

TITRE DU PROJET (limité chacun à 255 caractères) :

Stratégies de ré-implantation par autogreffe de papilles gustatives après radiothérapie

1) Renseignements administratifs sur la direction de thèse¹ (1 page maximum) :

Directeur de thèse HDR :

Nom : **Narcisse**

Prénom : **ZWETYENGA**

Section CNU : **Section CNU 55 : Chirurgie / Sous-section 55-03 : Chirurgie maxillo-faciale et stomatologie**

Grade : *Pr*

HDR : Date de soutenance.....2009..... Discipline : ... medecine.....

l'HDR devra être soutenue, ou sa soutenance autorisée, au moment du dépôt du présent projet.

Coordonnées (adresse, courriel, téléphone) : **CHU Dijon, 2 bd Mar de Lattre de Tassigny, 21000 Dijon/ Tel : 03 80 29 37 57**

narcisse.zwetyenga@chu-dijon.fr

Unité d'appartenance (intitulé, label, n°, directeur) : **INSERM U1231 "Center for Translational Medicine (CTM) , directeur : François Ghiringhelli**

2) Descriptif du projet de thèse (devra inclure les rubriques suivantes) :

- nom et label de l'unité de recherche **UMR 1231 INSERM CTM (équipe – NUTox)**
- localisation : **Faculté des sciences Gabriel**
- nom du directeur de thèse et du co-directeur s'il y a lieu : **Professeur Narcisse. ZWETYENGA, , Pr., HDR**
- adresse courriel du contact scientifique : narcisse.zwetyenga@chu-dijon.fr

Titre du projet : Stratégies de Régénération des papilles gustatives après radiothérapie : approches par autogreffe ou organoïdes.

Les cancers de la cavité buccale et de l'oropharynx représentent chaque année près de 500 000 nouveaux cas et plus de 240 000 décès dans le monde. Le traitement curatif repose majoritairement sur la chirurgie associée à la radiothérapie. Si ces stratégies améliorent la survie, elles entraînent fréquemment des altérations sévères des papilles gustatives et une perturbation durable de la perception du goût. Ces déficits gustatifs contribuent à une diminution de l'apport nutritionnel, une perte pondérale et une altération significative de la qualité de vie des patients (Nguyen et al., 2021). La radiothérapie endommage directement les bourgeons gustatifs et perturbe les interactions neuro-épithéliales nécessaires à la transduction sensorielle.

¹ ATTENTION : selon l'article 16 de l'arrêté du 25 mai 2016, le total d'encadrants ne peut pas dépasser 2, sauf si l'un des encadrants appartient au monde socio-économique, qui peut venir en sus, ou en cas de co-tutelle; Le décompte des co-encadrements se fera au prorata du nombre d'encadrants : 1 pour 1 encadrant, ½ pour deux encadrants.

Les bourgeons gustatifs présentent néanmoins une capacité intrinsèque de renouvellement dépendante de cellules progénitrices spécialisées et de leur microenvironnement neuro-épithélial (Barlow, 2020). Restaurer une architecture gustative fonctionnelle constitue donc une stratégie prometteuse pour favoriser la récupération sensorielle après traitement oncologique.

Dans ce contexte, ce projet de thèse explore la faisabilité de la réimplantation de papilles gustatives fonctionnelles afin de restaurer la perception gustative après radiothérapie. Le lapin constitue un modèle pertinent en raison de la taille et de l'accessibilité de sa langue, de sa physiologie orale et de sa pertinence translationnelle pour la chirurgie reconstructrice. Deux approches complémentaires seront étudiées : l'autogreffe de papilles gustatives après cryoconservation, offrant un chemin court vers la restauration du goût, et la réimplantation d'organoïdes gustatifs développés en culture tridimensionnelle, permettant la reconstruction d'une structure sensorielle fonctionnelle.

Approches expérimentales

1- Autogreffe de papilles gustatives après cryoconservation

Après consentement éclairé et autorisations éthiques, des papilles fongiformes humaines seront prélevées au CHU de Dijon dans des conditions chirurgicales stériles. Après rinçage et microdissection afin de préserver l'architecture épithéliale et les bourgeons gustatifs, les explants seront soumis à une cryoconservation contrôlée visant à maintenir leur viabilité cellulaire et leur intégrité structurale.

