote/bore entraîne une diminution significative du pKa de l'acide boronique (pKa=6,7) (121), ce qui diminue par réflexe le pH optimal de formation. Cette diminution pourrait donc permettre la formation d'esters de boronate à pH physiologique (pH sanguin = 7,4), tout en assurant ainsi leur cytocompatibilité en termes de pH.

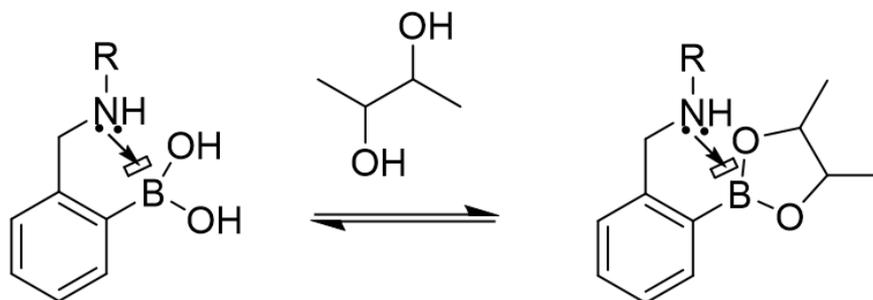


Figure 17 - Complexation entre acides boroniques de type Wulff et diols 1,2 (121)

Afin de former un réseau dynamique covalent à base d'esters de boronate à pH physiologique et compatible avec une encapsulation de cellules, il est donc nécessaire d'utiliser des partenaires présentant des acides boroniques de type Wulff d'une part et des partenaires présentant des groupement diols 1,2 et/ou 1,3 d'autre part.

Les hydrogels à base d'esters de boronate ont d'abord été développés pour la détection et la libération de petites molécules biologiques, avec des applications dans l'administration de médicaments. Le développement plus récent des hydrogels à base d'esters de boronate a ouvert une nouvelle ère de recherche, avec des applications dans l'administration locale de médicaments/cellules, la culture cellulaire en 3D et la biofabrication (123).

3.1 Applications biomédicales émergentes des hydrogels à base d'esters de boronate

Cette partie vise à fournir un aperçu des avancées actuelles les plus récentes portant sur l'utilisation des hydrogels à base d'esters de boronate dans diverses applications biomédicales.

3.1.1 Les systèmes d'administration de médicaments

Les hydrogels injectables permettent l'encapsulation et l'administration de médicaments dans un site spécifique, tout en limitant la clairance rapide du médicament par les fluides corporels. De plus, la composition d'un hydrogel développée pour l'administration de médicaments, notamment la nature du polymère, les groupes fonctionnels réactifs et la densité de réticulation, influence la cinétique de libération passive des médicaments et doit être soigneusement étudiée (125,126).

Les hydrogels à base d'esters de boronate sont injectables en raison de la nature réversible de leurs réseaux dynamiques covalents, offrant ainsi une option d'administration peu invasive. Ces hydrogels peuvent être utilisés comme vecteurs pour l'administration locale de médicaments, par diffusion spontanée ou par dégradation de l'hydrogel (127). De plus, les hydrogels à base d'esters de boronate présentent une grande sensibilité à leur environnement biochimique, réagissant à divers stimuli tels que les variations de pH ou la présence de glucose. Cette caractéristique les rend particulièrement attrayants en tant que groupes fonctionnels pour la libération locale et à la demande de médicaments (128).

Par exemple, une étude a décrit l'utilisation d'un hydrogel à base d'esters de boronate pour administrer localement un médicament anticancéreux, la doxorubicine (DOX) (129). Les chercheurs ont démontré que le pH acide (6,5) induisait une dégradation plus rapide de l'hydrogel par rapport au pH neutre, présentant des masses restantes d'environ 10% et 75%, respectivement, après 10 jours d'immersion (Figure 18a). Cette dégradation s'est accompagnée d'une libération de la DOX de 42% à pH acide après 10 jours, contre seulement 8% à pH neutre (Figure 18b). Ainsi, le pH anormal du microenvironnement tumoral (acide, $\approx 6,5$) peut être exploité pour l'administration de médicaments anticancéreux via des hydrogels à base d'esters de boronate.

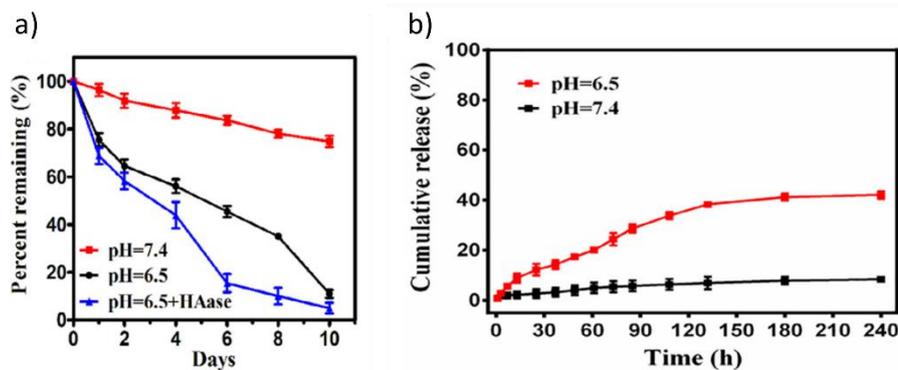


Figure 18 - a) Dégradation *in vitro* de l'hydrogel lorsqu'il est incubé dans du tampon à pH neutre (7,4) ou à pH acide (6,5) à 37 °C. b) Libération de DOX à partir de l'hydrogel chargé de médicament dans différentes conditions de pH. Adapté de (129)

Les hydrogels à base d'esters de boronate ont été également développés pour des traitements innovants du diabète en raison de leur sensibilité au glucose. En effet, le glucose libre peut réagir avec les acides boroniques et entrer en compétition avec les diols présents dans le réseau. Cette interaction peut modifier la taille des mailles de l'hydrogel et parfois compromettre son intégrité, déclenchant ainsi la libération du médicament (130). En général, les hydrogels à base d'esters de boronate ont été élaborés pour une administration d'insuline à la demande, permettant une libération spécifique pendant les épisodes d'hyperglycémie (glycémie > 10 mM). Une étude a révélé qu'après une journée d'immersion dans un milieu fortement concentré en glucose (≈ 17 mM), environ 35% de l'insuline encapsulée dans un hydrogel à base d'esters de boronate était libérée, tandis que seulement 7% était libérée dans une solution tampon (131).

3.1.2 Les systèmes de culture cellulaire en 3D

Au cours des deux dernières décennies, l'utilisation croissante des systèmes de culture cellulaire en 3D s'est affirmée pour la culture *in vitro* des cellules. Ces systèmes offrent un microenvironnement biologiquement pertinent qui favorise les interactions entre les cellules, et entre les cellules et la matrice extracellulaire (MEC). Ils jouent également un rôle crucial dans

la production de cellules et d'organoïdes pour la modélisation de tissus sains et malades, ainsi que pour le développement de nouvelles thérapies (132). Les hydrogels ont suscité un intérêt particulier en raison de leur capacité à reproduire l'hydratation, la composition des polymères et les propriétés physiques de la MEC naturelle. La viscoélasticité de la MEC, identifiée récemment comme un paramètre clé influençant les fonctions cellulaires telles que l'étalement, la prolifération et la différenciation, constitue un domaine de recherche en évolution, exigeant le développement d'hydrogels viscoélastiques pour la culture cellulaire en 3D. Ainsi, les hydrogels à bases d'esters de boronate, caractérisés par leur viscoélasticité intrinsèque résultant de leur nature dynamique covalente, se révèlent particulièrement prometteurs pour les investigations biologiques (133).

