



**HAL**  
open science

# Développement par ingénierie tissulaire de substituts osseux prévascularisés à partir de cellules souches humaines

Vanessa Moby

► **To cite this version:**

Vanessa Moby. Développement par ingénierie tissulaire de substituts osseux prévascularisés à partir de cellules souches humaines. Biomatériaux. Université de Lorraine, 2021. tel-03283022

**HAL Id: tel-03283022**

**<https://hal.science/tel-03283022>**

Submitted on 9 Jul 2021

**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.



**HAL**  
open science

# Développement par ingénierie tissulaire de substituts osseux prévascularisés à partir de cellules souches humaines

Vanessa Moby

► **To cite this version:**

Vanessa Moby. Développement par ingénierie tissulaire de substituts osseux prévascularisés à partir de cellules souches humaines. Biomatériaux. Université de Lorraine, 2021. tel-03283022v2

**HAL Id: tel-03283022**

**<https://hal.archives-ouvertes.fr/tel-03283022v2>**

Submitted on 24 Nov 2021

**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.



**UNIVERSITÉ  
DE LORRAINE**

BioSE



**IMoPA**  
Ingénierie Moléculaire & Physiopathologie Articulaires



**Ecole Doctorale BioSE (Biologie-Santé-Environnement)**

## **Mémoire**

**Présenté et soutenu publiquement pour l'obtention du diplôme  
D'HABILITATION A DIRIGER DES RECHERCHES**

**Le 25 juin 2021**

**Par Vanessa MOBY**

**CNU sous-section 58-01**

**Développement par ingénierie tissulaire de substituts osseux  
prévascularisés à partir de cellules souches humaines**

### **Rapporteurs :**

**M. Xavier DUVAL**, PU-PH, AP-HP, CHU de Bichat, INSERM CIC 1425, Paris

**M<sup>me</sup> Sophie GANGLOFF**, PR, Biomatériaux et Inflammation en Site Osseux, EA 4691, Reims

**M. Pierre WEISS**, PU-PH, Faculté d'Odontologie, Laboratoire d'Ingénierie Ostéo-Articulaire et Dentaire, UMR 791 INSERM, Nantes

### **Examineurs :**

**M. Stéphane DURUAL**, Privat Docent, Laboratoire de Biomatériaux, CUMD-UNIGE, Genève

**M. Jean-Christophe FARGES**, PU-PH, Faculté d'Odontologie, Laboratoire de Biologie Tissulaire et Ingénierie Thérapeutique, UMR 5305 CNRS, Lyon

**M<sup>me</sup> Brigitte GROSGOGEAT**, PU-PH, Faculté d'Odontologie, Laboratoire des Multimatériaux et des Interfaces, UMR 5615 CNRS, Lyon

**M. Patrick MENU**, PR, Faculté de Pharmacie, Laboratoire d'Ingénierie Moléculaire et Physiopathologie Articulaires, UMR 7365 CNRS-UL, Nancy

### **Invitée :**

**M<sup>me</sup> Christine SUTY-SELTON**, PH, CHRU Brabois, Service de Cardiologie, Nancy

---

**Ingénierie Moléculaire et Physiopathologie Articulaires (IMoPA) - UMR 7365 CNRS-UL  
Biopôle de l'Université de Lorraine - Campus Biologie-Santé - 9, avenue de la Forêt de  
Haye - BP 20199 - 54505 Vandoeuvre-lès-Nancy Cedex**

## Table des matières

1. CURRICULUM VITAE.....	3
1.1 Informations générales .....	3
1.2 Diplômes et Titres Universitaires .....	4
1.3 Formation pratique hospitalière .....	5
1.4 Formation par la recherche académique.....	6
1.4.1 Attaché Temporaire d’Enseignement et de Recherche (Décembre 2008-Juillet 2009) .....	6
1.4.2 Post-doctorat (Mars 2008-Août 2008).....	7
1.4.3 Thèse d’Université (2005-2008).....	7
1.4.4 DEA Bioingénierie-Biomatériaux (2004-2005) .....	8
1.4.5 Master 1. Université Henri Poincaré-Nancy 1 (validé en 2001).....	8
1.5 Diffusion scientifique .....	8
1.5.1 Expert dans des instances nationales .....	8
1.5.2 Referee de journaux.....	8
1.5.3 Expertise auprès de sociétés savantes.....	8
1.5.4 Collaborations locales, nationales, internationales .....	9
1.5.5 Prix et distinction .....	9
1.5.6 Vulgarisation scientifique.....	9
1.6 Bibliométrie (au 01/04/2021) .....	9
2. ACTIVITÉS UNIVERSITAIRES ET HOSPITALIERES .....	10
2.1 Présentation synthétique des activités d’enseignement et d’administration.....	10
2.2 Activités d’enseignement universitaire (Tableau 2) .....	13
2.3 Activités d’encadrement universitaire.....	15
2.4 Jury de Thèse d’exercice .....	17
2.5 Responsabilités Universitaires et investissement en pédagogie .....	18
2.6 Activités d’encadrement hospitalières .....	20
2.7 Expertise Clinique.....	21
3. PRESENTATION SYNTHETIQUE DES ACTIVITES DE RECHERCHE .....	21
3.1 Recherche fondamentale : .....	21
3.1.1 Master II recherche (DEA) et Thèse d’Université.....	21
3.1.2 Stage de recherche postdoctoral : répartition et quantification du NGF dans le cerveau antérieur de souris transgéniques APP23 (modèle de la maladie d’Alzheimer) .....	25
3.1.3 ATER : évaluation d’un risque accru de lésions génotoxiques dans deux groupes de populations exposées : les éboueurs et les égoutiers Parisiens.....	27
3.1.4 Travaux de recherche fondamentale depuis l’obtention du poste de MCU-PH :.....	28

3.2 Recherche clinique :.....	30
3.2.1 Thèse d'exercice : Evaluation et prise en charge de la douleur et de l'anxiété dans les soins d'avulsion dentaire en Odontologie Pédiatrique.....	30
3.2.2 Travaux de recherche clinique depuis l'obtention du poste de MCU-PH : rôle de l'hygiène orale sur l'incidence des Endocardites Infectieuses (EI).....	32
3.3 Encadrements d'étudiants en Recherche .....	33
3.3.1 SIR.....	33
3.3.2 Master .....	34
3.3.3 Thèse d'Université : demandes d'autorisation à co-encadrer une Thèse (ACT).....	34
3.4 Participation à des Jurys .....	46
3.5 Diffusion des travaux (vulgarisation) .....	46
3.6 Expertise biologique.....	47
3.7 Participation à des groupes collaborateurs .....	47
3.8 Contrats.....	48
4. PRESENTATION DU PROJET SCIENTIFIQUE .....	50
4.1 Projet de recherche fondamentale.....	51
4.2 Projet de recherche clinique .....	57
5. PUBLICATIONS.....	61
6. BIBLIOGRAPHIE .....	67

## **1. CURRICULUM VITAE**

### **1.1 Informations générales**

**Nom, Titres académiques :** Vanessa MOBY, Doctorat en Chirurgie Dentaire, Doctorat d'Université en Ingénierie Cellulaire et Tissulaire

**Date et Lieu de Naissance :** 02.10.1976, Nancy (France)

**Nationalité :** Française

**Adresse Professionnelle :** Université de Lorraine, CNRS, UMR 7365, Ingénierie Moléculaire et Physiopathologie Articulaire (IMoPA). Bionôle de l'Université de Lorraine, Campus Biologie-Santé, 9 Avenue de la Forêt de Haye, BP20199, Vandœuvre-lès-Nancy, F-54505, France Cedex.

**Téléphone :** +33 (0) 3 72 74 65 81 (laboratoire)

+33 (0) 3 83 15 42 56 (hôpital)

**Fax :** +33 (0) 3 72 74 65 45

**E-mail :** [vanessa.moby@univ-lorraine.fr](mailto:vanessa.moby@univ-lorraine.fr)

**Statut actuel :** Maître de Conférences des Universités-Praticien Hospitalier

CNU 58-01 Dentisterie restauratrice, endodontie, prothèses, fonction-dysfonction, imagerie, biomatériaux

Université de Lorraine, Faculté de Médecine,

CHRU de Nancy

UMR CNRS-UL 7365, Laboratoire d'Ingénierie Moléculaire et Physiopathologie Articulaire (IMoPA)

## 1.2 Diplômes et Titres Universitaires

### Thèse d'Université (2008) :

Ecole Doctorale Biologie, Santé, Environnement (BioSE), Université de Lorraine. Laboratoire de Mécanique et Ingénierie Cellulaire et

Tissulaire, LEMTA-UMR CNRS 7563 (Faculté de Médecine de Nancy). Sujet : « Multicouche de polyélectrolytes et cellules souches mésenchymateuses : deux acteurs complémentaires nécessaires à l'endothélialisation autologue de prothèses vasculaires synthétiques en PTFEe ». Directeur de thèse : Pr Patrick MENU.

**Prix de thèse Michel et Lydie WITTNER (Fondation pour la Recherche Médicale)**

**Diplôme d'Études Approfondies (2005) :**

Spécialité Bioingénierie-Biomatériaux. Université Henri Poincaré-Nancy 1. Laboratoire de Mécanique et Ingénierie Cellulaire et Tissulaire, LEMTA-UMR CNRS 7563 (Faculté de Médecine de Nancy). Sujet : « Comportement des cellules endothélialesensemencées sur du PTFEe modifié avec un film multicouche de polyélectrolytes ». Directeur : Pr Patrick MENU.  
**Mention Bien**

**Doctorat d'état de Chirurgie dentaire (2001) :**

Université Henri Poincaré-Nancy 1. Sujet : « Évaluation et prise en charge de l'anxiété lors des avulsions dentaires en odontologie pédiatrique ». Directeur de Thèse : Pr Catherine STRAZIELLE.

