NeoTissage 3D micro-weaving of electrospun nanofibers.

Design and fabrication of nanostructured biochips for tissue engineering applications.

ANR-P2N 2011

Salima Nedjari, Nicolas Lavielle, Anne Hébraud, Guy Schlatter* (LIPHT EAC 4379)
Nadia Benkirane-Jessel, Sandy Eap (INSERM U977)
Ségolen Geffray (IRMA UMR 7501)

AGENCE NATIONALE DE LA RECHERCHE ANR

Contexte et objectifs du projet

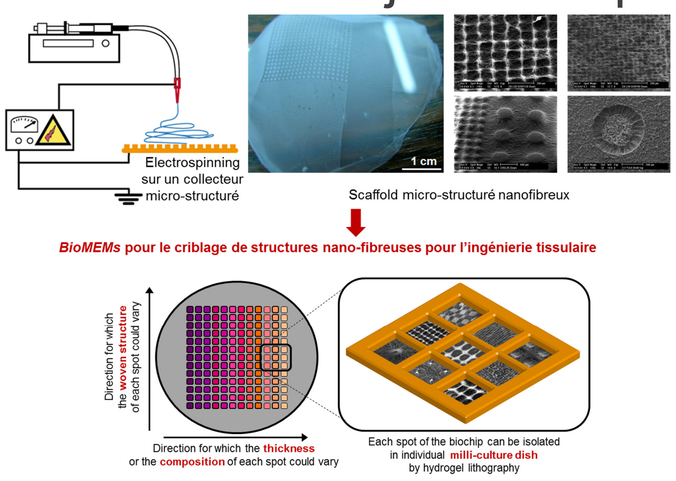

Figure 1 : *Schéma de principe du projet NeoTissage*

Contexte : Le projet NeoTissage se situe dans le contexte de l'ingénierie tissulaire et plus particulièrement la régénération osseuse. La reconstruction de lésions osseuses nécessite principalement de favoriser le développement des cellules osseuses (ostéoblastes) sur un échafaudage (scaffold) qui est implanté à l'endroit de la lésion. Bien qu'il soit établi que la structure du scaffold joue un rôle important sur l'efficacité de la prolifération des ostéoblastes, à ce jour, aucune étude systématique n'a permis d'étudier en détail l'influence de la morphologie du scaffold sur la réponse cellulaire.

Objectifs : Le projet consiste à élaborer par la technique d'électrospinning un très grand nombre de structures fibreuses (diamètre des fibres compris entre 100 nm et 1 µm) et d'étudier l'effet de l'organisation des fibres sur l'efficacité de la reconstruction osseuse. Plus précisément, nous visons les objectifs suivants :

- **Elaboration des scaffolds à base de biopolymères par électrospinning :** Sous l'action d'un champ électrique intense, une solution de polymère est éjectée violement vers un collecteur. Lors de son trajet vers le collecteur, la solution de polymère, électriquement chargée, subit des mouvements de fouet sous l'action de forces répulsives. Ces mouvements de fouet permettent l'étirement du jet et l'évaporation efficace du solvant. Il en résulte finalement l'obtention d'un dépôt sous la forme d'une membrane nanofibreuse présentant généralement une structure aléatoire non tissée. Nous avons montré que lorsque le collecteur est microstructuré il est alors possible de contrôler l'organisation des fibres lors de leur dépôt grâce à la perturbation locale du champ électrique au voisinage de la surface du collecteur. Nous nous proposons d'étudier l'**influence des paramètres géométriques et de procédé sur l'organisation des nanofibres**. Nous exploiterons ces phénomènes d'organisation pour **fabriquer des *bioMEMs* contenant un grand nombre de puits de culture cellulaire contenant chacun des structures fibreuses différentes**.
- **Etude statistique :** Une approche mathématique nous permettra de qualifier par une approche statistique la morphologie des scaffolds. Nous quantifierons aussi l'effet de la variabilité du procédé sur la morphologie des scaffolds.
- **Etude biologique :** Nous étudierons l'effet de la structure fibreuse sur l'activité des cellules osseuses.