Par exemple, une équipe a utilisé la réticulation à base d'esters de boronate pour étudier les interactions cellule-matrice dans les tissus mous (134). Des cellules souches mésenchymateuses de la moelle osseuse (BMSC) ont été encapsulées dans cet hydrogel viscoélastique, démontrant une viabilité satisfaisante après 7 jours (> 90%), ainsi qu'un volume plus élevé et une sphéricité plus faible que les cellules encapsulées dans des hydrogels purement élastiques. Des investigations plus approfondies sur les coactivateurs transcriptionnels, qui impactent la mécano-détection cellulaire, ont révélé un déplacement de la localisation subcellulaire de ces coactivateurs du cytoplasme vers le noyau. Ces résultats indiquent une augmentation de l'étalement cellulaire dans les hydrogels viscoélastiques à base d'esters de boronate.

Dans une autre étude, l'impact de la viscoélasticité sur l'étalement et la différenciation des CSM a été étudié en utilisant une série d'hydrogels modifiés par l'incorporation de liaisons d'esters de boronate (135). Lors de l'ensemencement des BMSC sur les hydrogels, les cellules ne migraient pas dans les hydrogels purement covalents, suggérant un rôle actif de la viscoélasticité dans leur capacité de migration. Après 7 jours de culture, une augmentation de l'expression génique de marqueurs chondrogéniques et ostéogéniques, une diminution des marqueurs adipogéniques, ainsi qu'une augmentation des rapports nucléaire/cytoplasmique, ont été observés avec l'augmentation de la viscoélasticité. Il est pertinent de souligner que cette étude a été réalisée avec des cellulesensemencées sur les hydrogels, suscitant ainsi le besoin de recherches similaires impliquant des cellules encapsulées dans les hydrogels.

Enfin, des hydrogels à base d'esters de boronate ont été conçus pour des expériences de co-culture visant à étudier le cancer du sein. Des recherches récentes ont en effet suggéré une forte analogie entre la MEC du cancer du sein et celle du processus de cicatrisation/remodelage. Des chercheurs ont donc exploité la propriété d'autoréparation de ces hydrogels afin de

reproduire le remodelage de la MEC dans le contexte du cancer du sein (136). Des fibroblastes pulmonaires humains et des cellules de cancer du sein humain ont été encapsulés et cultivés séparément dans deux hydrogels à base d'esters de boronate identiques (Figure 19). Les deux hydrogels ont ensuite été assemblés pour recréer un environnement simulant le processus de cicatrisation, et leur association a été confirmée par la migration des deux types de cellules à travers l'interface initiale. De plus, il a été observé que les deux types de cellules encapsulées étaient capables de proliférer, mais leurs capacités de migration différaient : les fibroblastes présentaient une migration sur de courtes distances mais en grand nombre, tandis qu'un nombre moindre de cellules de cancer du sein pouvait migrer à travers l'hydrogel mais sur des distances plus importantes. Malgré le caractère préliminaire de cette étude, les résultats offrent une preuve de concept intéressante quant à l'utilisation des hydrogels à base d'esters de boronate dans les expériences de co-culture.

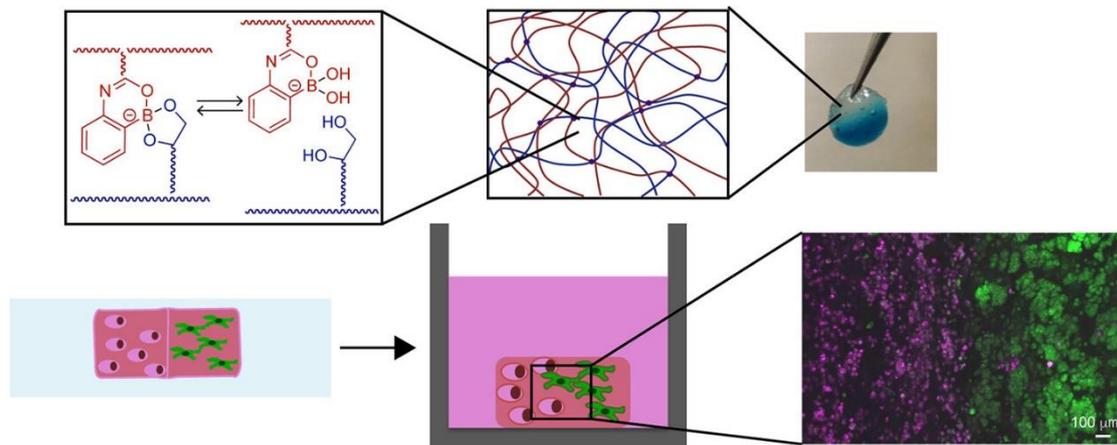


Figure 19 - Résumé graphique de (136), avec les cellules du cancer du sein humain en rose et les fibroblastes pulmonaires humains en vert

3.1.3 La réparation guidée par les hydrogels

Jusqu'à présent, peu de recherches ont exploré l'effet de l'implantation in vivo des hydrogels à bases d'esters de boronate sur les cellules et les tissus environnants. Dans le contexte du traitement des lésions cérébrales, l'utilisation de biomatériaux est souvent limitée par l'incapacité des cellules cérébrales environnantes à coloniser les échafaudages implantés, entraînant ainsi une absence de formation de néo-tissus et de réparation tissulaire. Par conséquent, la capacité des hydrogels à bases d'esters de boronate à favoriser l'invasion cellulaire, par le biais du réarrangement de leurs liaisons et de leur viscoélasticité, suscite un intérêt croissant pour le développement de nouvelles approches thérapeutiques dans ce domaine.

Dans une étude, un hydrogel à bases d'esters de boronate a été élaboré avec de l'acide hyaluronique, un composant naturel de la MEC du cerveau, et de la gélatine, afin de favoriser l'adhésion cellulaire (137). Les propriétés viscoélastiques de l'hydrogel ont été ajustées afin de correspondre à celles du parenchyme cérébral du rat. Après 21 jours d'implantation dans un modèle murin de lésion cérébrale traumatique, la présence de l'hydrogel a conduit à une fermeture totale de la plaie, tandis qu'une fermeture de moins de 50 % de la plaie a été constatée en l'absence de l'hydrogel (Figure 20). De plus, la capacité des neurones à envahir et à proliférer au sein de l'hydrogel a été observé au niveau de la zone de la blessure. Les auteurs ont suggéré que la viscoélasticité de l'hydrogel pourrait jouer un rôle important dans le processus de formation des tissus neuronaux. Il convient de souligner que des investigations plus approfondies sont nécessaires, car la fonctionnalité du tissu cérébral nouvellement formé n'a pas été évaluée dans cette étude.

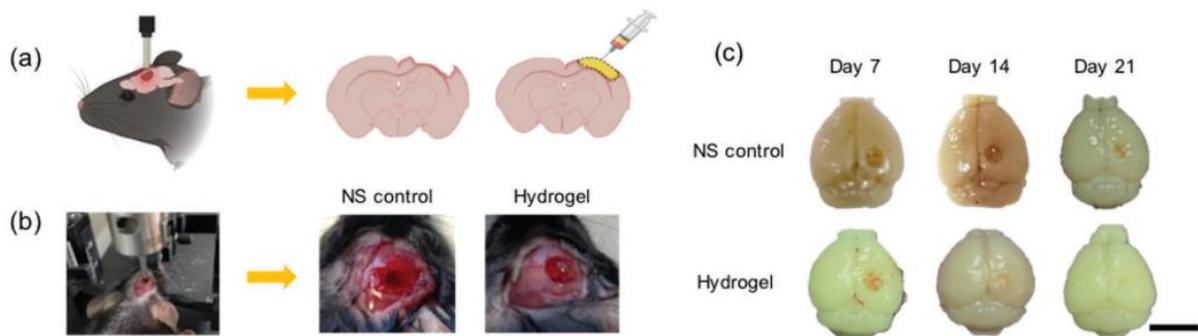


Figure 20 - a) Schéma du modèle de lésion cérébrale chez la souris. b) Modèle de lésion cérébrale chez la souris. c) Cerveaux contrôle NS et cerveaux traités à l'hydrogel 7, 14 et 21 jours après la lésion, fixés au paraformaldéhyde (échelle = 5 mm). Adapté de (137)