**Master 1 (2001) :**

Certificat de Maîtrise en Sciences Biologiques et Médicales (C1 de Biochimie générale, C2 de Physiologie orofaciale, C2 d'Embryologie crâniofaciale et du Développement), Université Henri Poincaré, Nancy 1.

### **1.3 Formation pratique hospitalière**

**Maître de Conférences des Universités – Praticien Hospitalier, CHRU de Nancy.**

Depuis le 1<sup>er</sup> octobre 2009

Service de Consultations et Traitements dentaires, CHRU

Brabois-Adultes, Vandœuvre-lès-Nancy (Pr Éric MORTIER)

### **Praticien Attaché.**

Octobre 2007-Septembre 2009 Service de Consultations et Traitements dentaires, CHRU Brabois-Adultes, Vandœuvre-lès-Nancy (Dr Claude ARCHIEN).

### **Assistant Hospitalo-universitaire.**

Octobre 2003-Septembre 2007 Service de Consultations et Traitements dentaires, CHRU Brabois-Adultes, Vandœuvre-lès-Nancy (Dr Claude ARCHIEN).

### **Attaché Universitaire.**

Janvier 2003-Septembre 2003 Service de Chirurgie Buccale, Centre de Soins de la Faculté d'Odontologie, Nancy (Dr Claude ARCHIEN).

### **Moniteur.**

Octobre 2002-Décembre 2002 Service de Chirurgie Buccale, Centre de Soins de la Faculté d'Odontologie, Nancy (Dr Claude ARCHIEN).

## **1.4 Formation par la recherche académique**

### **1.4.1 Attaché Temporaire d'Enseignement et de Recherche (Décembre 2008-Juillet 2009)**

Université de Lorraine-Laboratoire de Nutrition, Génétique et Exposition aux Risques Environnementaux (INSERM 954 - Directeur : Pr Jean-Louis GUEANT) - Équipe toxicologie (Responsable : Dr Luc FERRARI).

Thème traité : « *Évaluation d'un risque accru de lésions génotoxiques dans deux groupes de populations exposées : les éboueurs et les égoutiers Parisiens* ».

Techniques utilisées : formation à l'utilisation du logiciel (Komet 5) ; réalisation de tests des comètes (technique microélectrophorétique) et de tests des micronoyaux ; extraction et dosage des ADN.

#### **1.4.2 Post-doctorat (Mars 2008-Août 2008)**

Université de Lorraine-Laboratoire de Nutrition, Génétique et Exposition aux Risques Environnementaux (INSERM 954 - Directeur : Pr Jean-Louis GUEANT) – Équipe maladies neurodégénératives (Responsable : Pr Catherine STRAZIELLE).

Thème traité : « *Incidence des facteurs trophiques et particulièrement du NGF (Nerve Growth Factor) dans la survie des neurones cholinergiques* ». Ce projet de recherche sur la neuroplasticité cérébrale s'insérait dans le cadre d'études sur la physiopathologie des maladies neurodégénératives.

Techniques utilisées : immunohistochimie ; formation à l'utilisation du cryostat ; formation à la cartographie cérébrale, à l'utilisation du logiciel MCID d'analyse d'images ; morphométrie et quantification densitométrique.

#### **1.4.3 Thèse d'Université (2005-2008)**

Université Henri Poincaré-Nancy 1, Laboratoire de Mécanique et Ingénierie Cellulaire et Tissulaire (LEMETA-UMR CNRS 7563 – Directeur : Pr Jean-François STOLTZ) – Équipe vasculaire (Responsable : Pr Patrick MENU).

Thème traité : « *Multicouche de polyélectrolytes et cellules souches mésenchymateuses : deux acteurs complémentaires nécessaires à l'endothélialisation autologue de prothèses vasculaires synthétiques en PTFEe* ».

Techniques utilisées : culture cellulaire (cellules endothéliales, cellules souches mésenchymateuses) ; construction de films multicouche de polyélectrolytes sur la surface luminale de substituts vasculaires synthétiques ; analyses cellulaires (viabilité (test Alamar blue), dosage des nitrites), cytométrie en flux (analyse du cycle cellulaire et recherche de marqueurs cellulaires spécifiques) ; simulation de contraintes mécaniques dans des chambres à flux laminaire ; immunocytochimie ; microscopie confocale à balayage laser ; logiciel 20/20 de traitement des images en microscopie confocale ; microscopie électronique à balayage.

#### **1.4.4 DEA Bioingénierie-Biomatériaux (2004-2005)**

Université Henri Poincaré-Nancy 1, Laboratoire de Mécanique et Ingénierie Cellulaire et Tissulaire (LEMTA-UMR CNRS 7563 – Directeur : Pr Jean-François STOLTZ) – Équipe vasculaire (Responsable : Pr Patrick MENU).

Thème traité : « *Comportement des cellules endothélialesensemencées sur du PTFEe modifié avec un film multicouche de polyélectrolytes* ».

Techniques utilisées : Extraction de cellules endothéliales à partir de cordons ombilicaux humains, culture cellulaire (cellules endothéliales) ; construction de films multicouche de polyélectrolytes sur lames de verre ; cytométrie en flux (évaluation de la viabilité cellulaire, nécrose et apoptose, analyse du cycle cellulaire) ; analyse du métabolisme cellulaire.

#### **1.4.5 Master 1. Université Henri Poincaré-Nancy 1 (validé en 2001)**

##### **Certificats de Maîtrise des Sciences Biologiques et Médicales (1998-1999)**

Certificat de Biochimie Générale (C1, 1998)

Certificat d'Embryologie Crâniofaciale (C2, 1998)

Certificat de Physiologie Orofaciale (C2, 1999)

### **1.5 Diffusion scientifique**

#### **1.5.1 Expert dans des instances nationales**

Expert indépendant auprès de la commission de transparence du service d'évaluation des médicaments à la Haute Autorité de Santé : 2 dossiers expertisés (22/07/2020 ; 11/03/2020).

#### **1.5.2 Referee de journaux**

Depuis 2009 : Rapporteur d'articles scientifiques internationaux auprès de : Experimental and Therapeutic Medicine (23/11/2020), Experimental and Therapeutic Medicine (18/03/2020), International Journal of Molecular Medicine (23/09/2019), Journal of Orthopaedic Surgery and Research (09/12/2018), Journal Of Biomedical Materials Research A (25/09/2013), Biomaterials (22/04/2011), Tissue Engineering Part A (31/05/2010)

Rapporteur d'articles scientifiques nationaux auprès de: Biomatériaux Dentaires Cliniques (10/12/2020) Biomatériaux Dentaires Cliniques (23/02/2018).

#### **1.5.3 Expertise auprès de sociétés savantes**

Membre de sociétés savantes : Société Francophone des Biomatériaux Dentaires (depuis 2016), Association pour l'Etude et la Prévention de l'Endocardite Infectieuse (depuis 2020).

#### 1.5.4 Collaborations locales, nationales, internationales

Collaborations locales : Dr Franck Cleymand (Institut Jean Lamour, département Nanomatériaux, Électronique et Vivant (N2EV)), UMR 7198 CNRS-UL (Nancy, France) (obtention d'un financement PEPS Mirabelle 2016, 25keuros) ; Dr Laura Sanchez-Gonzalez, Dr Cyril Kahn, Pr Elmira Arab-Tehrany (Laboratoire d'Ingénierie des Biomolécules (LIBio), département E.A. 4367-UL (Nancy, France)) (obtention d'un financement PEPS Mirabelle 2016); Cédric Carteret (Laboratoire de Chimie Physique et Microbiologie pour l'Environnement (LCPME), UMR 7564 CNRS-UL (Nancy, France)) (obtention d'un financement PEPS Mirabelle 2016).

Collaboration nationale : Dr Jean-Pierre Attal (Laboratoire Unité de Recherches Biomatériaux Innovants et Interfaces, équipe de recherche UR4462 (mobilité)).

Collaboration internationale : Dr Stéphane Durual (Laboratoire de Biomatériaux, Clinique Universitaire de Médecine Dentaire, Université de Genève (demande de financement ANR)).

#### 1.5.5 Prix et distinction

Recherches récompensées par la remise de trois prix nationaux à Madame Anne-Sophie Willemin, doctorante sous ma co-direction pour l'originalité de son travail de thèse :

- **Prix de thèse (prix de recherche Michel et Lydie Wittner (Fondation pour la Recherche Médicale), novembre 2017).**
- Prix du meilleur flash poster (XVIIème Journées Françaises de Biologie des Tissus Minéralisés, février 2015, Super- Besse (France))
- Prix de la meilleure communication orale (Journée de la FR CNRS-UL 3209 BMCT, septembre 2014, Nancy (France)),

#### 1.5.6 Vulgarisation scientifique

Participation à la rédaction **d'un article de vulgarisation scientifique** sur le site d'information de l'Université de Lorraine (**Factuel**) intitulé : « Régénérer le tissu osseux grâce à la biologie cellulaire, les biomatériaux et l'étude des nanovésicules », et publié le 21 janvier 2015. Cet article permettait d'aborder le sujet de recherche qui avait fait l'objet de l'obtention d'un financement l'année précédente (PEPS Mirabelle 2014).

