

Développement de membranes 3D à base de nanofibres synthétiques pour la régénération osseuse



Sandy Eap
Elève ingénieur
ENSAIT



Nemeshwaree Behary-Massika
Maître de conférences



Nadia Benkirane-Jessel
Directrice de recherche
Tutrice Inserm

Le domaine médical est un domaine dynamique qui depuis toujours fait l'objet de recherche dans le but d'améliorer la santé des personnes. Le contexte actuel tend à développer et à faire progresser les bio- et nanotechnologies pour permettre de meilleurs soins, dans de meilleures conditions.

Avec des recherches toujours plus poussées ayant pour but d'améliorer la santé et de guérir toujours plus de personnes, la régénération tissulaire et, par conséquent la conception, de nouveaux biomatériaux sont deux grandes voies de développement pour les technologies appliquées à la santé. En effet, l'ingénierie tissulaire a pour but la régénération partielle ou complète de tissus ou d'organes abîmés du corps humain par implantation d'un tissu ou d'un organe de remplacement au niveau des tissus endommagés. Ainsi, la nécessité de développer en premier lieu des matériaux biocompatibles, c'est-à-dire acceptés par l'organisme, puis capables d'interagir avec les cellules au site de l'implantation du dit matériau afin d'aider à la fonction de l'implant. La recherche en ingénierie tissulaire a pour ambition de synthétiser tout type de tissus humains ou organes entiers tels que la peau, les vaisseaux sanguins, le cartilage, les nerfs, les os, etc.

En effet, les os remplissent une fonction de soutien dans l'organisme : le tissu osseux participe à de nombreuses fonctions telles que les fonctions mécaniques, protectrices, ou encore métaboliques. Cependant, le tissu osseux, comme tous les tissus du corps humains, peut être endommagé par des maladies ou des blessures. Ainsi lorsque la taille des défauts osseux est telle que l'os est incapable de se régénérer, l'utilisation de substituts osseux est alors nécessaire afin d'aider l'organisme à la régénération. L'approche la plus courante en ingénierie tissulaire est aujourd'hui une

approche biomimétique d'échafaudage « scaffolds » ou biomatériau mimant la matrice extracellulaire des cellules composant les tissus et s'appuyant sur le modèle du corps humain. L'implantation de ces biomatériaux ou implants (sous forme de membrane par exemple) dans l'organisme induira la régénération des tissus *in vivo*. Un biomatériau est implanté à titre provisoire : il remplace temporairement le tissu abîmé qui l'utilisera comme support à sa régénération, tandis que celui-ci finira par se dégrader et disparaître lorsque le tissu sera totalement régénéré. Ainsi, la recherche tend à mimer au mieux l'environnement biologique naturel au sein duquel le biomatériau sera par la suite implanté afin d'optimiser les conditions de prolifération des cellules. Le choix du matériau à implanter quant à ses propriétés physico-chimiques, de biocompatibilité, et de biodégradabilité est donc critique, et ainsi des méthodes de fonctionnalisation se sont développées afin de fournir à ces matériaux des propriétés supplémentaires leur permettant d'interagir avec le tissu vivant et ainsi aider à la régénération.

Notre projet s'intéresse au domaine de l'ingénierie tissulaire et plus particulièrement à la régénération des tissus osseux. L'ambition du projet étant de développer une technique simple à base de fibres synthétiques (actuellement des membranes d'origine animale sont utilisées en clinique) permettant la régénération osseuse, pour des petites et grandes lésions osseuses, dans le but d'une application clinique future possible. Pour cela, notre projet jette les fondations de la conception d'une telle technique.