3.1.4 Les hydrogels comme matériaux sacrificiels

Les hydrogels à base d'esters de boronate sont également attrayants en tant que matériaux sacrificiels pour l'impression 3D de structures creuses en raison de leurs propriétés réactives aux stimuli. L'idée consiste à imprimer un filament d'hydrogel à base d'esters de boronate et à le revêtir d'un matériau non sacrificiel, puis à dissoudre l'hydrogel, soit par un changement de pH, soit par l'ajout d'une molécule compétitive (comme le glucose), afin de générer une structure creuse. Par exemple, une équipe a créé des canaux vasculaires en utilisant des hydrogels à base d'esters de boronate, ainsi que du glucose pour déclencher la dissolution (138). Après avoir imprimé un hydrogel tubulaire à base d'esters de boronate entre deux couches d'hydrogel non sacrificiel, l'immersion de la construction dans un milieu de culture cellulaire à haute teneur en glucose (4,5 g/L) a conduit à la dissolution de l'hydrogel à base d'esters de boronate, permettant ainsi la formation des canaux (Figure 21). Des cellules endothéliales

vasculaires ont ensuite été ensemencées dans la lumière des canaux par perfusion. À court terme (3 jours), ces cellules tapissent la paroi des canaux et migrent dans l'hydrogel non sacrificiel. À plus long terme (~14 jours), elles forment une structure similaire à des capillaires dans la construction, imitant ainsi la morphologie des canaux vasculaires.

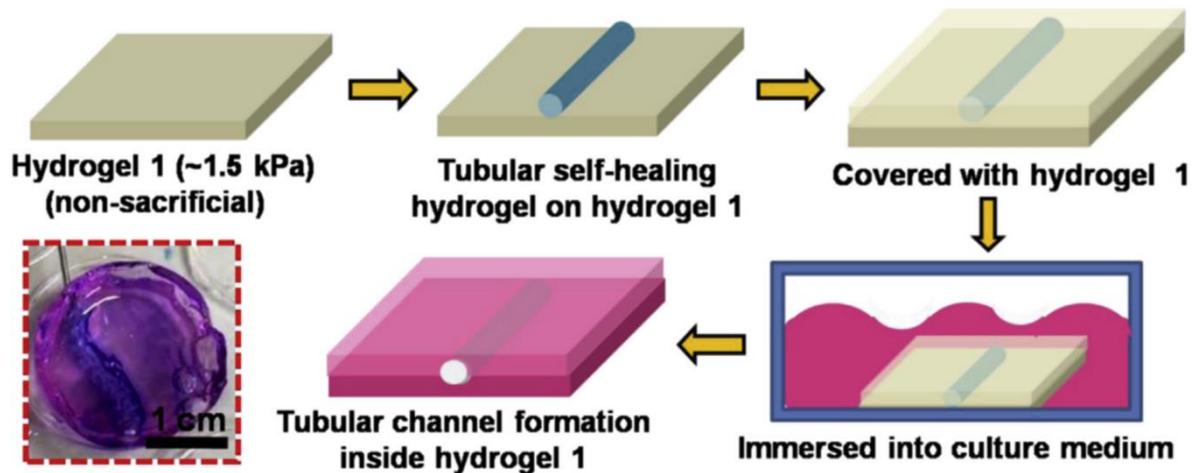


Figure 21 – Schéma de l'hydrogel autoréparant sacrificiel sensible au glucose, recouvert d'un autre hydrogel non sacrificiel puis immergé dans un milieu de culture. Le tunnel s'est formé à l'intérieur de la construction en 15 minutes. Adapté de (138)

3.1.5 La thérapie cellulaire de l'arthrose

Jusqu'à présent, aucune étude recensée dans la littérature scientifique n'a spécifiquement exploré les hydrogels dynamiques covalents à base d'ester de boronate en vue d'une potentielle application dans la thérapie cellulaire de l'arthrose, ni même dans le domaine plus général de la thérapie cellulaire.

Précédemment mentionné dans ce manuscrit, le laboratoire où j'ai effectué mon doctorat a mis au point une plateforme d'hydrogels permettant la création de nouveaux hydrogels adaptés à l'application souhaitée. Dans ce contexte, une étude a été réalisée pour développer une stratégie de réticulation à base d'esters de boronate, visant à concevoir des hydrogels dynamiques covalents stables à long terme, et donc particulièrement pertinents pour une application d'encapsulation cellulaire dans le cadre de l'arthrose (139). Dans cette étude, un criblage moléculaire des dérivés de l'acide phénylboronique (PBA) associés à une grande variété de diols a été réalisé pour synthétiser des hydrogels à base d'esters de boronate dans des conditions physiologiques. Parmi les 24 couples PBA/diol testés, la combinaison du PBA de type Wulff (wPBA) et de la glucamine s'est révélée efficace pour produire les hydrogels souhaités. Les formulations des hydrogels wPBA/glucamine ont ensuite été optimisées pour obtenir des hydrogels dynamiques covalents présentant un gonflement minimal et une stabilité à long terme. Enfin, en utilisant des cellules souches mésenchymateuses dérivées du tissu adipeux

humain, la cytocompatibilité de ces hydrogels a été démontrée, soulignant le potentiel prometteur de ces hydrogels pour des applications biomédicales.

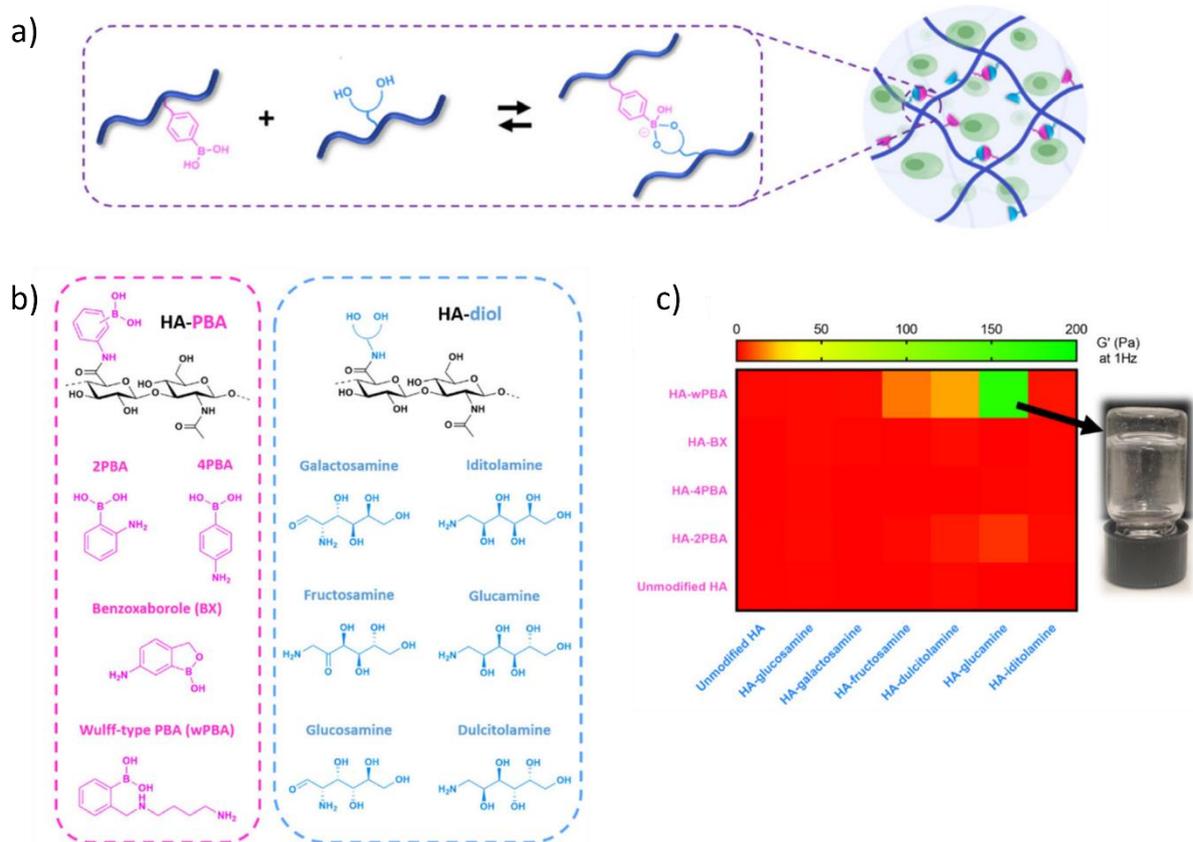


Figure 22 - a) Schéma de la réaction réversible entre un dérivé de l'acide phénylboronique (PBA) et un diol, qui produit des fonctions esters de boronate utilisées pour la conception d'hydrogels dynamiques covalents. b) Sélection de PBA aminés (en rose) et de diols aminés (en bleu) étudiés pour produire des hydrogels d'acide hyaluronique. c) Heat map du criblage du couple PBA/diol, révélant la capacité unique du couple wPBA/glucamine à former un hydrogel au pH physiologique. Adapté de (139)

