



## Application des cellules chondrocytes dans la régénération tissulaire du cartilage articulaire

### 1. Introduction :

Le cartilage articulaire est un tissu conjonctif hautement spécialisé, non vascularisé, dépourvu d'innervation et très pauvre en cellules. Il recouvre les surfaces articulaires, permettant un mouvement fluide et la répartition uniforme des charges dans l'articulation.

Il est constitué majoritairement de :

- \* matrice extracellulaire (collagène de type II, protéoglycans, acide hyaluronique)
- \* chondrocytes, qui représentent moins de 5 % du volume total du tissu

L'absence de vascularisation empêche :

- \* la migration de cellules réparatrices
- \* la régénération spontanée en cas de lésion
- \* l'apport de facteurs nutritionnels en cas de blessure

C'est pourquoi les lésions cartilagineuses sévères ne cicatrisent pas seules .

Face à ces limites biologiques, les techniques de culture cellulaire ont permis le développement de stratégies thérapeutiques innovantes, notamment l'implantation autologue ( signifie que les cellules implantées proviennent de vous), de chondrocyte (le type de cellules cartilagineuses qui réparent la zone endommagée, appelée lésion).

ACI : Implantation autologue de cartilage

### Objectif :

« Présenter les méthodes d'isolement, de culture et d'utilisation des chondrocytes pour la réparation du cartilage articulaire, et montrer leur potentiel dans la régénération tissulaire.

### Problématique :

En quoi l'implantation autologue de chondrocytes permet une restauration efficace du cartilage articulaire endommagé tout en assurant son intégration et sa fonctionnalité à long terme ?

## Méthode Isolement des chondrocytes : principes, protocoles et techniques

L'Implantation Autologue de Chondrocytes est une technique chirurgicale avancée utilisée pour réparer le cartilage endommagé dans l'articulation du genou. Elle se déroule en deux grandes phases : la collecte des cellules et leur implantation.

### Phase 1 : Prélèvement et préparation des cellules cartilagineuses

#### 1] Prélèvement du cartilage sain

- De petites incisions appelées *points d'entrée* sont faites autour de l'articulation du genou.
- Le chirurgien insère un arthroscopie (caméra miniaturisée) à l'intérieur du genou.
- Une solution saline est injectée dans l'articulation à l'aide d'une canule.
- Cette solution permet de distendre l'articulation et d'obtenir une meilleure visibilité.
- L'image transmise par l'arthroscope apparaît sur un écran vidéo.
- Le chirurgien peut ainsi observer l'intérieur du genou en temps réel.
- À travers une autre incision, des instruments spécialisés sont insérés dans l'articulation.
- Un petit échantillon de cartilage sain (biopsie) est prélevé dans une zone non portante du cartilage articulaire.
- Les instruments sont retirés.
- L'intervention arthroscopique est terminée et le cartilage prélevé est envoyé au laboratoire.

#### 2] Envoi de cellules au laboratoire spécialisé

- Le fragment de cartilage prélevé est transporté dans un milieu stérile vers un laboratoire spécialisé d'ingénierie tissulaire.
- Le cartilage est traité par des méthodes enzymatique (Collagénase (principal agent digestif) Trypsine, Hyaluronidase) pour libérer uniquement les chondrocytes par centrifugation, les cellules responsables de la synthèse du cartilage.

### 3] Culture cellulaire

Après l'isolement des chondrocytes à partir de la biopsie de cartilage, ces cellules doivent être multipliées **in vitro** pour obtenir une quantité suffisante avant réimplantation. La culture cellulaire suit plusieurs étapes rigoureuses :

#### 1] Mise en culture initiale

- Les chondrocytes isolés sont déposés dans une **boîte de culture** ou flacon stérile.
- Ils sont immersés dans un **milieu nutritif riche**, stérile, spécifique pour cellules cartilagineuses (ex : DMEM - Dulbecco's Modified Eagle Medium).
- Le milieu contient :
  - Sérum fœtal bovin (FBS)** : source d'hormones, protéines, facteurs de croissance naturels
  - Antibiotiques / antifongiques** : prévention des contaminations bactériennes et fongiques
  - Vitamines, sels minéraux, glucose** : essentiels au métabolisme et à la survie cellulaire

#### 2] Conditions de culture contrôlées

Les chondrocytes sont incubés dans des conditions identiques à l'environnement physiologique humain :

Paramètre Condition

Température **37°C** (température corporelle)

Atmosphère **5% CO<sub>2</sub>** pour maintenir le pH du milieu

Stérilité Travail sous hotte à flux laminaire pour éviter contamination

pH Stable autour de **7,2 - 7,4**

→ L'incubateur maintient **température + humidité + gaz** pour que les cellules restent viables.