Après décongélation, les papilles seront réimplantées dans une loge linguale receveuse préparée par dénudation épithéliale superficielle afin d'exposer un lit vascularisé favorable à la prise du greffon. La stabilisation sera assurée par micro-sutures résorbables ou biomatériau adhésif. Le suivi postopératoire permettra d'évaluer la survie épithéliale, l'intégration tissulaire et la réinnervation, paramètres essentiels à la restauration sensorielle. Cette approche autologue présente l'avantage d'éviter les complications immunologiques et pourrait constituer une stratégie directement transférable chez les patients devant subir une radiothérapie.

2- Développement d'organoïdes gustatifs humains

En parallèle, une approche régénérative reposant sur les organoïdes gustatifs sera développée. Après consentement éclairé et autorisations éthiques, des papilles fongiformes humaines seront prélevées au CHU de Dijon, puis traitées afin d'isoler les cellules gustatives. L'équipe dispose d'une expertise reconnue dans ce domaine, incluant l'établissement d'une lignée humaine de cellules gustatives et le développement récent de modèles tridimensionnels murins. Le projet vise à étendre cette approche aux cellules gustatives humaines.

Les organoïdes seront générés dans une matrice extracellulaire et cultivés dans un milieu enrichi en facteurs favorisant la différenciation gustative. Les cultures tridimensionnelles permettent la polarisation cellulaire, l'auto-organisation et la reproduction des interactions tissulaires observées in vivo. Des travaux récents ont montré que des cellules progénitrices gustatives peuvent générer des organoïdes reproduisant l'architecture et la fonctionnalité des bourgeons gustatifs (Ren et al., 2020).

Après inversion de leur polarité afin de rendre accessible le pôle apical, les organoïdes seront caractérisés morphologiquement et phénotypiquement par l'analyse de marqueurs spécifiques des cellules gustatives et des récepteurs du goût. Leur fonctionnalité sera évaluée par imagerie calcique et par la libération de neurotransmetteurs en réponse à des stimuli sapides.

3- Évaluation in vivo : souris nude et lapin immunomodulé

L'intégration et la maturation des tissus gustatifs seront étudiées dans des modèles animaux complémentaires.

Les souris nude, dépourvues de lymphocytes T fonctionnels, offrent un environnement immunologiquement permissif permettant la xénogreffe d'organoïdes ou d'explants gustatifs humains. Les greffes seront réalisées sous l'épithélium lingual ou sur un site sous-cutané vascularisé. Des études ont montré que des organoïdes linguales transplantés peuvent survivre, s'intégrer et restaurer des structures gustatives in vivo (Okubo et al., 2021).

Le lapin, modèle de plus grande taille et pertinent pour les applications translationnelles, permettra d'évaluer l'intégration tissulaire, la revascularisation et la réinnervation dans un environnement anatomique proche des conditions cliniques. L'implantation d'organoïdes humains pourra être réalisée sous immunomodulation pharmacologique afin de limiter le rejet.

4- Évaluation de la prise de greffe et de la récupération fonctionnelle

La fonctionnalité gustative dépend étroitement de l'établissement d'interactions neuro-épithéliales et vasculaires. La reconstruction des papilles gustatives sera analysée par histologie et immunohistochimie afin de vérifier l'organisation épithéliale et la maturation des bourgeons gustatifs. Des marqueurs spécifiques des cellules gustatives (par exemple CK8, gustducine), des marqueurs neuronaux (PGP9.5, neurofilaments) ainsi que l'imagerie confocale permettra d'analyser l'architecture tridimensionnelle et l'intégration neuro-épithéliale cela permettra d'évaluer la différenciation cellulaire au sein des papilles ainsi que la réinnervation.

La récupération fonctionnelle du goût sera évaluée in vivo par des tests comportementaux adaptés. Le test de préférence à double choix ou le « *liking test* » permettront d'évaluer la capacité de discrimination gustative en comparant la consommation d'eau et de solutions sapides (sucré, salé, amer ou umami).

Impact et perspectives

Ce projet vise à restaurer la perception gustative des patients irradiés, améliorer l'apport nutritionnel et la qualité de vie, et ouvrir la voie à des thérapies régénératives innovantes pour les déficits gustatifs post-radiothérapie.