Ainsi, l'utilisation de la formulation d'hydrogels dynamiques covalents wPBA/diols serait particulièrement intéressante à explorer dans une application de thérapie cellulaire de l'arthrose.

Conclusion

L'arthrose est la maladie articulaire la plus répandue dans le monde, c'est une cause majeure de douleur et d'incapacité physique. Dans la recherche de nouveaux traitements capables de stopper ou ralentir la progression de la maladie, l'injection intra-articulaire de CSM a émergé comme une stratégie prometteuse en exploitant la capacité des CSM à sécréter des facteurs anti-inflammatoires et immunomodulateurs. Malgré les résultats encourageants des études pré-cliniques et cliniques, l'injection IA de CSM a montré à court terme une diminution du nombre de cellules au sein de l'articulation, attribuée d'une part à la migration des cellules en dehors du site d'injection et d'autre part à une mortalité cellulaire induite par les contraintes de cisaillement lors de l'injection. Il est donc essentiel de développer des techniques d'encapsulation des CSM qui permettraient de les protéger pendant l'injection, les maintenir vivantes à long terme au sein de l'articulation et de leur fournir un environnement 3D approprié pour soutenir leurs activités biologiques.

Depuis plusieurs années, des méthodes d'encapsulation de cellules dans des hydrogels ont été largement développées. La stratégie envisagée dans cette thèse repose sur la conception d'hydrogels à base d'esters de boronate, qui se caractérisent par leur capacité à former les liaisons dynamiques covalentes réversibles à pH neutre. Ces liaisons contribuent à maintenir la stabilité du réseau face aux contraintes mécaniques liées à l'articulation, assurant ainsi la présence prolongée des CSM dans la cavité articulaire. Cela vise à exploiter pleinement la capacité des CSM encapsulées à sécréter des facteurs thérapeutiques "à la demande", en réponse aux épisodes inflammatoires de l'arthrose, et à éviter ainsi des administrations multiples au patient.

Les hydrogels à base d'esters de boronate ont démontré des effets positifs dans diverses applications biomédicales répertoriées dans la littérature. Bien que les investigations actuelles ne rapportent pas spécifiquement d'applications dans le domaine de la thérapie cellulaire, les caractéristiques prometteuses de ces hydrogels, notamment leur capacité à former des liaisons dynamiques covalentes réversibles et à se déformer sous la contrainte, font d'eux des candidats prometteurs pour une application future dans le traitement de l'arthrose. Ainsi, il apparaît que les hydrogels à base d'esters de boronate offrent une perspective de recherche prometteuse qui mérite d'être examinée de manière approfondie, en vue d'exploiter leurs bénéfiques potentiels et de relever les défis associés à la thérapie cellulaire de l'arthrose.

Bibliographie

1. Mobasheri A, Thudium CS, Bay-Jensen AC, Maleitzke T, Geissler S, Duda GN, et al. Biomarkers for osteoarthritis: Current status and future prospects. *Best Pract Res Clin Rheumatol.* 2023;101852.
2. Kraus VB, Blanco FJ, Englund M, Karsdal MA, Lohmander LS. Call for standardized definitions of osteoarthritis and risk stratification for clinical trials and clinical use. *Osteoarthr Cartil.* 2015;23(8):1233–41.
3. Vos T, Allen C, Arora M, Barber RM, Brown A, Carter A, et al. Global, regional, and national incidence, prevalence, and years lived with disability for 310 diseases and injuries, 1990–2015: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2015. *Lancet.* 2016;388(10053):1545–602.
4. Martel-Pelletier J, Barr AJ, Cicuttini FM, Conaghan PG, Cooper C, Goldring MB, et al. Osteoarthritis. *Nat Rev Dis Prim.* 2016;2.
5. Hunter DJ, March L, Chew M. Osteoarthritis in 2020 and beyond: a Lancet Commission. *Lancet.* 2020;396(10264):1711–2.
6. Leifer VP, Katz JN, Losina E. The burden of OA-health services and economics. *Osteoarthr Cartil.* 2022;30(1):10–6.
7. Allen KD, Thoma LM, Golightly YM. Epidemiology of osteoarthritis. *Osteoarthr Cartil.* 2022;30(2):184–95.
8. Molnar V, Matišić V, Kodvanj I, Bjelica R, Jeleč Ž, Hudetz D, et al. Cytokines and Chemokines involved in osteoarthritis pathogenesis. *Int J Mol Sci.* 2021;22(17):1–23.
9. Glyn-Jones S, Palmer AJR, Agricola R, Price AJ, Vincent TL, Weinans H, et al. Osteoarthritis. *Lancet.* 2015;386(9991):376–87.
10. Loeser RF, Goldring SR, Scanzello CR, Goldring MB. Osteoarthritis: A disease of the joint as an organ. *Arthritis Rheum.* 2012;64(6):1697–707.
11. Wu CW, Morrell MR, Heinze E, Concoff AL, Wollaston SJ, Arnold EL, et al. Validation of American College of Rheumatology classification criteria for knee osteoarthritis using arthroscopically defined cartilage damage scores. *Semin Arthritis Rheum.* 2005;35(3):197–201.

12. Zhang W, Doherty M, Peat G, Bierma-Zeinstra SMA, Arden NK, Bresnihan B, et al. EULAR evidence-based recommendations for the diagnosis of knee osteoarthritis. *Ann Rheum Dis*. 2010;69(3):483–9.
13. Altman R, Asch E, Bloch D, Bole G, Borenstein D, Brandt K, et al. Development of criteria for the classification and reporting of osteoarthritis: Classification of osteoarthritis of the knee. *Arthritis Rheum*. 1986;29(8):1039–49.
14. Luyten FP, Bierma-Zeinstra S, Dell’Accio F, Kraus VB, Nakata K, Sekiya I, et al. Toward classification criteria for early osteoarthritis of the knee. *Semin Arthritis Rheum*. 2018;47(4):457–63.
15. Mahmoudian A, Lohmander LS, Mobasher A, Englund M, Luyten FP. Early-stage symptomatic osteoarthritis of the knee — time for action. *Nat Rev Rheumatol*. 2021;17(10):621–32.
16. Sellam J, Courties A, Eymard F, Ferrero S, Latourte A, Ornetti P, et al. Recommendations de la Société française de rhumatologie sur la prise en charge pharmacologique de la gonarthrose. *Rev du Rhum (Edition Fr)*. 2020;87(6):439–46.
17. Fernandes L, Hagen KB, Bijlsma JWJ, Andreassen O, Christensen P, Conaghan PG, et al. EULAR recommendations for the non-pharmacological core management of hip and knee osteoarthritis. *Ann Rheum Dis*. 2013;72(7):1125–35.
18. McAlindon TE, Bannuru RR, Sullivan MC, Arden NK, Berenbaum F, Bierma-Zeinstra SM, et al. OARSI guidelines for the non-surgical management of knee osteoarthritis. *Osteoarthr Cartil*. 2014;22(3):363–88.
19. Bannuru RR, Osani MC, Vaysbrot EE, Arden NK, Bennell K, Bierma-Zeinstra SMA, et al. OARSI guidelines for the non-surgical management of knee, hip, and polyarticular osteoarthritis. *Osteoarthr Cartil*. 2019;27(11):1578–89.
20. Kolasinski SL, Neogi T, Hochberg MC, Oatis C, Guyatt G, Block J, et al. 2019 American College of Rheumatology/Arthritis Foundation Guideline for the Management of Osteoarthritis of the Hand, Hip, and Knee. *Arthritis Care Res*. 2020;72(2):149–62.
21. Hunter DJ, Bierma-Zeinstra S. Osteoarthritis. *Lancet*. 2019;393(10182):1745–59.
22. Messier SP, Loeser RF, Miller GD, Morgan TM, Rejeski WJ, Sevick MA, et al. Exercise and Dietary Weight Loss in Overweight and Obese Older Adults with Knee