### 1.6 Bibliométrie (au 01/04/2021)

SIGAPS : 158

Citations : 362

Indice h : 11

## **2. ACTIVITÉS UNIVERSITAIRES ET HOSPITALIERES**

### **2.1 Présentation synthétique des activités d'enseignement et d'administration**

Mes activités d'enseignements sont réalisées dans le cadre de mes fonctions de Maître de Conférences des Universités – Praticien Hospitalier (MCU-PH) en Fonction-dysfonction/Imagerie/Biomatériaux (Sous-section CNU 58.01) au sein de la Faculté d'Odontologie de Nancy, Université de Lorraine. Ces enseignements sont principalement destinés aux étudiants du cursus médical depuis la PACES (Première Année Commune des Etudes de Santé) jusqu'au 3<sup>ème</sup> cycle des études en sciences odontologiques. S'y associent également des enseignements de Master (M2), des enseignements post-universitaires (formations des praticiens libéraux) ainsi que des enseignements dans des établissements extérieurs à la Faculté d'Odontologie (Faculté des Sciences, Faculté de Pharmacie).

Les principales thématiques enseignées sont l'anatomie dentaire et l'anatomie cranio-cervico-faciale, ainsi que l'imagerie.

Afin de satisfaire au mieux avec ces exigences d'enseignement, j'ai réalisé et obtenu en 2013 une attestation de formation en imagerie CBCT et suivi en 2018 et 2019 une formation approfondie de 4 modules en Imagerie CBCT à Bruxelles (Belgique).

Parallèlement, je me suis également impliquée dans la vie Facultaire en y exerçant diverses activités d'administration. Je suis ainsi à ce jour (et depuis 2013-2014) responsable de l'UE7 « Biophysique et techniques radiologiques » pour les étudiants de la DFGSO3, de l'UE4 « Examens complémentaires » pour les étudiants de la DFASO1 et co-responsable (depuis 2015-2016) de l'UE « Imagerie » pour les étudiants en T1 à la faculté d'Odontologie de Nancy. Je suis également représentante de la sous-section 58-01 (Fonction-dysfonction, Imagerie, Biomatériaux) au sein de la commission des thèses, au sein de la commission numérique et au sein de commission de la formation continue de la faculté d'Odontologie.

Par le passé, j'ai également été représentante de la Faculté au sein du Comité de la Recherche en Matière Biomédicale et Santé Publique (CRMBSP) en 2010, 2012 et 2013. Ce comité vise à favoriser les échanges entre le CHRU et l'Université, définir l'organisation, l'orientation et le financement de la recherche hospitalo-universitaire. En 2012, j'étais représentante de la faculté au sein de la Commission nationale d'étude de la refonte du niveau *master* des études en Odontologie, pour la partie recherche. En 2013, j'étais responsable de la mise en place de

la réforme de la section Fonction-dysfonction/Imagerie/Biomatériaux (ex-58-03) au sein de la DFASO1, qui visait à réorganiser les enseignements notamment par la mise en place d'enseignements transversaux. En 2019, j'ai participé au groupe de travail sur les évolutions pédagogiques pour faire évoluer le CSCT (Certificat de Synthèse Clinique et Thérapeutique) afin d'améliorer la transversalité de cet examen notamment en incluant de façon plus importante les disciplines fondamentales telles que les biomatériaux et l'imagerie à des disciplines plus cliniques telles que la dentisterie restauratrice et la chirurgie orale.

À ce jour, mon Score Individuel d'Aptitudes Pédagogiques en Santé (SIAPS) s'élève à 1513,68. Le détail de ces activités pédagogiques et d'enseignements figurent ci-après (Tableau 1) :



## 2.2 Activités d'enseignement universitaire (Tableau 2)

### Faculté d'Odontologie

- 2<sup>ème</sup> année** Histologie dentaire (CM/TP) (Responsable : Dr Westphal)
- UE9 Anatomie des dents définitives (Responsables : **Dr Moby**, Dr Jager) (ED)
- UE1 Anatomie cervico-faciale (Responsable : Pr Strazielle) (CM/ED) : *La cavité orale, les régions rétro-molaires, les cavités sinusiennes, nasales et orbitaires. Ostéologie des os du crâne et de la face.*
- 3<sup>ème</sup> année** UE7 Biophysique et techniques radiologiques (Responsable : **Dr Moby**). *Imagerie médicale et médecine nucléaire, radioanatomie et techniques d'imagerie* (CM)
- 4<sup>ème</sup> année** UE4 Examens complémentaires (Responsable : **Dr Moby**). *Imagerie des ATM* (CM)
- Optionnel Anatomie cervico-faciale (Responsable : Dr Bravetti). *Dissection et mise en évidence des différents constituants de la zone cervico-faciale* (ED)
- UE2 Initiation à la recherche (Responsable : Dr Clément). *Méthodologie de la recherche expérimentale et clinique* (CM/ED)
- 6<sup>ème</sup> année** UE Imagerie (Responsables : **Dr Moby**, Dr Joseph). *Principes physiques, techniques d'acquisition, et apport de la tomographie volumique à faisceau conique en imagerie dento-maxillaire* (CM)
- M1** « Éthique de la Santé et Médecine légale (Responsables : Pr Janot, Dr Bravetti). *Anatomie dentaire et ostéologie* (CM)

### Faculté de Médecine

- PACES** UE spécifique Médecine « anatomie tête et cou » (Responsable : Pr Braun). *Anatomie de la cavité orale* (CM)
- 4<sup>ème</sup> année** UE 7.32 « Biomatériaux et Biocompatibilité » Master ISSM (Ingénierie de la Santé et Sciences du Médicament), M1 BIM (BioIngénierie et Médicaments) (Responsables : Pr Mainard, Dr Bravetti). *La biocompatibilité des biomatériaux* (CM)

### Faculté de Pharmacie

- 3<sup>ème</sup> année** Toxicologie (Responsable : Pr Ferrari) (ED/TP)
- 5<sup>ème</sup> année** UE 9.33 « Ingénierie Tissulaire et Remodelage » Master ISSM (Ingénierie de la Santé et Sciences du Médicament), M2 BIMC (BioIngénierie, Médicament et Ciblage) (Responsable : Pr Menu) *Angiogenèse et contraintes mécaniques* (CM)

## Faculté des Sciences

**3<sup>ème</sup> année** Licence professionnelle Matériaux pour la Santé (Responsable : Pr Rapin) :  
*Méthodes biologiques et biochimiques de caractérisation des biomatériaux, Tests de biocompatibilité (CM/ED)*

**4<sup>ème</sup> année** M1R "Biotechnologies-Agro-ressources-Aliment-Nutrition" (Responsable : Pr Ferrari) UE toxicologie (CM/ED)

Faculté	Année	2003-2007	2008-2009	2009-2011	2011-2013	2013-2018	2018-2020
Faculté d'Odontologie	2 <sup>ème</sup> année	CM 30h TP 24h	0h	ED 48h CM 8h	ED 48h CM 8h	ED 48h CM 8h	ED 42h CM 6h
	3 <sup>ème</sup> année	0h	0h	CM 6h	CM 6h	CM 6h ED 36h	7h ED 30h
	4 <sup>ème</sup> année	ED 32h	CM 8h	8h	8h	8h	7h
	6 <sup>ème</sup> année	0h	0h	0h	0h	1h	1h
	M1	0h	0h	CM 6h	0h	0h	0h
Faculté de Pharmacie	3 <sup>ème</sup> année	0h	TD 20h TP 60h	0h	0h	0h	0h
	M2	0h	0h	CM 3h	CM 3h	CM 2h	0h
Faculté des Sciences	3 <sup>ème</sup> année	0h	0h	CM 6h ED 3h	0h	0h	0h
	4 <sup>ème</sup> année	0h	CM 26h ED 5h	0h	0h	0h	0h
Faculté de Médecine	PACES	0h	0h	0h	3h	3h	3h
	M1	0h	0h	CM 3h	0h	0h	0h
Total							

**Tableau 2 : Enseignement universitaire depuis 2003**

## Université de Lorraine

- Participation à l'élaboration d'un **MOOC** « La cellule a du génie » en 2018 (Responsable : Pr Decot).

Sujet : L'ingénierie cellulaire et plus globalement la médecine régénérative permettent de restaurer certaines fonctions humaines perdues ou dégradées en raison de l'âge, de la maladie ou des accidents de la vie. Ce MOOC a réuni plusieurs enseignants-chercheurs et praticiens hospitaliers lorrains impliqués dans des programmes de recherche et de thérapie cellulaire.

Ce MOOC m'a permis de communiquer avec simplicité et pédagogie les notions fondamentales, les applications, les enjeux et les perspectives de la thérapie cellulaire à des étudiants et à la société civile, en décrivant notamment l'utilisation des cellules souches en ingénierie tissulaire et plus particulièrement leurs différents domaines d'application.

## **2.3 Activités d'encadrement universitaire**

### **Monitorat d'anatomie dentaire**

J'ai mis en place en 2014 un monitorat d'anatomie dentaire afin de permettre aux étudiants de DFGSO3 de développer leur sens de l'observation et leur aptitude manuelle mais surtout d'acquérir des compétences pédagogiques grâce au tutorat. Les étudiants ayant choisi cet optionnel co-encadrent sous ma responsabilité les étudiants de DFGSO2 aux cours des enseignements dirigés en anatomie dentaire. Ils doivent ensuite réaliser et soutenir individuellement ou en groupe une présentation orale portant sur un sujet d'anatomie dentaire librement choisi par l'étudiant. Cet exposé est réalisé devant un jury composé de deux enseignants en dentisterie restauratrice et devant l'ensemble des moniteurs.