Résultats marquants

Influence de la géométrie du collecteur sur la structure nanofibreuse : Des collecteurs présentant des structures à blocs, à trous et à nid d'abeille ont été fabriqués par photolithographie. Une étude expérimentale appuyée par la simulation numérique par la méthode des éléments finis du champ électrique au voisinage du collecteur nous a permis de comprendre les mécanismes d'organisation des nanofibres au cours de leur dépôt et de prévoir le design de nouveaux collecteurs permettant la réalisation de scaffolds à structure en « nid d'abeille ».

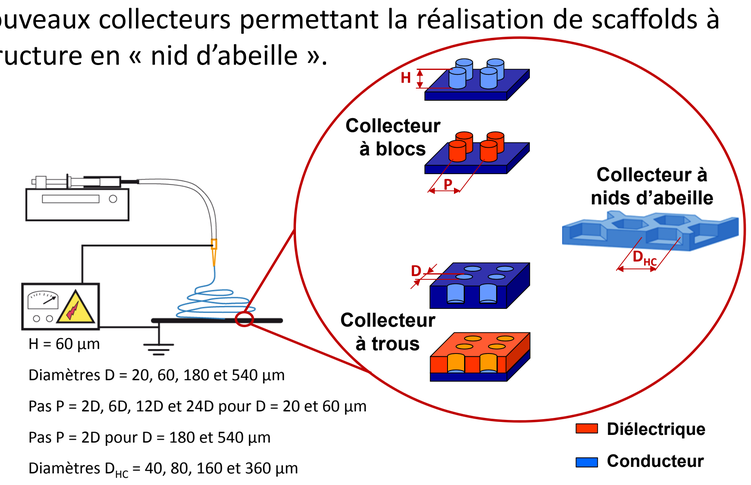

Figure 2 : *Structures des différents collecteurs réalisés par photolithographie*

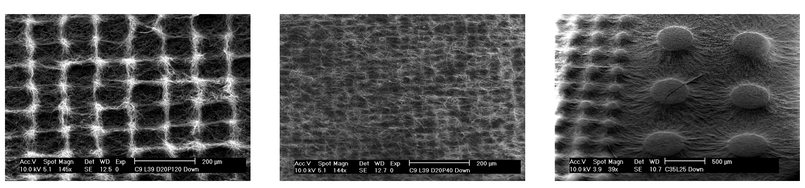

Figure 3 : *Scaffolds obtenus avec un collecteur à blocs a) et b) et un collecteur à trous c).*

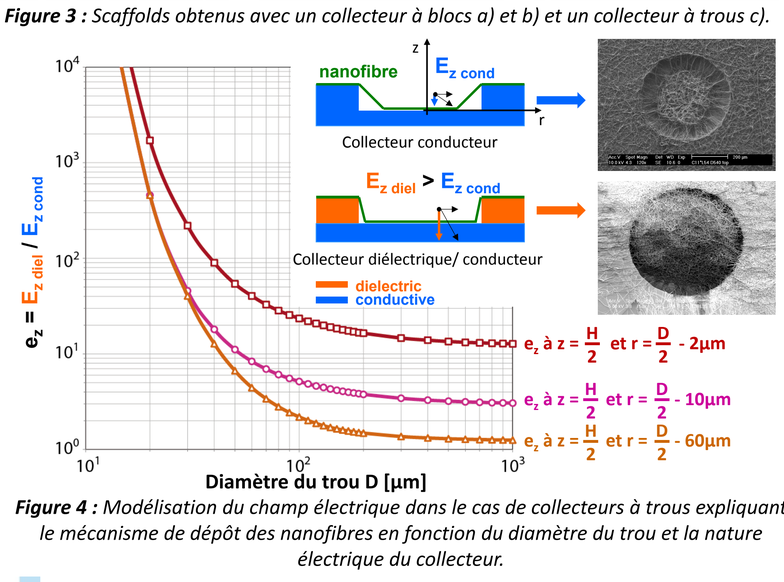

Figure 4 : *Modélisation du champ électrique dans le cas de collecteurs à trous expliquant le mécanisme de dépôt des nanofibres en fonction du diamètre du trou et la nature électrique du collecteur.*