#### 3] Prolifération cellulaire

Les chondrocytes se fixent d'abord au fond du flacon (cellules adhérentes), puis commencent à se diviser.

→ Pour stimuler et accélérer leur multiplication, le milieu de culture est enrichi en **facteurs de croissance** :

Facteur	Rôle
<input checked="" type="checkbox"/> <b>TGF-<math>\beta</math> (Transforming Growth Factor-<math>\beta</math>)</b>	Stimule synthèse de matrice cartilagineuse et division cellulaire
<input checked="" type="checkbox"/> <b>FGF-2 (Fibroblast Growth Factor-2)</b>	Augmente prolifération, évite dédifférenciation
<input checked="" type="checkbox"/> <b>IGF-1 (Insulin-like Growth Factor-1)</b>	Favorise production de collagène II et protéoglycans

→ Ces facteurs aident les chondrocytes à **garder leur phénotype cartilagineux**, ce qui est crucial pour produire un cartilage fonctionnel.

#### 4] Passage (Subculture / Repique)

- Une fois que les cellules recouvrent la surface du flacon (**confluence 80-90%**), on les détache avec de la **trypsine**.
  - Elles sont remises dans de nouveaux flacons avec du milieu frais.
  - Ce repiquage permet d'augmenter progressivement leur nombre sans qu'elles s'étouffent par manque d'espace.
- Chaque passage permet de multiplier les cellules plusieurs fois.  
 Cette étape garantit une **expansion contrôlée**.

#### 5] Contrôles de qualité

Pendant toute la culture, plusieurs vérifications sont faites :

- ✓ Observation microscopique quotidienne : forme, adhérence, état de santé
- ✓ Changement régulier du milieu (tous les 2-3 jours)
- ✓ Tests microbiologiques pour confirmer absence de contamination
- ✓ Parfois, analyses moléculaires pour vérifier que les cellules expriment toujours collagène II et aggrecane (marqueurs du cartilage)

#### 6] Durée et rendement

- En général, il faut **3 à 4 semaines** pour obtenir la quantité suffisante de cellules :
  - environ **10 à 12 millions de chondrocytes**
- Le nombre dépend :
  - ✓ taille de la lésion cartilagineuse
  - ✓ capacité de prolifération des cellules du patient

#### **Objectif final**

À l'issue de la culture, on obtient une **suspension riche en chondrocytes jeunes et fonctionnels**, prête à être réimplantée dans la zone lésée du cartilage.

## Phase 2 : l'implantation des chondrocytes dans le genou

### 1] Ouverture chirurgicale de la zone à réparer

Une incision est réalisée pour exposer l'articulation du genou de manière directe.

Le chirurgien visualise précisément la zone où le cartilage est endommagé.

### 2] Préparation de la zone lésionnelle

Le cartilage abîmé est soigneusement retiré.

Les bords de la zone de lésion sont régularisés pour faciliter la fixation de la future greffe.

### 3] Mise en place du patch de périoste

- La zone lésée est recouverte par un pansement ou une membrane étanche pour créer un espace fermé.
- Technique classique (ACI) : Patch de périoste suturé sur la lésion
- Technique avancée (MACI) : Matrice de collagène pré-ensemencée de chondrocytes

Le chirurgien vérifie l'étanchéité → indispensable pour éviter les fuites de cellules.

### 4] Injection des chondrocytes cultivés

- Les nouvelles cellules cartilagineuses cultivées sont injectées :

Dans l'ACI classique, les chondrocytes sont injectés sous le patch

Dans le MACI, la matrice contenant les cellules est appliquée directement sur la lésion

- Les chondrocytes se fixent progressivement à l'os sous-jacent.
- Ils commencent alors à produire la **matrice cartilagineuse** permettant la régénération du cartilage.

## Résultats et discussion :

Après l'isolement et la culture, les chondrocytes ont montré une bonne adhérence au support et ont commencé à se multiplier progressivement durant les premières semaines.

Au microscope, les cellules ont conservé une morphologie arrondie, typique des chondrocytes, indiquant qu'elles ont gardé leur identité cellulaire.

Elles ont également produit une matrice extracellulaire abondante, contenant du collagène de type II et des protéoglycans, deux composants essentiels du cartilage hyalin.

La viabilité cellulaire est restée élevée tout au long de la culture, et aucune contamination n'a été observée, ce qui prouve que les conditions de culture étaient stériles et contrôlées.

Au bout de quelques semaines, les chondrocytes ont formé un tissu cartilagineux homogène et compact, similaire au cartilage sain.

Ces observations confirment la capacité régénératrice des chondrocytes cultivés *in vitro* pour la réparation du cartilage articulaire.