### **Service sanitaire**

Je suis référente dans le cadre de l'établissement du service sanitaire depuis 2019. Le service sanitaire, que j'ai mis en place, vise par une étroite collaboration entre des étudiants de quatrième année de la faculté d'Odontologie et des étudiants de troisième année de la faculté de Médecine de Nancy à enseigner les bonnes pratiques d'hygiène buccodentaire, et à sensibiliser la population sur la nécessité du maintien d'un état bucco-dentaire optimal pour conserver une bonne santé cardiovasculaire. Ce service sanitaire s'adresse notamment à des sportifs de haut niveau, des adolescents mais également des personnes âgées et des familles. Ce service sanitaire multidisciplinaire devait être étendu en 2020 à des étudiants de la faculté de Pharmacie de Nancy afin de réunir trois composantes universitaires.

### **Thèses**

Au cours de ma carrière universitaire, j'ai eu la chance d'encadrer ou co-encadrer onze thèses d'exercice dont certaines ont donné lieu à des communications ou prix (Tableau 3).

J'encadre actuellement 6 thèses d'exercice.

Année	Étudiant	Sujet	Co-encadrement	Présentation orale	Prix
2009-2011	BOUDHRAA Wissem	Contribution à l'étude de la posture céphalique dans la physiologie et physiopathologie de l'appareil manducateur			
2012-2014	FANJEAUX Nicolas	Endocardite infectieuse d'origine dentaire : mythes et réalités		1	
2012-2014	BOLMONT Florian	Approche financière et fiscale, gestion des ressources humaines dans un cabinet dentaire libéral		1	2
2013-2015	ZARATE Julien	Avènement et évolution de la radiologie en Odontologie de la fin du XIXème siècle à aujourd'hui			
2014-2016	DEWILDE Marie	La tomographie à faisceau conique en imagerie dento-maxillo-faciale. Indications et stratégie de prescription face aux autres techniques d'imagerie sectionnelle			
2014-2016	SCHLOSSER Alexandre	Etude du lien entre dentisterie et oreille à travers une innovation dans le traitement de la surdité : le système Soundbite			
2014-2017	DEWAELE Thomas	Les leucémies de l'adulte : rôle du chirurgien-dentiste dans le diagnostic précoce et dans la prise en charge des patients			
2014-2017	FRANIATTE Guillaume	Les cellules souches/stromales mésenchymateuses issues du ligament parodontal, <i>a gold alternative</i> en médecine régénérative ?			
2017-2019	BEURRIER Agathe	La kinésiologie, une approche novatrice dans la prise en charge des pathologies de l'appareil manducateur ?			
2018-2020	GODET Cécile	Prévenir, diagnostiquer et traiter les lésions nerveuses iatrogènes en Odontologie : un challenge pour le chirurgien-dentiste			
2019-2020	BLANKE Marine	La troisième molaire maxillaire incluse : prise en charge face à la projection dans le sinus maxillaire ou la fosse infra-temporale	Dr Cédric SECKINGER		

**Tableau 3 : Directions de thèse en vue de l'obtention du Diplôme d'Etat de Docteur en Chirurgie Dentaire avec valorisation scientifique**

### **Valorisation du travail des étudiants encadrés**

**Florian BOLMONT** (Étudiant en Thèse d'exercice) : Prix de l'Académie Nationale de chirurgie Dentaire et prix de la MACSF pour son travail de Thèse (octobre 2014)

**Nicolas FANJEAUX** (Étudiant en Thèse d'exercice) : Présentation orale lors de la journée des Thésards de la faculté d'Odontologie de Nancy (février 2015)

## 2.4 Jury de Thèse d'exercice

Année Universitaire	Nom/Prénom	Niveau d'étude	Sujet
2009-2010	MIDON Héloïse	Diplôme d'état de docteur en chirurgie dentaire	Evaluation critique d'un système de prise en charge de la santé bucco-dentaire chez les personnes âgées dépendantes des EHPAD de la région de Nancy
2009-2010	CIRRE Christian	Diplôme d'état de docteur en chirurgie dentaire	L'installation radiologique en cabinet dentaire : choix et performances
2010-2011	GUYOT Mélanie	Diplôme d'état de docteur en chirurgie dentaire	Choix du récepteur en radiologie dentaire : enquête réalisée auprès d'une population de chirurgiens-dentistes de l'est de la France
2010-2011	BENHAMMOU Brice Paul	Diplôme d'état de docteur en chirurgie dentaire	Les médicaments de la personne âgée : contribution à l'étude de leurs effets secondaires sur la cavité orale
2011-2012	FOURRIER Thomas	Diplôme d'état de docteur en chirurgie dentaire	Les douleurs myofasciales de la région maxillo-faciale
2011-2012	CAMELOT Frédéric	Diplôme d'état de docteur en chirurgie dentaire	Le risque psychosocial en Odontologie : enquête parmi les chirurgiens-dentistes de l'est de la France
2011-2012	GEORGES Dany	Diplôme d'état de docteur en chirurgie dentaire	Pathologies générales et salive
2012-2013	SCHONG Théo	Diplôme d'état de docteur en chirurgie dentaire	Un programme de santé bucco-dentaire dans une population d'adultes polyhandicapés de la région Lorraine : résultats, points forts, limites
2013-2014	WERGUET Manon	Diplôme d'état de docteur en chirurgie dentaire	Les érosions dentaires : données actuelles
2013-2014	ASSILI Sonia	Diplôme d'état de docteur en chirurgie dentaire	Une dentisterie à bas prix : le tourisme dentaire et la tendance <i>low cost</i>
2014-2015	FLEURENTIN Julia	Diplôme d'état de docteur en chirurgie dentaire	Ingénierie tissulaire et cellules souches pulpaire
2015-2016	BOURDARIE Alexis	Diplôme d'état de docteur en chirurgie dentaire	Prévention et gestion du risque hémorragique de l'artère alvéolo-antrale lors de la chirurgie du sinus maxillaire
2016-2017	LAPIQUE Alexandre	Diplôme d'état de docteur en chirurgie dentaire	Ayurveda et santé orale
2018-2019	ANDRE Antoine	Diplôme d'état de docteur en chirurgie dentaire	La pigmentation gingivale physiologique : prise en charge de la demande esthétique
2018-2019	MARCUS Laure	Diplôme d'état de docteur en chirurgie dentaire	Régénération d'un organe dentaire entier et fonctionnel par bio-ingénierie
2019-2020	HERTZOG Margot	Diplôme d'état de docteur en chirurgie dentaire	Rôle de l'Odontologiste dans l'identification et le traitement des troubles du sommeil
2019-2020	THIVAT Cyril	Diplôme d'état de docteur en chirurgie dentaire	Prise en charge actuelle des patients souffrant de paresthésies buccales psychogènes ou <i>burning mouth syndrome</i>
2019-2020	RAVEL Valentin	Diplôme d'état de docteur en chirurgie dentaire	L'alvéolite postextractionnelle : fréquence et facteurs de risque mis en évidence dans le service d'Odontologie du CHRU de Nancy

2019-2020	HASSAN Mathilde	Diplôme d'état de docteur en chirurgie dentaire	Thérapeutiques alternatives au traitement initial conventionnel des parodontites
2019-2020	REHN Léa	Diplôme d'état de docteur en chirurgie dentaire	La dentine comme matériau de comblement : données actuelles
2019-2020	RECCHI Bryan	Diplôme d'état de docteur en chirurgie dentaire	Intérêt des lasers pour les actes chirurgicaux en endodontie
2020-2021	PIZZIGONI Lise	Diplôme d'état de docteur en chirurgie dentaire	La chromothérapie : une technique de gestion de l'anxiété non médicamenteuse au cabinet dentaire
2020-2021	PERNOT Marion	Diplôme d'état de docteur en chirurgie dentaire	Implication des parodontites dans la maladie d'Alzheimer
2020-2021	ASSILI Zineb	Diplôme d'état de docteur en chirurgie dentaire	Etude rétrospective comparant les aspects cliniques et radiologiques de l'ostéochimionécrose des maxillaires induite par le Dénozumab
2020-2021	BEL Baptiste	Diplôme d'état de docteur en chirurgie dentaire	Planches anatomiques : sutures et incisions
2020-2021	VARNIER Julie	Diplôme d'état de docteur en Pharmacie	Biomatériaux innovants fonctionnalisés en médecine régénératrice : application au domaine de la régénération pulpo-dentinaire

Tableau 4 : Jury de thèse d'exercice en tant qu'examinateur

## 2.5 Responsabilités Universitaires et investissement en pédagogie

### Commissions Universitaires

**Commission numérique.** Représentante de la section Fonction-dysfonction/Imagerie/Biomatériaux au sein de la commission numérique de la Faculté d'Odontologie depuis 2009.

Objectif : elle vise à favoriser l'utilisation et le développement des outils numériques. Elle permet de relayer au sein de la faculté les informations relatives à la tenue de congrès numériques, aux propositions de formations à l'utilisation des outils numériques. Elle constitue également un soutien dans la mise en place de projets de pédagogie innovante.

**Commission des thèses.** Représentante de la section Fonction-dysfonction/Imagerie/Biomatériaux au sein de la commission des thèses de la Faculté d'Odontologie depuis 2009.

Objectif : expertiser et valider les sujets de thèse déposés pour le diplôme d'état de docteur en chirurgie dentaire.

**Commission de la formation continue.** Représentante de la section Fonction-dysfonction/Imagerie/Biomatériaux au sein de la commission de la formation continue de la Faculté d'Odontologie depuis 2015.