- Osteoarthritis: The Arthritis, Diet, and Activity Promotion Trial. *Arthritis Rheum.* 2004;50(5):1501–10.
23. Christensen P, Henriksen M, Bartels EM, Leeds AR, Larsen TM, Gudbergesen H, et al. Long-term weight-loss maintenance in obese patients with knee osteoarthritis: A randomized trial. *Am J Clin Nutr.* 2017;106(3):755–63.
 24. Fransen M, McConnell S, Hernandez-Molina G, Reichenbach S. Exercise for osteoarthritis of the hip and knee. *Cochrane Database Syst Rev.* 2014;
 25. Rutjes AWS, Jüni P, da Costa BR, Trelle S, Nüesch E, Reichenbach S. Viscosupplementation for Osteoarthritis of the Knee. *Ann Intern Med.* 2012;157(3):180.
 26. Jevsevar D, Donnelly P, Ga B, Ds C. Viscosupplementation for Osteoarthritis of the Knee. *N Engl J Med.* 2015;372(26):2569–70.
 27. Johansen M, Bahrt H, Altman RD, Bartels EM, Juhl CB, Bliddal H, et al. Exploring reasons for the observed inconsistent trial reports on intra-articular injections with hyaluronic acid in the treatment of osteoarthritis: Meta-regression analyses of randomized trials. *Semin Arthritis Rheum.* 2016;46(1):34–48.
 28. Madry H. Surgical therapy in osteoarthritis. *Osteoarthr Cartil.* 2022;30(8):1019–34.
 29. Delplace V, Boutet MA, Le Visage C, Maugars Y, Guicheux J, Vinatier C. Osteoarthritis: From coming treatments to treatments yet to come. *Rev du Rhum Monogr.* 2021;88(2):165–71.
 30. Schmelz M, Mantyh P, Malfait AM, Farrar J, Yaksh T, Tive L, et al. Nerve growth factor antibody for the treatment of osteoarthritis pain and chronic low-back pain: Mechanism of action in the context of efficacy and safety. *Pain.* 2019;160(10):2210–20.
 31. Garber K. Fate of novel painkiller mAbs hangs in balance (*Nature Biotechnology* (2012) (173-174)). *Nat Biotechnol.* 2012;30(5):466.
 32. Miller RE, Malfait A, Block JA, Miller RE. Current Status of Nerve Growth Factor Antibodies for the Treatment of Osteoarthritis Pain. *Clin Exp Rheumatol.* 2017;(10):85–7.
 33. Schnitzer TJ, Easton R, Pang S, Levinson DJ, Pixton G, Viktrup L, et al. Effect of Tanezumab on Joint Pain, Physical Function, and Patient Global Assessment of

- Osteoarthritis among Patients with Osteoarthritis of the Hip or Knee: A Randomized Clinical Trial. *JAMA - J Am Med Assoc.* 2019;322(1):37–48.
34. Berenbaum F, Blanco FJ, Guermazi A, Miki K, Yamabe T, Viktrup L, et al. Subcutaneous tanezumab for osteoarthritis of the hip or knee: Efficacy and safety results from a 24-week randomised phase III study with a 24-week follow-up period. *Ann Rheum Dis.* 2020;79(6):800–10.
 35. Neogi T, Hunter DJ, Churchill M, Shirinsky I, White A, Guermazi A, et al. Observed efficacy and clinically important improvements in participants with osteoarthritis treated with subcutaneous tanezumab: results from a 56-week randomized NSAID-controlled study. *Arthritis Res Ther.* 2022;24(1):1–13.
 36. Dakin P, DiMartino SJ, Gao H, Maloney J, Kivitz AJ, Schnitzer TJ, et al. The Efficacy, Tolerability, and Joint Safety of Fasinumab in Osteoarthritis Pain: A Phase IIb/III Double-Blind, Placebo-Controlled, Randomized Clinical Trial. *Arthritis Rheumatol.* 2019;71(11):1824–34.
 37. Matta C, Takács R, Ducza L, Ebeid RA, Choi H, Mobasheri A. Ion channels involved in inflammation and pain in osteoarthritis and related musculoskeletal disorders. *Am J Physiol Physiol.* 2023;325(1):C257–71.
 38. Stevens RM, Ervin J, Nezzar J, Nieves Y, Guedes K, Burges R, et al. Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Trial of Intraarticular Trans-Capsaicin for Pain Associated With Osteoarthritis of the Knee. *Arthritis Rheumatol.* 2019;71(9):1524–33.
 39. Brown W, Leff RL, Griffin A, Hossack S, Aubray R, Walker P, et al. Safety, Pharmacokinetics, and Pharmacodynamics Study in Healthy Subjects of Oral NEO6860, a Modality Selective Transient Receptor Potential Vanilloid Subtype 1 Antagonist. *J Pain.* 2017;18(6):726–38.
 40. Arsenault P, Chiche D, Brown W, Miller J, Treister R, Leff R, et al. NEO6860, modality-selective TRPV1 antagonist: a randomized, controlled, proof-of-concept trial in patients with osteoarthritis knee pain. *PAIN Reports.* 2018;3:1–12.
 41. Mayorga AJ, Flores CM, Trudeau JJ, Moyer JA, Shalayda K, Dale M, et al. A randomized study to evaluate the analgesic efficacy of a single dose of the TRPV1 antagonist mavatrep in patients with osteoarthritis. *Scand J Pain.* 2017;17:134–43.

42. Berenbaum F. Osteoarthritis as an inflammatory disease (osteoarthritis is not osteoarthrosis!). *Osteoarthr Cartil.* 2013;21(1):16–21.
43. Chevalier X, Goupille P, Beaulieu AD, Burch FX, Bensen WG, Conrozier T, et al. Intraarticular injection of anakinra in osteoarthritis of the knee: A multicenter, randomized, double-blind, placebo-controlled study. *Arthritis Care Res.* 2009;61(3):344–52.
44. Cohen SB, Proudman S, Kivitz AJ, Burch FX, Donohue JP, Burstein D, et al. A randomized, double-blind study of AMG 108 (a fully human monoclonal antibody to IL-1R1) in patients with osteoarthritis of the knee. *Arthritis Res Ther.* 2011;13(4):1–12.
45. Fleischmann R, Bliddal H, Blanco F, Schnitzer T, Peterfy C, Chen S, et al. A Phase II Trial of Lutikizumab, an Anti-Interleukin-1 α/β Dual Variable Domain Immunoglobulin, in Knee Osteoarthritis Patients With Synovitis. *Arthritis Rheumatol.* 2019;71(July):1056–69.
46. Richette P, Latourte A, Sellam J, Wendling D, Piperno M, Goupille P, et al. Efficacy of tocilizumab in patients with hand osteoarthritis: Double blind, randomised, placebo-controlled, multicentre trial. *Ann Rheum Dis.* 2021;80(3):349–55.
47. Aitken D, Laslett LL, Pan F, Haugen IK, Otahal P, Bellamy N, et al. A randomised double-blind placebo-controlled crossover trial of HUMira (adalimumab) for erosive hand Osteoarthritis – the HUMOR trial. *Osteoarthr Cartil.* 2018;26(7):880–7.
48. Maksymowych WP, Russell AS, Chiu P, Yan A, Jones N, Clare T, et al. Targeting tumour necrosis factor alleviates signs and symptoms of inflammatory osteoarthritis of the knee. *Arthritis Res Ther.* 2012;14(5):1–7.
49. Wang J. Efficacy and safety of adalimumab by intra-articular injection for moderate to severe knee osteoarthritis: An open-label randomized controlled trial. *J Int Med Res.* 2018;46(1):326–34.
50. Kloppenburg M, Ramonda R, Bobacz K, Kwok WY, Elewaut D, Huizinga TWJ, et al. Etanercept in patients with inflammatory hand osteoarthritis (EHOA): A multicentre, randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Ann Rheum Dis.* 2018;77(12):1757–64.
51. Kroon FPB, Bay-Jensen AC, Wittoek R, Verbruggen G, Smolen JS, Kloppenburg M, et