Membrane épaisse 3D nanofibreuse

Durant ce travail, nous avons mis au point une membrane épaisse tridimensionnelle par électrospinning (cf Fig.1 et 2)



Fig.1 : Photos de membranes 3D en PCL obtenues par électrospinning. De gauche à droite : membrane sur plaque de plexiglas, membrane de profil, membrane vue de dessus

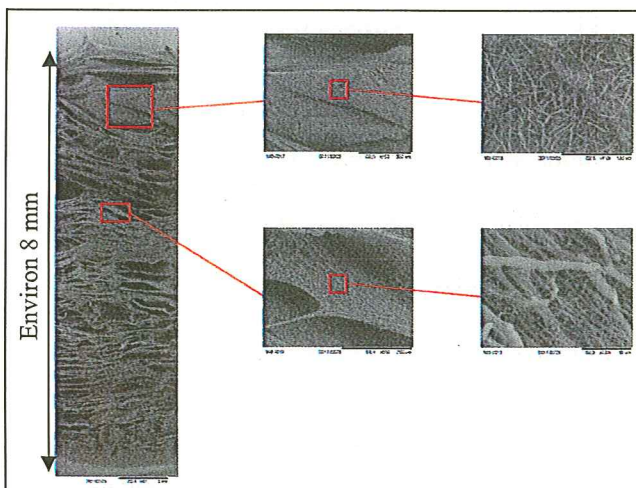


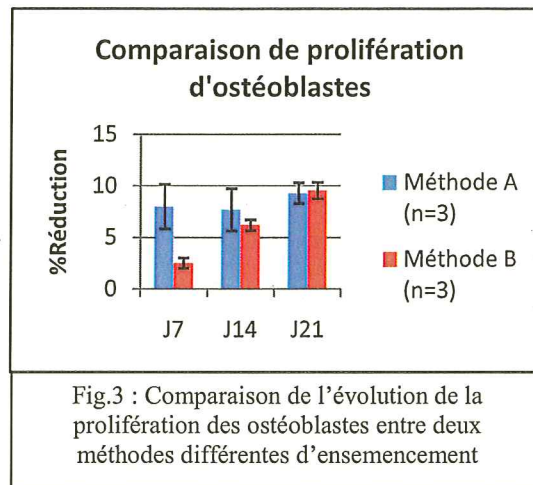
Fig.2 : Prise de vue au MEB d'une coupe transversale de membrane 3D

Ces membranes ont été testées pour leur capacité à induire une régénération osseuse *in vitro* en utilisant des ostéoblastes par deux méthodes d'ensemencement. La première méthode qu'on appellera méthode A, consiste à ensemercer directement sur chaque bloc de membrane $3,0 \cdot 10^5$ cellules. Les blocs sont placés dans une plaque de 24 puits : un bloc dans chaque puits, plongé dans 2mL de milieu de culture afin de le recouvrir totalement. Une membrane fournissant quatre blocs, trois d'entre eux sont ensemercés et le quatrième constitue le contrôle (un bloc sans cellule).

La deuxième méthode, méthode B, consiste à placer un bloc dans un puits contenant $2,0 \cdot 10^4$ cellules en suspension dans 2mL de milieu de culture. De même que pour la méthode A, on met en œuvre trois blocs accueillant des cellules et un bloc de contrôle.

Pour le suivi de la prolifération cellulaire, on utilise le test de l'Alamar Bleu®. L'Alamar Bleu®

incorpore un indicateur de croissance colorimétrique basé sur la détection de l'activité métabolique.



Les résultats montrent que la méthode B met en évidence une prolifération et une activité cellulaire plutôt satisfaisante bien qu'elle reste plus faible que sur des supports plus classiques. Cependant au vue des limites de l'expérimentation, les membranes étant épaisses, l'infiltration cellulaire pourrait avoir minimisé les résultats de l'Alamar Bleu®, le changement de couleur n'ayant peut être pas eu le temps de diffuser hors de la membrane. Nos membranes 3D de PCL sont donc biocompatibles (viabilité cellulaire) et permettent l'adhésion et la prolifération d'ostéoblastes.

Les perspectives sont nombreuses tant concernant l'amélioration de la membrane 3D en elle-même que concernant les études futures possibles dans le domaine de l'ingénierie tissulaire pour ce type de support. En effet, il serait intéressant de mesurer les propriétés mécaniques (module d'Young, résistance à la traction, élongation) des membranes. Il est également nécessaire d'améliorer la porosité et l'interconnexion des pores en modifiant éventuellement la formulation de la solution de polymère par l'incorporation d'un sel par exemple.