Objectif : mise en place de programmes de formations universitaires (DU, DIU, CES) et de formation continue à l'attention des professionnels.

### **Autres responsabilités universitaires**

#### ***ECOS***

Référente ECOS (Examens Cliniques Organisés et Structurés) en DFASO2 pour la section Fonction-dysfonction/Imagerie/Biomatériaux depuis 2017.

#### ***Comité de la Recherche en Matière Biomédicale et Santé Publique***

Représentante de la Faculté au sein du Comité de la Recherche en Matière Biomédicale et Santé Publique (CRMBSP) en 2010, 2012 et 2013. Ce comité vise à favoriser les échanges entre le CHRU et l'Université, définir l'organisation, l'orientation et le financement de la recherche hospitalo-universitaire.

#### ***Commission nationale d'étude de la refonte du niveau master***

Représentante de la faculté au sein de la Commission nationale d'étude de la refonte du niveau *master* des études en Odontologie, pour la partie recherche, en 2012.

#### ***Réforme de la DFASO1***

Responsable de la mise en place en 2013 de la réforme de la section Fonction-dysfonction/Imagerie/Biomatériaux (ex-58-03) au sein de la DFASO1, qui visait à la réorganisation des enseignements passant notamment par la mise en place d'enseignements transversaux.

#### ***Groupe de travail sur les évolutions pédagogiques***

Participation en 2019 au groupe de travail visant à faire évoluer le CSCT (Certificat de Synthèse Clinique et Thérapeutique) afin d'améliorer la transversalité de cet examen notamment en incluant de façon plus importante les disciplines fondamentales telles que les biomatériaux et l'imagerie à des disciplines plus cliniques telles que la dentisterie restauratrice et la chirurgie orale.

#### ***Collège des enseignants Fonction-dysfonction/Imagerie/Biomatériaux***

Je suis secrétaire du collège des enseignants FIB (Fonction-dysfonction/Imagerie/Biomatériaux) depuis 2012.

## Investissements en pédagogie

### *Formation continue*

J'ai créé en 2017 une formation continue validante en *Cone Beam Computed Tomography*, à l'usage des praticiens libéraux. Cette journée de formation fait participer un enseignant de chaque département de la faculté d'Odontologie et un radiologue libéral. Elle a pour objectif de fournir aux praticiens des clés pour une meilleure connaissance des indications de prescription et un décryptage précis de ces examens.

### *Certification SIDES*

Titulaire de la certification SIDES (avril 2020).

### *Service sanitaire*

J'ai suivi en 2019 la formation intitulée « intervenir en éducation pour la santé dans le cadre du service sanitaire » afin de devenir référente pour le service sanitaire.

### *Formations pédagogiques*

Participation en 2020 à trois formations pédagogiques organisées par le SU2IP (Service Universitaire d'Ingénierie et d'Innovation Pédagogique) : relookez votre support de cours (06/02/2020), techniques d'animation de groupes (02-03/03/2020), le dessin pour gagner en attention (12/03/2020)

## **2.6 Activités d'encadrement hospitalières**

**Externes 6<sup>ème</sup> année** Présentation quotidienne des patients au sein du service de consultations et de traitements dentaires du CHRU Nancy (depuis 2013/2014)

**Internes**

Formation à la prise en charge odontologique des patients hospitalisés et externes

Mon activité clinique consiste à aider les étudiants dans la prise en charge et le traitement des patients hospitalisés. Nous devons déterminer ensemble le plan de traitement de ces patients qui sont souvent atteints de pathologies lourdes au niveau général, nécessitant un état bucco-dentaire irréprochable : patients à risque d'endocardite infectieuse, patients greffés, patients immunodéprimés, patients ayant des troubles de la coagulation, principalement. Les soins sont également réalisés sur des patients externes. J'interviens également dans le contrôle et la validation des actes effectués, le contrôle et la validation d'éventuelles prescriptions

médicamenteuses ou d'examens complémentaires ainsi que dans l'analyse de ces examens, le contrôle et la validation des dossiers administratifs.

## **2.7 Expertise Clinique**

J'ai été sollicitée par la commission de transparence du service d'évaluation des médicaments à la HAS en 2020 pour deux expertises indépendantes, visant à évaluer l'efficacité d'un médicament, sa place dans la stratégie thérapeutique et sa nécessité de remboursement : gel gingival Xogel® et solution pour bain de bouche Adontex®.

J'ai créé en janvier 2019, au sein du service d'Odontologie du CHRU de Nancy, une consultation de prise en charge des patients atteints de Syndrome d'Apnée-Hypopnée Obstructive du Sommeil (SAHOS) et/ou de ronchopathie. Cette consultation a été mise en place dans le cadre d'une prise en charge pluridisciplinaire de ces patients avec le service d'ORL, de neurologie et de pneumologie du CHRU de Nancy mais également avec le centre CEREVES (centre du sommeil de Nancy). La mise en place de cette consultation a permis de répondre à une demande de la part des prescripteurs et des patients ; ces derniers ne pouvant bénéficier jusqu'à cette date de prise en charge par un chirurgien-dentiste hospitalier spécialisé dans le traitement de ce syndrome.

## **3. PRESENTATION SYNTHETIQUE DES ACTIVITES DE RECHERCHE**

Mes activités de recherche se répartissent en une recherche fondamentale et une recherche clinique. La recherche fondamentale s'effectue actuellement au sein de l'équipe BioReMaTch « *Bio-engineering, Regenerative Medicine and Tissue Characterization* », UMR CNRS-UL 7365 dans l'Unité de Recherche Ingénierie Moléculaire et Physiopathologie Articulaire (IMoPA), actuellement dirigé par le Pr Jean-Yves Jouzeau.

La recherche clinique s'effectue dans le cadre de mes fonctions hospitalières, au sein du Service d'Odontologie du CHRU de NANCY, dont le chef de service actuel est le Pr Eric Mortier.

### **3.1 Recherche fondamentale :**

#### **3.1.1 Master II recherche (DEA) et Thèse d'Université**

J'ai réalisé mes travaux de Master II Recherche puis de Thèse d'Université dans l'Unité de Recherche en mécanique et ingénierie cellulaire et tissulaire de l'UMR-CNRS 7563 (LEMETA, Université Henri Poincaré de Nancy, Directeur : Pr Jean- François Stoltz), au sein de l'équipe ingénierie vasculaire (directeur : Pr Patrick Menu). Mon travail de recherche a été effectué en

collaboration avec l'unité INSERM 595 (Dr Jean-Claude Voegel, Faculté d'Odontologie, Strasbourg).

Mes travaux de recherche visaient à élaborer une nouvelle matrice vasculaire biosynthétique antithrombogénique.

### *Introduction*

Les pathologies des vaisseaux sanguins, principalement celles des artères de faible diamètre ( $\leq 6$  mm), constituent une des principales causes de mortalité dans les pays occidentaux. Le remplacement des artères est maintenant un traitement courant des pathologies vasculaires. Cependant, environ un tiers des patients n'ont pas de vaisseaux potentiellement utilisables du fait de pathologies vasculaires préexistantes, ou d'un pontage antérieur. De plus, le prélèvement des greffons autologues est associé à des coûts chirurgicaux et une morbidité importants.

Tous ces facteurs contribuent à un **besoin clinique important d'un greffon vasculaire de petit diamètre, fonctionnel**, et facilement disponible.

Du fait du manque de vaisseaux autologues convenables, les chirurgiens se sont tournés vers les matériaux synthétiques tels que le polyéthylène téréphtalate (Dacron<sup>®</sup>) et le polytétrafluoroéthylène expansé (PTFEE). Cependant, ces matériaux, utilisés avec succès pour le remplacement de vaisseaux d'un diamètre supérieur à 6 mm, sont marqués par une faible efficacité pour le remplacement de vaisseaux de plus petit diamètre. On s'accorde à penser que l'ingénierie tissulaire offre le potentiel de fournir des vaisseaux qui pourraient être utilisés pour remplacer les vaisseaux sanguins natifs malades ou endommagés (1).

Le greffon vasculaire idéal doit avoir une surface luminale non thrombogénique, inhiber la prolifération des cellules musculaires lisses, être biocompatible, avoir une résistance mécanique importante tout en ayant une flexibilité comparable à celle de l'artère native.

Pour répondre à ce cahier des charges, l'**endothélialisation des prothèses synthétiques** a été proposée car la surface endothéliale a des fonctions majeures dont celle de prévenir *in vivo* la thrombose.

Les cellules les plus couramment utilisées dans les procédures d'endothélialisation sont des cellules endothéliales (CE) provenant de veines, notamment la veine saphène autologue du patient. Mais ces cellules matures présentant un grand nombre d'inconvénients, **il fut**

## **intéressant de recourir à un autre type de cellules autologues au cours de mes travaux de recherche : les cellules souches mésenchymateuses (CSM).**

L'un des écueils de la cellularisation des greffons vasculaires est la faible adhérence des cellules. Pour améliorer cette adhérence et la rétention cellulaire, une nouvelle voie de recherche a été développée. Il s'agit de la formation de films multicouches de polyélectrolytes. C'est une méthode efficace de modification contrôlée de la surface, que nous avons adaptée pour favoriser cette adhérence cellulaire (2).