- al. Etanercept therapy leads to reductions in matrix metalloproteinase-3 in patients with erosive hand osteoarthritis. *Scand J Rheumatol*. 2020;49(2):167–8.
52. Grothe K, Flechsenhar K, Paehler T, Ritzeler O, Beninga J, Saas J, et al. I κ B kinase inhibition as a potential treatment of osteoarthritis – results of a clinical proof-of-concept study. *Osteoarthr Cartil*. 2017;25(1):46–52.
53. Clinical Trial to Examine the Pain Relief of PH-797804 Alone Or With Naproxen in Subjects With Osteoarthritis of the Knee [Internet]. Available from: <https://clinicaltrials.gov/study/NCT01102660>
54. Study of FX005 for the Treatment of Pain in Patients With Osteoarthritis of the Knee [Internet]. Available from: <https://clinicaltrials.gov/study/NCT01291914>
55. Grigsby E, Rickam M, Thewlis D, Simon L, Chavez R, Huston M, et al. XT-150- A novel immunomodulatory gene therapy for osteoarthritis pain in phase 2b development. *Osteoarthr Cartil*. 2021;29(2021):S12.
56. Vrouwe JPM, Meulenberg JJM, Klarenbeek NB, Navas-Cañete A, Reijnierse M, Ruitkamp G, et al. Administration of an adeno-associated viral vector expressing interferon- β in patients with inflammatory hand arthritis, results of a phase I/II study. *Osteoarthr Cartil*. 2022;30(1):52–60.
57. Ginnetti AT, Paone D V., Nanda KK, Li J, Busuek M, Johnson SA, et al. Lead optimization of cathepsin K inhibitors for the treatment of Osteoarthritis. *Bioorganic Med Chem Lett*. 2022;74(June):128927.
58. Yazici Y, McAlindon TE, Gibofsky A, Lane NE, Clauw D, Jones M, et al. Lorecivivint, a Novel Intraarticular CDC-like Kinase 2 and Dual-Specificity Tyrosine Phosphorylation-Regulated Kinase 1A Inhibitor and Wnt Pathway Modulator for the Treatment of Knee Osteoarthritis: A Phase II Randomized Trial. *Arthritis Rheumatol*. 2020;72(10):1694–706.
59. Yazici Y, McAlindon TE, Gibofsky A, Lane NE, Lattermann C, Skrepnik N, et al. A Phase 2b randomized trial of lorecivivint, a novel intra-articular CLK2/DYRK1A inhibitor and Wnt pathway modulator for knee osteoarthritis. *Osteoarthr Cartil*. 2021;29(5):654–66.
60. Tambiah JRS, Kennedy S, Swearingen CJ, Simsek I, Yazici Y, Farr J, et al. Individual

Participant Symptom Responses to Intra-Articular Lorecivivint in Knee Osteoarthritis: Post Hoc Analysis of a Phase 2B Trial. *Rheumatol Ther.* 2021;8(2):973–85.

61. Krzeski P, Buckland-Wright C, Bálint G, Cline GA, Stoner K, Lyon R, et al. Development of musculoskeletal toxicity without clear benefit after administration of PG-116800, a matrix metalloproteinase inhibitor, to patients with knee osteoarthritis: A randomized, 12-month, double-blind, placebo-controlled study. *Arthritis Res Ther.* 2007;9(5):1–11.
62. Guehring H, Balchen T, Goteti K, Sonne J, Ladel C, Ona V, et al. Safety, Tolerability, Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of Single Ascending Doses of the Anti-ADAMTS-5 Nanobody®, M6495, in Healthy Male Subjects: A Phase I, Placebo-Controlled, First-in-Human Study. *ACR/ARP Annual Meeting.* 2019.
63. Schnitzer T, Pueyo M, Deckx H, van der Aar E, Bernard K, Hatch S, et al. Evaluation of S201086/GLPG1972, an ADAMTS-5 inhibitor, for the treatment of knee osteoarthritis in ROCCELLA: a phase 2 randomized clinical trial. *Osteoarthr Cartil.* 2023;31(7):985–94.
64. Manicourt D, Beaulieu A, Garnerio P, Peterfy C, Bouisset F, Haemmerle S, et al. Effect of treatment with the cathepsin-k inhibitor, Balicatib, on cartilage volume and biochemical markers of bone and cartilage degradation in patients with painful knee osteoarthritis. *Osteoarthr Cartil.* 2007;229.
65. Conaghan PG, Bowes MA, Kingsbury SR, Brett A, Guillard G, Rzoska B, et al. Disease-modifying effects of a novel cathepsin k inhibitor in osteoarthritis: A randomized controlled trial. *Ann Intern Med.* 2020;172(2):86–95.
66. Bihlet AR, Byrjalsen I, Andersen JR, Öberg F, Herder C, Bowes MA, et al. Symptomatic and structural benefit of cathepsin K inhibition by MIV-711 in a subgroup with unilateral pain: post-hoc analysis of a randomised phase 2a clinical trial. *Clin Exp Rheumatol.* 2022;1034–7.
67. Lohmander LS, Hellot S, Dreher D, Krantz EFW, Kruger DS, Guermazi A, et al. Intraarticular sprifermin (recombinant human fibroblast growth factor 18) in knee osteoarthritis: A randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Arthritis Rheumatol.* 2014;66(7):1820–31.
68. Onuora S. Osteoarthritis: Sprifermin shows cartilage-protective effects in knee OA. *Nat*

Rev Rheumatol. 2014;10(6):322.

69. Hochberg MC, Guermazi A, Guehring H, Aydemir A, Wax S, Fleuranceau-Morel P, et al. Effect of Intra-Articular Sprifermin vs Placebo on Femorotibial Joint Cartilage Thickness in Patients with Osteoarthritis: The FORWARD Randomized Clinical Trial. *JAMA - J Am Med Assoc.* 2019;322(14):1360–70.
70. Eckstein F, Hochberg MC, Guehring H, Moreau F, Ona V, Bihlet AR, et al. Long-term structural and symptomatic effects of intra-articular sprifermin in patients with knee osteoarthritis: 5-year results from the FORWARD study. *Ann Rheum Dis.* 2021;80(8):1062–9.
71. McGuire D, Bowes M, Brett A, Segal NA, Miller M, Rosen D, et al. Study TPX-100-5: intra-articular TPX-100 significantly delays pathological bone shape change and stabilizes cartilage in moderate to severe bilateral knee OA. *Arthritis Res Ther.* 2021;23(1):1–9.
72. Cherian JJ, Parvizi J, Bramlet D, Lee KH, Romness DW, Mont MA. Preliminary results of a phase II randomized study to determine the efficacy and safety of genetically engineered allogeneic human chondrocytes expressing TGF- β 1 in patients with grade 3 chronic degenerative joint disease of the knee. *Osteoarthr Cartil.* 2015;23(12):2109–18.
73. Guermazi A, Kalsi G, Niu J, Crema MD, Copeland RO, Orlando A, et al. Structural effects of intra-articular TGF- β 1 in moderate to advanced knee osteoarthritis: MRI-based assessment in a randomized controlled trial. Vol. 18, *BMC Musculoskeletal Disorders.* 2017.
74. Vinatier C, Merceron C, Guicheux J. Osteoarthritis: from pathogenic mechanisms and recent clinical developments to novel prospective therapeutic options. *Drug Discov Today.* 2016;21(12):1932–7.
75. Friedenstein AJ, Chailakhyan RK, Latsinik NV, Panasyuk AF, Keiliss-Borok I V. Stromal cells responsible for transferring the microenvironment of the hemopoietic tissues. *Transplantation.* 1974;4(April):331–40.
76. Dominici M, Le Blanc K, Mueller I, Slaper-Cortenbach I, Marini FC, Krause DS, et al. Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy position statement. *Cytotherapy.* 2006;8(4):315–7.