## Conclusion :

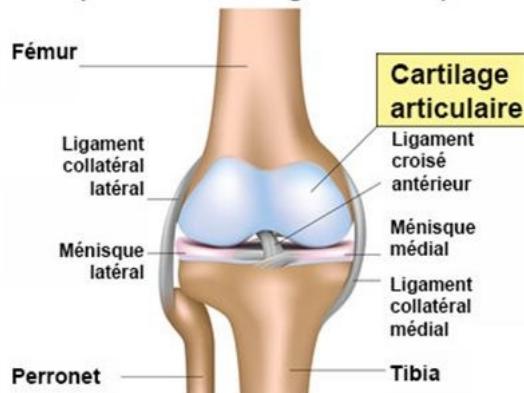
La thérapie par chondrocytes constitue une stratégie prometteuse pour la régénération du cartilage articulaire, un tissu ayant une faible capacité de réparation naturelle.

Les chondrocytes isolés et cultivés en laboratoire conservent leur viabilité et produisent une matrice extracellulaire riche en éléments essentiels du cartilage. Une fois implantés, ils favorisent la formation de nouveaux tissus cartilagineux et améliorent progressivement la fonction mécanique de la zone lésée.

Malgré des limites telles que la dédifférenciation et l'intégration variable, cette approche représente une avancée importante en médecine régénérative et ouvre des perspectives d'amélioration grâce à de futures optimisations et combinaisons avec d'autres techniques cellulaires.

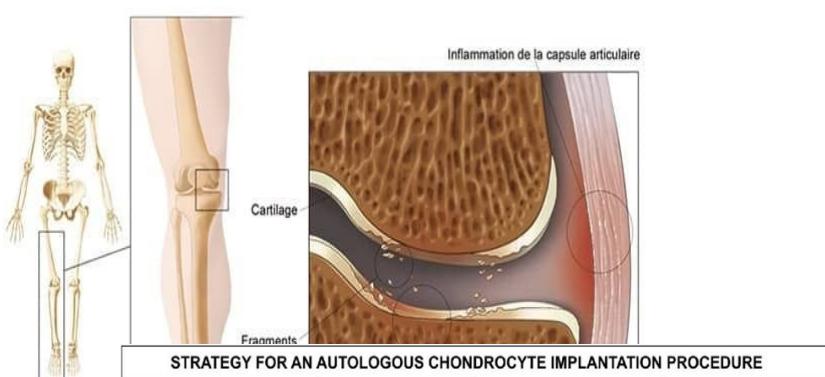
## Articulation du genou

(vue de face du genou droit)



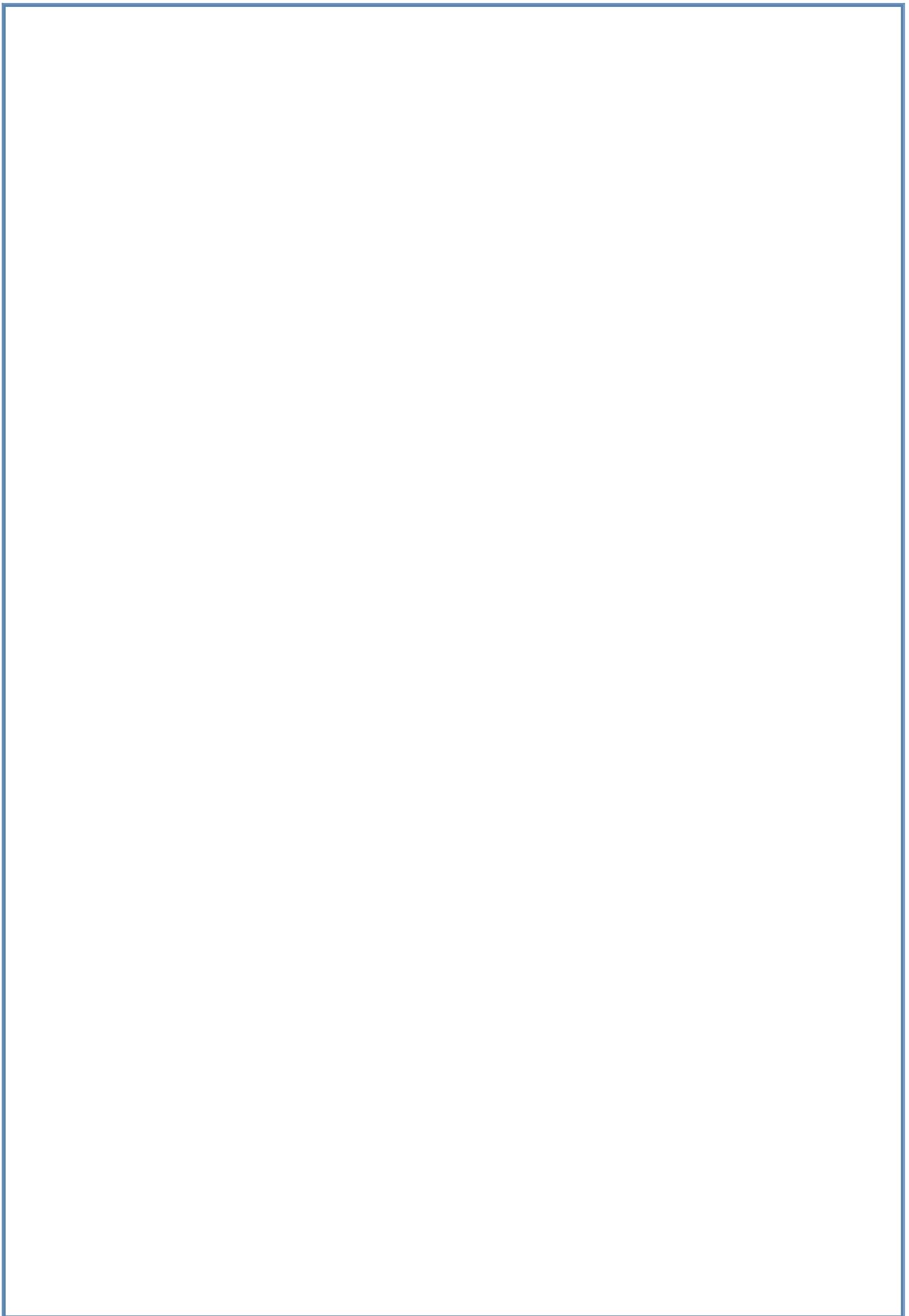
### ARTHROSE DU GENOU (GONARTHROSE)