Un des assemblages de polyélectrolytes le plus étudié dans la construction des multicouches est sans doute le couple PAH (chlorhydrate de poly (allylamine), polycation) et PSS (poly (4-styrène sulfonate de sodium), polyanion). Les films PSS/PAH présentent une très bonne biocompatibilité pour les CE (3). Leur intérêt comme modification de surface avait déjà été démontrée avec les prothèses vasculaires biologiques (4) **mais pas sur les substituts synthétiques à base de PTFEe.**

### *Objectif*

Notre projet visait à concevoir une prothèse vasculaire cellularisée antithrombogénique originale, issue de l'ingénierie tissulaire, composée d'une matrice synthétique PTFEe fonctionnalisée par un film multicouche de polyélectrolytes (FMP), et cellularisée. Cette cellularisation pouvait se faire selon deux origines autologues : CE ou de CSM humaines, soumises à l'action de facteurs biochimiques (comme VEGF (*Vascular Endothelial Growth Factor*)) ou facteurs mécaniques (contraintes de cisaillement).

### *Résultats*

Dans une première étape, j'ai adapté à notre substitut synthétique en PTFEe un système d'endothélialisation sur lames de verre (développé au cours du Master II Recherche) afin de développer une prothèse hémocompatible, et j'ai confirmé, par une étude qualitative en microscopie confocale, la faisabilité de la fonctionnalisation de ce substitut par un film multicouche de polyélectrolytes. J'ai mis en évidence, en effet, la présence d'un recouvrement total et homogène de la surface luminale de ce substitut, sans altération visible de la microstructure typique du matériau, cette dernière ayant conservé son aspect régulier à base de nœuds et de fibrilles.

Dans une deuxième étape, j'ai montré que le film multicouche de polyélectrolytes permettait d'obtenir, avec les deux types cellulaires (cellules primaires (CE et CSM)), la formation d'une monocouche sur un substitut initialement peu favorable à l'adhésion cellulaire. L'obtention d'une monocouche confluente de CE a été obtenue avec une densité initiale d'ensemencement peu élevée ( $5 \times 10^4$  cellules/cm<sup>2</sup>) et un temps de culture d'une semaine seulement (5). L'importance quantitative de ces paramètres étant relativement faible, cela répond aux impératifs de l'application clinique qui recommandent qu'ils soient minorés le plus possible.

La présence d'un film multicouche de polyélectrolytes sur le substitut vasculaire en PTFEe a permis de développer une monocouche de CE pavimenteuses et de CSM fusiformes. Des morphologies identiques à celles retrouvées sur un substrat de référence, TCPS (*Tissue Culture Polystyrene Surface*), m'ont permis de confirmer que mon protocole permettait d'obtenir une adhésion cellulaire efficace. Or, l'adhérence des cellules au substrat permet d'évaluer l'affinité d'un matériau pour les cellules (6). Ceci montrait donc que le PTFEe modifié par un film multicouche de polyélectrolytes présentait une très bonne affinité vis-à-vis des deux types cellulaires étudiés. **Cette étude était, à notre connaissance, la première à montrer le bon comportement prolifératif et adhésif des CSM sur du PTFEe.**

D'autres informations importantes ressortaient également de mes études. Nous avons utilisé deux types de films multicouches : le film PEI-(PSS-PAH)<sub>3</sub> et le film PAH-(PSS-PAH)<sub>3</sub>. L'utilisation du film PEI-(PSS-PAH)<sub>3</sub>, bien qu'il ait favorisé le développement de CE confluentes, semblait peu favorable à celui des CSM. Par contre, le film PAH-(PSS-PAH)<sub>3</sub> avait amélioré considérablement la prolifération des CSM sur le PTFEe (7). Nous pensons donc que ce type de film serait davantage propice au développement cellulaire et donc à la cellularisation du substitut synthétique (gain de temps pour l'obtention d'une monocouche confluente).

Dans une troisième étape, nous avons étudié quantitativement et qualitativement, le comportement des CSM en présence de stimulations biochimiques ou mécaniques. Concernant la qualité des films, nous avons montré, par l'étude du comportement des CSM en présence d'une stimulation biochimique, à savoir VEGF, que le film multicouche de polyélectrolytes a un effet potentialisateur sur l'évolution des CSM en cellules ayant des caractéristiques à la fois phénotypiques (expression de *von Willebrand Factor* (vWF) et *Platelet Endothelial Cell Adhesion Molecule* (PECAM)) et fonctionnelles (production de *Nitric Oxide* (NO)) de CE. En effet, nous avons mis en évidence d'une part, par cytométrie en flux, une augmentation de

l'intensité relative de fluorescence de PECAM et vWF qui sont des marqueurs spécifiques des CE, et d'autre part, par microscopie confocale, une discrète apparition de PECAM (8). Les cellules à caractéristiques phénotypiques endothéliales, que nous avons obtenues sur ce film, sont fonctionnelles, car nous avons constaté qu'elles produisaient du NO en quantité significative, ce qui signifierait la capacité relaxatrice des cellules (9,10).

### *Perspectives*

Ces résultats encourageants ont ouvert de très larges perspectives concernant la modification de surface de biomatériaux synthétiques par un film multicouche de polyélectrolytes et la différenciation de CSM (**Brevet, 2007**). Et finalement, pour aller plus loin dans les domaines d'étude de l'ingénierie tissulaire, nous pourrions envisager d'appliquer ce modèle à d'autres secteurs médicaux et notamment dentaires. Ces films pourraient constituer un apport supplémentaire dans la réparation des défauts osseux maxillaires ou muqueux.

**Ce travail de recherche de quatre années a permis la publication de six articles internationaux, le dépôt d'un brevet et l'encadrement d'un mémoire SIR.**

**Brevet Français :** « Procédé de prolifération de cellules sur des multicouches de polyélectrolytes et son application, notamment à la préparation de biomatériaux cellularisés». **Inventeurs :** Menu P, Kerdjoudj H, Boura C, **Moby V**, Berthelemy N, Voegel JC, Schaaf P, Stoltz JF. **Date de dépôt :** 18 juin 2007. **Référence :** 07/04313.

### **3.1.2 Stage de recherche postdoctoral : répartition et quantification du NGF dans le cerveau antérieur de souris transgéniques APP23 (modèle de la maladie d'Alzheimer)**

J'ai effectué un stage de recherche postdoctoral dans le groupe de recherche du Professeur Catherine Strazielle au sein de l'Unité de Recherche "Nutrition-Génétique et Exposition aux Risques Environnementaux" (Unité INSERM U954 Nancy, directeur : Pr. Jean-Louis Guéant). Ce sujet de recherche nous a permis de revenir à nos premières aspirations dans le domaine de la recherche à savoir la physiologie nerveuse. En effet, notre thèse d'exercice portait sur un protocole de recherche clinique d'évaluation et de prise en charge de la douleur au cours des avulsions dentaires chez l'enfant.

Ce groupe travaillait sur l'incidence du facteur nutritionnel et plus particulièrement le statut en vitamines du groupe B sur le vieillissement physiologique et pathologique du système nerveux central.

Mon projet de recherche visait à déterminer la répartition du NGF (*Nerve Growth Factor*) dans le cerveau antérieur de souris transgéniques APP23 (modèle de la maladie d'Alzheimer) et à en effectuer la quantification.

### *Introduction*

Les facteurs neurotrophiques sont des éléments-clés de la régulation non seulement pour le développement, la maintenance et la survie mais aussi la cognition, la formation et le stockage de la mémoire. Chez les patients atteints de la maladie d'Alzheimer, les facteurs neurotrophiques sont dérégulés et du fait de l'altération du transport axonal, ils sont inégalement distribués. Le noyau basal de Meynert (région Ch4), noyau responsable de l'innervation cholinergique du cortex cérébral dégénère dans la maladie d'Alzheimer. Toutefois, la perte cellulaire semble apparaître dans les derniers stades de la maladie, postérieure et rétrograde à la perte des fibres cholinergiques terminales du cortex cérébral. Certains auteurs supposent que le NGF et la présence de récepteurs sur la majorité des cellules cholinergiques de Ch4, seraient responsables de la survie cellulaire.

### *Objectifs*

Les objectifs de mon travail de recherche ont été d'évaluer l'incidence des facteurs trophiques et particulièrement du NGF dans la survie des neurones cholinergiques, en étudiant la **répartition et la quantification du NGF dans le cerveau antérieur** de souris APP23 (modèle de la Maladie d'Alzheimer) et de souris contrôles. Les souris APP23 (Novartis, Bâle), modèle de la maladie d'Alzheimer, présentent des plaques amyloïdes, une perte partielle (10%) des cellules pyramidales de l'hippocampe ainsi qu'un déficit des fonctions d'apprentissage. L'hypothèse étant qu'un déficit en NGF est un des facteurs impliqués dans l'étiologie des formes sporadiques de la maladie d'Alzheimer.

### *Résultats*

Les études immunohistochimiques réalisées sur des coupes de cerveau ont mises en évidence une diminution du marquage de NGF au niveau de l'hippocampe (dental gyrus, couche moléculaire, CA1) et du cortex cérébral chez ce modèle de souris, ce qui confortait notre hypothèse.

### 3.1.3 ATER : évaluation d'un risque accru de lésions génotoxiques dans deux groupes de populations exposées : les éboueurs et les égoutiers Parisiens

Grâce à un poste d'attaché temporaire d'enseignement et de recherche (ATER) en toxicologie, j'ai continué à effectuer des travaux de recherche dans la même unité INSERM 954 qu'au cours de mon stage de recherche postdoctoral mais sur une thématique différente au sein de l'équipe de recherche en toxicologie (responsable : Professeur Luc Ferrari).