L'autogreffe après cryoconservation pourrait offrir une solution rapidement transférable en clinique, tandis que les organoïdes gustatifs représentent une stratégie de reconstruction sensorielle personnalisée. L'intégration d'analyses morphologiques avancées et d'évaluations fonctionnelles comportementales constitue une étape essentielle vers la validation préclinique d'une restauration effective du goût.

Références clés

- Barlow L.A., 2020. Progress and renewal in taste bud cell biology. *Current Opinion in Physiology*.
- Nguyen H.M. et al., 2021. Radiation-induced taste dysfunction in head and neck cancer patients. *Oral Oncology*.
- Okubo T. et al., 2021. Transplantation of lingual epithelial organoids restores taste bud structures in vivo. *Developmental Biology*.
- Ren W. et al., 2020. Taste stem/progenitor cells generate taste bud organoids ex vivo. *PNAS*.

Résumé en français et anglais (limité chacun à 1800 caractères)

Résumé en français

Les cancers de la cavité buccale et de l'oropharynx sont fréquemment traités par chirurgie associée à la radiothérapie, entraînant des altérations durables des papilles gustatives et une dysgueusie affectant l'apport nutritionnel et la qualité de vie des patients. Bien que les bourgeons gustatifs possèdent une capacité intrinsèque de renouvellement, les dommages neuro-épithéliaux induits par l'irradiation compromettent leur récupération fonctionnelle.

Ce projet de thèse vise à explorer des stratégies régénératives permettant de restaurer la perception gustative après radiothérapie. Deux approches complémentaires seront étudiées : l'autogreffe de papilles gustatives après cryoconservation, stratégie potentiellement transposable en clinique, et la reconstruction sensorielle par organoïdes gustatifs humains issus de cultures tridimensionnelles reproduisant l'architecture et la fonctionnalité des bourgeons gustatifs.

Les organoïdes seront caractérisés morphologiquement, phénotypiquement et fonctionnellement, puis évalués in vivo après implantation chez la souris nude, modèle immunologiquement permissif, et chez le lapin immunomodulé, modèle pertinent pour la translation clinique. L'intégration tissulaire, la revascularisation et la réinnervation seront analysées par histologie et immunohistochimie.

La récupération fonctionnelle sera évaluée par des tests comportementaux gustatifs, tels que le test de préférence à double choix et le « liking test », permettant d'établir un lien entre reconstruction structurale et restauration sensorielle.

Ce projet vise à améliorer la qualité de vie des patients irradiés et à ouvrir la voie à des thérapies régénératives innovantes pour les déficits gustatifs post-radiothérapie.

Résumé en anglais

Cancers of the oral cavity and oropharynx are commonly treated with surgery combined with radiotherapy, frequently resulting in long-term damage to taste papillae and taste dysfunction that negatively affects nutritional intake and quality of life. Although taste buds possess intrinsic regenerative capacity, radiation-induced neuro-epithelial damage compromises functional recovery.

This PhD project aims to explore regenerative strategies to restore taste perception following radiotherapy. Two complementary approaches will be investigated: autologous transplantation of cryopreserved taste papillae, a strategy with strong translational potential, and sensory reconstruction using human taste organoids generated through three-dimensional culture systems that reproduce the architecture and functionality of taste buds.

Taste organoids will be characterized morphologically, phenotypically, and functionally, and their in vivo integration will be assessed after implantation in immunodeficient nude mice and immunomodulated rabbits, a large-animal model relevant for clinical translation. Tissue integration, revascularization, and reinnervation will be evaluated using histology and immunohistochemistry.

Functional recovery will be assessed through behavioral taste assays, including two-choice preference and liking tests, enabling correlation between structural reconstruction and sensory restoration.

This project aims to improve the quality of life of irradiated patients and to pave the way for innovative regenerative therapies for post-radiotherapy taste disorders.

Préciser le domaine de compétence dans la liste ci-dessous :

2 choix possibles maximum –les intitulés sont ceux d'ABG),

Biologie

Santé, médecine humaine, vétérinaire

Indiquez quelques mots clés concernant votre sujet) :