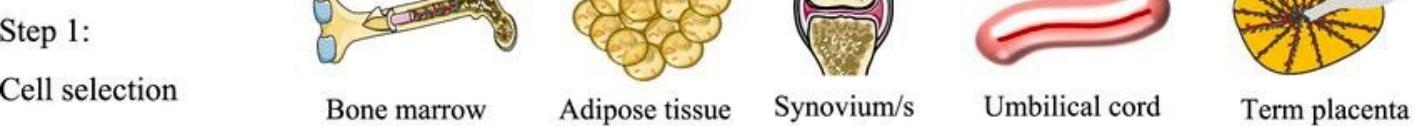
COUPE FRONTALE DU GENOU



### STRATEGY FOR AN AUTOLOGOUS CHONDROCYTE IMPLANTATION PROCEDURE

1. BIOPSY	2. CULTURE OF CHONDROCYTES	3. INJECTION OF CULTURED CHONDROCYTES	4. HEALTHY KNEE

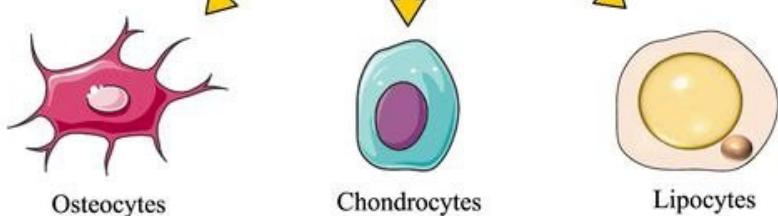




Step 2:  
MSCs isolation

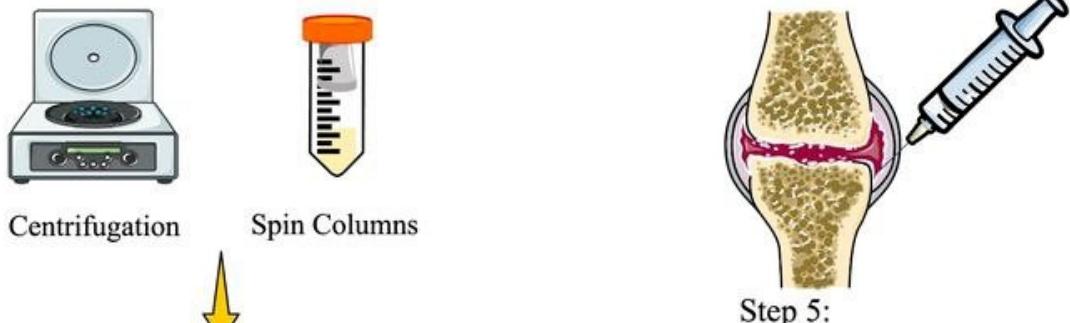


Step 2:  
Authenticate of MSCs



Differentiation into adipocyte, chondrocyte, and osteoblast lineages

Step 3:  
Isolation of exosomes  
or applying MSCs



Step 5:  
Application of exosomes

Step 4:  
Authenticate of  
exosomes