77. Bernardo ME, Fibbe WE. Mesenchymal stromal cells: Sensors and switchers of inflammation. *Cell Stem Cell*. 2013;13(4):392–402.
78. Pers YM, Jorgensen C. Adipose derived stem cells for regenerative therapy in osteoarticular diseases. *Horm Mol Biol Clin Investig*. 2016;28(3):113–20.
79. Djouad F, Bouffi C, Ghannam S, Noël D, Jorgensen C. Mesenchymal stem cells: Innovative therapeutic tools for rheumatic diseases. *Nat Rev Rheumatol*. 2009;5(7):392–9.
80. Mancuso P, Raman S, Glynn A, Barry F, Murphy JM. Mesenchymal stem cell therapy for osteoarthritis: The critical role of the cell secretome. *Front Bioeng Biotechnol*. 2019;7(JAN):1–9.
81. S. Ghannam, C. Bouffi, F. Djouad, C. Jorgensen DN. Immunosuppression by mesenchymal stem cells: Mechanisms and clinical applications. *Stem Cell Res Ther*. 2010;1(1):1–7.
82. Soleymaninejadian E, Pramanik K, Samadian E. Immunomodulatory properties of mesenchymal stem cells: Cytokines and factors. *Am J Reprod Immunol*. 2012;67(1):1–8.
83. Murphy JM, Fink DJ, Hunziker EB, Barry FP. Stem Cell Therapy in a Caprine Model of Osteoarthritis. *Arthritis Rheum*. 2003;48(12):3464–74.
84. Ter Huurne M, Schelbergen R, Blattes R, Blom A, De Munter W, Grevers LC, et al. Antiinflammatory and chondroprotective effects of intraarticular injection of adipose-derived stem cells in experimental osteoarthritis. *Arthritis Rheum*. 2012;64(11):3604–13.
85. Ozeki N, Muneta T, Koga H, Nakagawa Y, Mizuno M, Tsuji K, et al. Not single but periodic injections of synovial mesenchymal stem cells maintain viable cells in knees and inhibit osteoarthritis progression in rats. *Osteoarthr Cartil*. 2016;24(6):1061–70.
86. Mahmoud EE, Adachi N, Mawas AS, Deie M, Ochi M. Multiple intra-articular injections of allogeneic bone marrow-derived stem cells potentially improve knee lesions resulting from surgically induced osteoarthritis: An animal study. *Bone Jt J*. 2019;101 B(7):824–31.
87. Takagi T, Kabata T, Hayashi K, Fang X, Kajino Y, Inoue D, et al. Periodic injections of

- adipose-derived stem cell sheets attenuate osteoarthritis progression in an experimental rabbit model. *BMC Musculoskelet Disord.* 2020;21(1):1–11.
88. Lamo-Espinosa JM, Mora G, Blanco JF, Granero-Moltó F, Núñez-Córdoba JM, López-Elío S, et al. Intra-articular injection of two different doses of autologous bone marrow mesenchymal stem cells versus hyaluronic acid in the treatment of knee osteoarthritis: Long-term follow up of a multicenter randomized controlled clinical trial (phase I/II). *J Transl Med.* 2018;16(1):1–5.
 89. Pers Y-M, Rackwitz L, Ferreira R, Pullig O, Delfour C, Barry F, et al. Adipose Mesenchymal Stromal Cell-Based Therapy for Severe Osteoarthritis of the Knee : A Phase I Dose-Escalation Trial. *Stemcells Transl Med.* 2016;(5):847–56.
 90. Orozco L, Munar A, Soler R, Alberca M, Soler F, Huguet M, et al. Treatment of knee osteoarthritis with autologous mesenchymal stem cells: A pilot study. *Transplantation.* 2013;95(12):1535–41.
 91. Orozco L, Munar A, Soler R, Alberca M, Soler F, Huguet M, et al. Treatment of knee osteoarthritis with autologous mesenchymal stem cells: Two-Year Follow-up Results. *Transplantation.* 2014;97(11):66–8.
 92. Pers YM, Quentin J, Ferreira R, Espinoza F, Abdellaoui N, Erkilic N, et al. Injection of adipose-derived stromal cells in the knee of patients with severe osteoarthritis has a systemic effect and promotes an anti-inflammatory phenotype of circulating immune cells. *Theranostics.* 2018;8(20):5519–28.
 93. Ao Y, Duan J, Xiong N, Qian N, Zhang R, Yang L, et al. Repeated intra-articular injections of umbilical cord-derived mesenchymal stem cells for knee osteoarthritis: a phase I, single-arm study. *BMC Musculoskelet Disord.* 2023;24(1):1–7.
 94. Aguado BA, Mulyasmita W, Su J, Lampe KJ, Heilshorn SC. Improving viability of stem cells during syringe needle flow through the design of hydrogel cell carriers. *Tissue Eng - Part A.* 2012;18(7–8):806–15.
 95. Detante O, Moisan A, Dimastromatteo J, Richard MJ, Riou L, Grillon E, et al. Intravenous administration of ^{99m}Tc-HMPAO-labeled human mesenchymal stem cells after stroke: In vivo imaging and biodistribution. *Cell Transplant.* 2009;18(12):1369–79.
 96. Toupet K, Maumus M, Peyrafitte JA, Bourin P, Van Lent PLEM, Ferreira R, et al. Long-

- term detection of human adipose-derived mesenchymal stem cells after intraarticular injection in SCID mice. *Arthritis Rheum.* 2013;65(7):1786–94.
97. F Lim AMS. Microencapsulated Islets as Bioartificial Endocrine Pancreas. *Science* (80-). 1980;210(November):908–10.
 98. Lagneau N, Tournier P, Nativel F, Maugars Y, Guicheux J, Le Visage C, et al. Harnessing cell-material interactions to control stem cell secretion for osteoarthritis treatment. *Biomaterials.* 2023;296(November 2022):122091.
 99. Hached F, Vinatier C, Le Visage C, Gondé H, Guicheux J, Grimandi G, et al. Biomaterial-assisted cell therapy in osteoarthritis: From mesenchymal stem cells to cell encapsulation. *Best Pract Res Clin Rheumatol.* 2017;31(5):730–45.
 100. Huebsch N, Mooney DJ. Inspiration and application in the evolution of biomaterials. *Nature.* 2009;462(7272):426–32.
 101. Ho TC, Chang CC, Chan HP, Chung TW, Shu CW, Chuang KP, et al. Hydrogels: Properties and Applications in Biomedicine. *Molecules.* 2022;27(9):1–29.
 102. Caliari SR, Burdick JA. A practical guide to hydrogels for cell culture. *Nat Methods.* 2016;13(5):405–14.
 103. Catoira MC, Fusaro L, Di Francesco D, Ramella M, Boccafoschi F. Overview of natural hydrogels for regenerative medicine applications. *J Mater Sci Mater Med.* 2019;30(10).
 104. Tibbitt MW, Anseth KS. Hydrogels as extracellular matrix mimics for 3D cell culture. *Biotechnol Bioeng.* 2009;103(4):655–63.
 105. Flégeau K, Pace R, Gautier H, Rethore G, Guicheux J, Le Visage C, et al. Toward the development of biomimetic injectable and macroporous biohydrogels for regenerative medicine. *Adv Colloid Interface Sci.* 2017;247(February):589–609.
 106. Wu M, Han L, Yan B, Zeng H. Self-healing hydrogels based on reversible noncovalent and dynamic covalent interactions: A short review. *Supramol Mater.* 2023;2(September):100045.
 107. Lee KY, Mooney DJ. Alginate: Properties and biomedical applications. *Prog Polym Sci.* 2012;37(1):106–26.
 108. Gacesa P. Alginates. *Carbohydr Polym.* 1988;8(3):161–82.