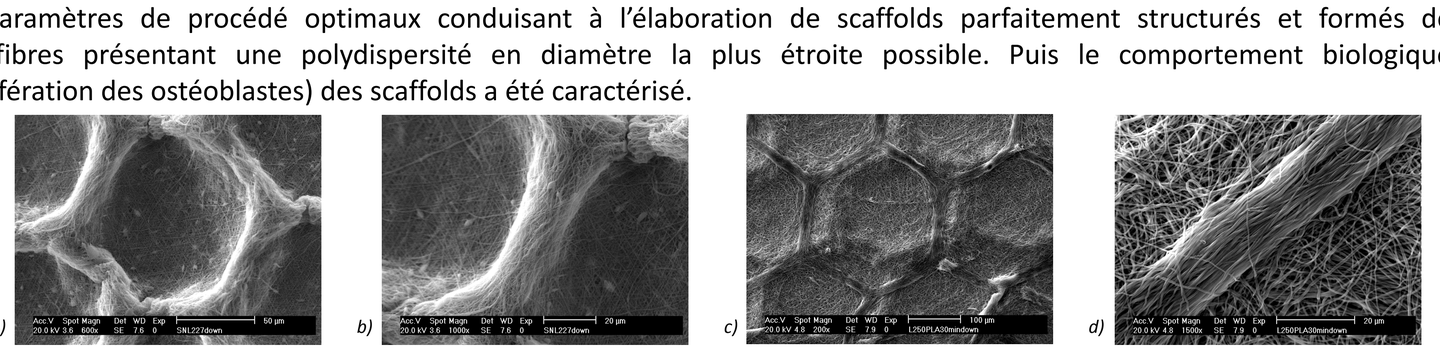

Figure 5 : *Images MEB de nids d'abeille et des nanofibres en PCL (a et b) et PLA (c et d).*

Figure 6 : *a1 à d1) Images MEB de structures en poly(ε-caprolactone) nanofibreuses en nid d'abeille (barre = 50 µm). a2 à d2) Images MEB des mêmes structures que pour la ligne supérieure à une autre échelle d'observation (barre = 100 µm). a3) à d3) Images par fluorescence des structures en nid d'abeille montrant la prolifération de cellules ostéoblastes MG63. Les noyaux cellulaires ont été marqués au DAPI (marqueur fluorescent bleu) et les cystosquelettes ont été marqués à la phalloïdine (marqueur rouge de l'actine).*

Influence de la dimension caractéristique de nids d'abeille sur la prolifération de cellules ostéoblastes MG63 : Des scaffolds présentant des structures de type « nid d'abeille » ont été réalisés avec deux polyesters bio-résorbables : le poly(ε-caprolactone) (PCL) et le poly(acide lactique) (PLA). Dans une première étape, nous avons recherché les paramètres de procédé optimaux conduisant à l'élaboration de scaffolds parfaitement structurés et formés de nanofibres présentant une polydispersité en diamètre la plus étroite possible. Puis le comportement biologique (prolifération des ostéoblastes) des scaffolds a été caractérisé.

Production scientifique (publications, brevets)

Nicolas Lavielle, Anne Hébraud, Carlos Mendoza, Alice Ferrand, Nadia Benkirane-Jessel, G. Schlatter, "Structuring and molding of electrospun nanofibers: Effect of electrical and topographical local properties of micro-patterned collectors ", *Macromolecular Materials and Engineering*, vol. 297, pp. 958-968, **2012**.

Sandy Eap, Carlos Mendoza, Anne Hébraud, Guy Schlatter, Nadia Benkirane- Jessel, "Electrospun nanofibrous 3D scaffold for bone tissue engineering", *Bio-Medical Materials and Engineering*, vol. 22, pp. 137-141, **2012**.

Salima Nedjari, Anne Hébraud, Guy Schlatter, "Organised assembly of electrospun nanofibres: from 1D to 3D" Book chapter under press in *Electrospinning: Principles, possibilities and practice*, Royal Society of Chemistry, **2013**.

CONTACT :

Pr. Guy Schlatter
LIPHT, Université de Strasbourg
25 rue Bécquerel, 67087 Strasbourg Cedex 2

Guy.Schlatter@unistra.fr

Laboratoire d'ingénierie des Polymères pour les Hautes Technologies — LIPHT — IRMA — Université de Strasbourg — CNRS — Instituts thématiques — Inserm U977 Institut national de la santé et de la recherche médicale