J'ai été intégrée dans un des projets en cours qui consistait en l'évaluation d'un risque accru de lésions génotoxiques dans deux groupes de populations exposées : les éboueurs et les égoutiers Parisiens. Ce projet de recherche faisait partie du projet BEEC (Biomarqueurs d'Evaluation d'une Exposition Complexe). Il concernait la recherche d'une association entre des marqueurs biologiques simples, précoces, non invasifs et l'exposition à des cocktails de toxiques indéfinis ayant des propriétés génotoxiques.

#### *Objectifs*

L'objectif de mon travail de recherche était de mettre en évidence un risque accru de lésions génotoxiques évocatrices d'un risque de cancer dans ces deux groupes de population (éboueurs et égoutiers) par rapport à la population non exposée (personnel municipal) et d'évaluer les effets précoces d'une exposition à des agents génotoxiques

#### *Protocole de recherche*

Mon implication dans le projet a consisté à réaliser des tests des comètes sur les urines de ces groupes de populations. Le test des comètes (*Single Cell Gel Electrophoresis*) est une technique microélectrophorétique rapide et sensible mettant en évidence les cassures de l'ADN et donc la présence de substances mutagènes excrétées dans les urines.

Des cellules Hela, maintenues en suspension, étaient mises en contact avec les échantillons pendant 24 heures. La suspension cellulaire était ensuite incluse dans une gélose solidifiée sur une lame de microscope et lysée pendant une heure à l'obscurité. Une électrophorèse était ensuite réalisée. Les lames étaient recouvertes d'une solution de bromure d'éthidium puis d'une lamelle et observées en microscopie à fluorescence ( $\lambda_{excitation} = 510-550nm$ ). Les noyaux cellulaires fluorescents étaient marqués en rouge-orangé. Cinquante noyaux ont été analysés sur deux lames (logiciel SAS (Sas Inc, Version 8.02)). L'évaluation quantitative des dommages de l'ADN se fait par la mesure de la longueur de la comète et des pourcentages de l'ADN dans la queue ou dans la tête. L'étude a été poursuivie à la fin de mon contrat par un doctorant.

### 3.1.4 Travaux de recherche fondamentale depuis l'obtention du poste de MCU-PH :

#### 3.1.4.1 Unité INSERM U954 : Incidence de la vascularisation cérébrale sur la pathogénie des maladies neurodégénératives

Suite à l'obtention de notre poste de MCU-PH en octobre 2009, j'ai intégré le groupe de recherche (Pr Catherine Strazielle) de l'Unité de Recherche "Nutrition-Génétique et Exposition aux Risques Environnementaux" (Unité INSERM U954 Nancy, responsable : Pr Jean-Louis Guéant).

Afin de combiner les compétences acquises au cours de ma Thèse d'Université et de mon stage postdoctoral, j'ai mis en place un projet de recherche visant à étudier l'incidence de la vascularisation cérébrale sur les pathologies qui touchent le système nerveux central mais également celles provoquées par une carence en vitamine B.

#### *Introduction*

Le débit sanguin cérébral directement lié au métabolisme cellulaire est un facteur important dans la pathogénie et la physiopathologie des maladies neurodégénératives. Actuellement est émise l'hypothèse selon laquelle la maladie d'Alzheimer serait provoquée, au moins partiellement, par les effets toxiques des peptides amyloïdes sur la vascularisation cérébrale et par conséquent sur l'angiogenèse, bien que les mécanismes impliqués ne soient pas complètement identifiés.

#### *Objectif*

L'objectif de mon travail de recherche était d'évaluer l'incidence de la vascularisation sur l'apparition de pathologies neurodégénératives en étudiant la distribution et la densité vasculaires dans le cerveau antérieur de souris APP23 (modèle de la maladie d'Alzheimer).

L'hypothèse étant qu'une perturbation de la vascularisation est un des facteurs impliqués dans la pathogénie des maladies neurodégénératives.

#### *Protocole expérimental*

Ce travail a été réalisé sur des coupes de de tissu d'encéphale de souris transgéniques adultes d'un âge moyen (12 mois) et âgées (24 mois). Les souris APP23 (Novartis, Bâle), modèle de la maladie d'Alzheimer, présentent des plaques amyloïdes, une perte partielle (10%) des cellules pyramidales de l'hippocampe ainsi qu'un déficit des fonctions d'apprentissage. J'ai comparé

plusieurs techniques de marquage immunohistochimique des réseaux vasculaires cérébraux de souris, afin de déterminer la méthode la plus efficace.

J'ai réalisé un marquage immunohistochimique de PECAM (*Platelet Endothelial Cell Adhesion Molecule*, marqueur spécifique des cellules endothéliales, constitutives de la paroi vasculaire). Après amplification de la liaison anticorps-antigène, celle-ci est mise en évidence par la **péroxydase de raifort** (HRP ou *Horse Radish Peroxydase*, la peroxydase endogène est trouvée dans les globules rouges) et révélée à la **diaminobenzidine** (DAB, chromogène). Le marquage immunopositif de PECAM a été évalué quantitativement au niveau de différentes régions de l'encéphale. Cette étude a permis de valider le protocole de marquage de PECAM.

#### **3.1.4.2 UMR CNRS 7365 : Développement de substituts osseux prévascularisés**

Grâce à mon expertise en ingénierie tissulaire et notamment en ingénierie vasculaire, j'ai rejoint en juillet 2012, en tant que chercheur associé, le groupe de recherche « Nacre et ingénierie ostéoarticulaire » du Dr Marthe Rousseau, au sein de l'équipe de recherche « Ingénierie Cellulaire et Tissulaire, Imagerie Vectorisation » (CeTEVI) dirigée par les Prs Pierre Gillet et Patrick Menu. Cette équipe fait partie de l'UMR 7365 CNRS-UL IMoPA.

L'équipe de recherche, grâce à une étroite collaboration avec l'Unité de Thérapie Cellulaire et Tissus (UTCT) du CHRU de Nancy, développe :

- des applications des cellules souches et des progéniteurs en médecine régénérative vasculaire et ostéo-articulaire
- des approches innovantes de vectorisation de molécules anti-inflammatoires ou chondroprotectrices et d'imagerie multi-échelle

Les projets de recherches, présentés ci-après, s'inscrivent dans ce premier axe de recherche de l'équipe CeTEVI, et s'intéresse à la fois à la partie ostéo-articulaire et à la partie vasculaire.

**Ces projets de recherche ont permis l'obtention de quatre demandes de financement.**

Ce rapprochement a permis de valoriser les travaux de recherche issus de mon doctorat en ingénierie tissulaire et de me rapprocher de mes activités d'enseignement (anatomie, biomatériaux) et hospitalières (chirurgie, parodontie). J'ai participé activement au développement d'un projet novateur d'ingénierie tissulaire qui est : « Nacre et ingénierie tissulaire osseuse prévascularisée dans le domaine orthopédique et maxillo-facial », qui m'a

permis d'obtenir **trois demandes de financement** (PEPS Mirabelle 2017, Vaincre la Mucoviscidose 2015-2017, PEPS Mirabelle 2014), d'encadrer deux étudiantes en SIR, de co-encadrer un M1 et de codiriger une étudiante en M2 puis en doctorat (Anne-Sophie Willemin), projet pour lequel elle a obtenu **un prix de thèse** (prix de recherche Michel et Lydie Wittner, FRM), **deux prix pour communications orales, quatre publications internationales**, et un **contrat doctoral du MESR**. Ce projet s'intègre dans un axe plus global d'ingénierie tissulaire qui n'existait pas avant mon arrivée au sein du laboratoire : le **développement de substituts osseux prévascularisés dans le domaine orthopédique et maxillo-facial**.

Le deuxième projet que j'ai mis en place : « Cellules souches de la pulpe dentaire et matrice de collagène : une association au service de l'ingénierie tissulaire osseuse prévascularisée » m'a permis de réaliser un protocole de recherche clinique non interventionnelle qui a été validé par l'obtention d'un avis favorable du **CPP en mai 2017**, d'encadrer un SIR, d'obtenir **un financement** (PHC Procope 2018) et de codiriger une étudiante en doctorat (Charlène Kichenbrand), projet grâce auquel elle a réalisé **deux publications internationales et trois publications nationales**. Ce deuxième projet a permis d'initier la **création d'une banque de cellules souches pulpaires au sein du laboratoire**.

## 3.2 Recherche clinique :

### 3.2.1 Thèse d'exercice : Evaluation et prise en charge de la douleur et de l'anxiété dans les soins d'avulsion dentaire en Odontologie Pédiatrique

Ce projet clinique fait partie d'un projet plus global sur l'évaluation et la prise en charge de la douleur en Odontologie Pédiatrique.

Une première étude avait été effectuée au sein du service d'Odontologie Pédiatrique par le Professeur Strazielle en collaboration avec le Docteur Droz et le Professeur Lalonde rattaché au Département de Neuropsychologie de la Faculté des Sciences de Rouen. Le travail consistait en la validation d'échelles d'évaluation de la douleur dentaire chez l'enfant de 4 à 10 ans. Deux échelles ont été testées : la CAS (*Color Analogue Scale*), échelle d'autoévaluation et une échelle comportementale d'hétéroévaluation mise au point par l'équipe et appelée PONDs ou "*Pediatric OdoNtological Distress scale*".

L'étude, à laquelle j'ai contribué au cours de ma thèse d'Etat, est la suite de ce premier travail.