109. Bustamante-Torres M, Romero-Fierro D, Arcentales-Vera B, Palomino K, Magaña H, Bucio E. Hydrogels classification according to the physical or chemical interactions and as stimuli-sensitive materials. *Gels*. 2021;7(4):1–25.
110. Kolb HC, Finn MG, Sharpless KB. Click Chemistry: Diverse Chemical Function from a Few Good Reactions. *Angew Chemie - Int Ed*. 2001;40(11):2004–21.
111. Boyce M, Bertozzi CR. Bringing chemistry to life. *Nat Methods*. 2011;8(8):638–42.
112. Taylor DL, in het Panhuis M. Self-Healing Hydrogels. *Adv Mater*. 2016;28(41):9060–93.
113. Khatab S, Leijts MJ, van Buul G, Haeck J, Kops N, Nieboer M, et al. MSC encapsulation in alginate microcapsules prolongs survival after intra-articular injection, a longitudinal in vivo cell and bead integrity tracking study. *Cell Biol Toxicol*. 2020;36(6):553–70.
114. Yan X, Yang B, Chen Y, Song Y, Ye J, Pan Y, et al. Anti-Friction MSCs Delivery System Improves the Therapy for Severe Osteoarthritis. *Adv Mater*. 2021;33(52).
115. Nativel F, Smith A, Boulestreau J, Lépine C, Baron J, Marquis M, et al. Micromolding-based encapsulation of mesenchymal stromal cells in alginate for intraarticular injection in osteoarthritis. *Mater Today Bio*. 2023;19(December 2022).
116. Ambrosino M, Nativel F, Lagneau N, Djouad F, Renard D, Tessier A, et al. Microencapsulation of mesenchymal stromal cells in covalent alginate hydrogels for cell therapy. *bioRxiv*. 2023;1–27.
117. Bertsch P, Diba M, Mooney DJ, Leeuwenburgh SCG. Self-Healing Injectable Hydrogels for Tissue Regeneration. *Chem Rev*. 2023;123(2):834–73.
118. Ulrich S. Growing Prospects of Dynamic Covalent Chemistry in Delivery Applications. *Acc Chem Res*. 2019;
119. Guan Y, Zhang Y. Boronic acid-containing hydrogels: Synthesis and their applications. *Chem Soc Rev*. 2013;42(20):8106–21.
120. Brooks WLA, Deng CC, Sumerlin BS. Structure-Reactivity Relationships in Boronic Acid-Diol Complexation. *ACS Omega*. 2018;3(12):17863–70.
121. Piest M. Boronic acid functionalized polymers and hydrogels for biomedical applications. 2011. 1–236 p.

122. Pettignano A, Grijalvo S, Häring M, Eritja R, Tanchoux N, Quignard F, et al. Boronic acid-modified alginate enables direct formation of injectable, self-healing and multistimuli-responsive hydrogels. *Chem Commun.* 2017;53(23):3350–3.
123. Dufort BM, Tibbitt MW. Design of moldable hydrogels for biomedical applications using dynamic covalent boronic esters. *Mater Today Chem.* 2019;12:16–33.
124. Huang Z, Delparastan P, Burch P, Cheng J, Cao Y, Messersmith PB. Injectable dynamic covalent hydrogels of boronic acid polymers cross-linked by bioactive plant-derived polyphenols. *Trans Annu Meet Soc Biomater Annu Int Biomater Symp.* 2019;40:61.
125. Narayanaswamy R, Torchilin VP. Hydrogels and their applications in targeted drug delivery. *Molecules.* 2019;24(3).
126. Tibbitt MW, Dahlman JE, Langer R. Emerging Frontiers in Drug Delivery. *J Am Chem Soc.* 2016;138(3):704–17.
127. Marco-Dufort B, Willi J, Vielba-Gomez F, Gatti F, Tibbitt MW. Environment Controls Biomolecule Release from Dynamic Covalent Hydrogels. *Biomacromolecules.* 2021;22(1):146–57.
128. Das BC, Chokkalingam P, Masilamani P, Shukla S, Das S. Stimuli-Responsive Boron-Based Materials in Drug Delivery. *Int J Mol Sci.* 2023;24(3).
129. Wu D, Shi X, Zhao F, Chilengue STF, Deng L, Dong A, et al. An injectable and tumor-specific responsive hydrogel with tissue-adhesive and nanomedicine-releasing abilities for precise locoregional chemotherapy. *Acta Biomater.* 2019;96:123–36.
130. Banach Ł, Williams GT, Fossey JS. Insulin Delivery Using Dynamic Covalent Boronic Acid/Ester-Controlled Release. *Adv Ther.* 2021;4(11).
131. Zhao L, Niu L, Liang H, Tan H, Liu C, Zhu F. PH and Glucose Dual-Responsive Injectable Hydrogels with Insulin and Fibroblasts as Bioactive Dressings for Diabetic Wound Healing. *ACS Appl Mater Interfaces.* 2017;9(43):37563–74.
132. Saraswathibhatla A, Indana D, Chaudhuri O. Cell–extracellular matrix mechanotransduction in 3D. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2023;24(7):495–516.
133. Chaudhuri O. Viscoelastic hydrogels for 3D cell culture. *Biomater Sci.* 2017;5(8):1480–90.

134. Tang S, Ma H, Tu HC, Wang HR, Lin PC, Anseth KS. Adaptable Fast Relaxing Boronate-Based Hydrogels for Probing Cell–Matrix Interactions. *Adv Sci.* 2018;5(9):1–8.
135. Liu C, Yu Q, Yuan Z, Guo Q, Liao X, Han F, et al. Engineering the viscoelasticity of gelatin methacryloyl (GelMA) hydrogels via small “dynamic bridges” to regulate BMSC behaviors for osteochondral regeneration. *Bioact Mater.* 2023;25(April 2022):445–59.
136. Smithmyer ME, Deng CC, Cassel SE, Levalley PJ, Sumerlin BS, Kloxin AM. Self-Healing Boronic Acid-Based Hydrogels for 3D Co-cultures. *ACS Macro Lett.* 2018;7(9):1105–10.
137. Hu Y, Jia Y, Wang S, Ma Y, Huang G, Ding T, et al. An ECM-Mimicking, Injectable, Viscoelastic Hydrogel for Treatment of Brain Lesions. *Adv Healthc Mater.* 2023;12(1):1–11.
138. Tseng TC, Hsieh FY, Theato P, Wei Y, Hsu S hui. Glucose-sensitive self-healing hydrogel as sacrificial materials to fabricate vascularized constructs. *Biomaterials.* 2017;133:20–8.
139. Lagneau N, Terriac L, Tournier P, Helesbeux JJ, Viault G, Séraphin D, et al. A new boronate ester-based crosslinking strategy allows the design of nonswelling and long-term stable dynamic covalent hydrogels. *Biomater Sci.* 2023;11(6):2033–45.

Le serment de Galien

SERMENT DE GALIEN

Je jure, en présence de mes maîtres de la Faculté, des conseillers de l'Ordre des pharmaciens et de mes condisciples :

- ❖ D'honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement.*
- ❖ D'exercer, dans l'intérêt de la santé publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement.*
- ❖ De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine, de respecter le secret professionnel.*
- ❖ En aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser des actes criminels.*

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses.

Que je sois couvert d'opprobre, méprisé de mes confrères, si j'y manque.