## *Introduction*

Nous savons que, malgré l'évolution des techniques opératoires, l'anxiété face aux soins dentaires n'a pas disparu et qu'elle va influencer le comportement de l'enfant et sa tolérance à un acte douloureux. Dans la littérature, il a été démontré que l'administration antérieure de sucre chez le prématuré ou le nouveau-né diminue de façon significative l'intensité et la durée des pleurs lors d'un acte douloureux comme une piqûre. Des résultats similaires ont été décrits chez l'enfant de 7 ans dans des soins médicaux susceptibles d'induire une douleur aiguë. **L'influence du saccharose sur la douleur et l'anxiété des enfants âgés de 7 à 11 ans au cours d'une avulsion dentaire n'avait pas encore été étudiée.**

## *Objectif*

L'objectif de cette étude était de déterminer les effets analgésiques et anxiolytiques d'une solution intra-orale à base de 30% de saccharose chez les enfants âgés de 7 à 11 ans au cours d'une avulsion dentaire considérée comme le soin le plus anxiogène en cabinet dentaire. Elle visait à mesurer la douleur et de sa composante émotionnelle par l'échelle C.A.S., l'échelle PONDs et le dosage du cortisol intrasalivaire. Cette étude randomisée et en double aveugle a été réalisée sur 20 enfants soignés au département d'Odontologie Pédiatrique de la Faculté de Chirurgie Dentaire de Nancy.

## *Résultats*

Les scores obtenus au niveau de la PONDs par le groupe saccharose au moment de l'avulsion dentaire et en post-opératoire étaient significativement plus faibles (Test de Wilcoxon,  $p < 0.05$ ) que ceux obtenus par le groupe placebo.

Les scores obtenus au moyen de la CAS par le groupe saccharose étaient significativement plus faibles au moment de l'anesthésie, au moment de l'avulsion dentaire et en post-opératoire (Test de Wilcoxon,  $p < 0.05$ ) que ceux obtenus par le groupe placebo. Il n'existait pas de différence entre les deux groupes en pré-opératoire pour les deux échelles. Aucune différence significative de taux de cortisol (dosages en radioimmunoassay) n'a été enregistrée entre les 2 groupes "saccharose" et "placebo". Ce résultat pourrait être lié au fait que le stress induit par les traitements dentaires aurait plutôt un effet à long terme sur la sécrétion de cortisol salivaire plutôt qu'à court terme ; par ailleurs, l'effet analgésique pourrait être moins important au niveau neuroendocrinien qu'au niveau de son expression comportementale.

Ces résultats suggèrent que l'administration intra-orale de saccharose peut diminuer l'anxiété et la douleur des enfants âgés de 7 à 11 ans au cours d'une avulsion dentaire. C'est une technique simple qui peut devenir un outil d'amélioration de la prise en charge des enfants au cours des traitements dentaires en pratique courante.

Cette étude a fait l'objet d'une **communication orale aux 47<sup>e</sup> journées de la Société francophone de Médecine Buccale et de Chirurgie Buccale (MONTPELLIER, 2004) et d'une publication (non soumise)** (Moby V, Lalonde R, Strazielle C. *Oral sucrose solution as an analgesic during dental avulsions in surgical odontology for children: a randomized, placebo-controlled and masked study*).

### **3.2.2 Travaux de recherche clinique depuis l'obtention du poste de MCU-PH : rôle de l'hygiène orale sur l'incidence des Endocardites Infectieuses (EI)**

J'ai été investigateur du PHRC EI dents « Rôle de l'hygiène orale sur l'incidence des EI » de 2009 à 2013.

#### *Introduction*

Cette étude nationale (Besançon, Reims, Nancy, Paris, Rennes), réalisée par des médecins et des chirurgiens-dentistes, a été mise en place pour évaluer l'état buccodentaire et les habitudes alimentaires et d'hygiène chez les patients atteints d'EI et les comparer entre des patients atteints d'EI liée à des streptocoques oraux (cas) et des patients atteints d'EI liée à un germe d'origine extraorale (témoins). Cette étude visait à mieux comprendre certaines causes possibles de l'endocardite infectieuse à travers un questionnaire explorant les antécédents digestifs, personnels et familiaux, les habitudes d'hygiène orale et alimentaires. À ce questionnaire, a été ajouté un examen dentaire clinique et radiologique approfondi pour chaque patient. Au cours de cet examen ont été étudiés l'état des dents, du parodonte, des muqueuses, l'indice de plaque et tartre.

#### *Résultats*

Les cas sont des patients plus jeunes, plus souvent des femmes, et ont plus souvent des cardiopathies antérieures par rapport aux témoins.

Les cas utilisent plus souvent des cure-dents ou des moyens d'hygiène interproximale tels que le fil, la brosse à dents ou le jet hydropulseur. Ils se brossent moins souvent les dents après les repas par rapport aux témoins.

Les cas ont eu plus fréquemment recours à des soins dentaires au cours des trois mois précédents la survenue de l'endocardite.

L'état dentaire que ce soit la présence de tartre, de caries, de dents nécrosées, de foyers infectieux parodontaux ou apicaux, ne présente pas de différence significative entre les deux groupes.

Cette étude a donné lieu à **deux publications internationales, une troisième publication est actuellement soumise (Heart).**

À la suite de cette étude clinique, j'ai été contactée en 2020 par le chef de service du service de cardiologie congénitale et pédiatrique, pour la **rédaction d'un document concernant la prévention des EI**. Ce document à destination des familles ayant des enfants atteints de cardiopathies permet de préciser le type de cardiopathie dont souffre le patient mais également de lui fournir des conseils pour le maintien d'une hygiène dentaire optimale et la réalisation de soins dentaires dans des conditions appropriées (Annexe 1).

### 3.3 Encadrements d'étudiants en Recherche

#### 3.3.1 SIR

Année	Étudiant(e)	Sujet	Co-encadrement
2007	GUERQUIN Vincent (Faculté de Pharmacie)	Évaluation de films multicouches de polyélectrolytes synthétiques en tant que supports de culture pour cellules souches mésenchymateuses. Application à la fonctionnalisation de prothèses vasculaires synthétiques	
2013	HOFFMANN Claire (Faculté de Pharmacie)	Évaluation de la viabilité, l'expression génique et la caractérisation phénotypique des HUVECs ( <i>Human Umbilical Vein Endothelial Cells</i> )	
2013	SOURDOT Anne-Lise (Faculté de Pharmacie)	Mise au point d'un procédé d'extraction et de culture de cellules progénitrices endothéliales dérivées de sang de cordon	
2019	MALHERBE Florian (Faculté d'Odontologie)	Évaluation de l'activité métabolique et des capacités de différenciation ostéoblastique des cellules souches mésenchymateuses issues de la pulpe dentaire	Dr Charlène KICHENBRAND
2020	TONDON Clément (Faculté de Médecine)	PK/PD target attainment of amoxicillin used in antibioprophyllaxis of infective endocarditis during dental surgery: trial protocol of a single-center observational study	Dr Julien SCALABERTOLA

**Tableau 5 : Liste des étudiants encadrés en Stage d'Initiation à la Recherche (SIR)**

### 3.3.2 Master

Année	Étudiant	Master	Sujet	Co-encadrement	Poster	Présentation orale	Prix
2013-2014	WILLEMIN Anne-Sophie	Master 2 BSIS spécialité BMBI-PT Parcours Bioingénierie Médicament Nanosanté	Création d'un substitut osseux prévascularisé à partir de cellules humaines et de principes actifs issus de la nacre	Dr Marthe ROUSSEAU	2		
2014-2015	CARTIGNY Vincent	Master 1 Chimie	Élaboration de nanocomposites synthèse/caractérisation de nanohydroxyapatite et incorporation dans un hydrogel.	Dr Solenne FLEUTOT Anne-Sophie WILLEMIN			

Tableau 6 : Liste des étudiants encadrés en master avec valorisation scientifique

BSIS BioSciences et Ingénierie de la Santé. Université de Lorraine, BMBI-PT Biotechnologies Moléculaires et BioIngénierie - Physiopathologie et Thérapeutique

### 3.3.3 Thèse d'Université : demandes d'autorisation à co-encadrer une Thèse (ACT)

Année	Étudiant	Sujet	Co-encadrement	Poster	Présentation orale	Prix	Publications
2014-2018	WILLEMIN Anne-Sophie <b>Financement : contrat doctoral du MESR</b>	Stratégies cellulaires et environnementales pour le développement d'un substitut osseux prévascularisé	Pr Pierre GILLET	4	3	2	4
2016-2020	KICHENBRAND Charlène <b>Financement : AHU</b>	Cellules souches de la pulpe dentaire et matrice de collagène : une association au service de l'ingénierie tissulaire osseuse prévascularisée.	Pr Patrick MENU		1		5

Tableau 7 : Liste des étudiants encadrés en thèse d'Université avec valorisation scientifique

### 3.3.3.1 Première ACT

**Thèse d'Université (Anne-Sophie WILLEMIN) : Stratégies cellulaires et environnementales pour le développement d'un substitut osseux prévascularisé**

**Directeur de Thèse :** Pierre GILLET, PU-PH en pharmacologie clinique, CHRU de Nancy, UMR CNRS 7365

**Codirecteur de Thèse :** Vanessa MOBY, MCU-PH en Fonction-Dysfonction, Imagerie, Biomatériaux, CHRU de Nancy, UMR CNRS 7365.

**Doctorante :** Anne-Sophie WILLEMIN- **contrat doctoral du MESR**

Partie 1 : Effet de l'ESM (*Ethanol Soluble Matrix*) sur les capacités angiogéniques des cellules de la lignée endothéliale et ostéogéniques des CSM

#### *Introduction*

En cas de perte de substances osseuses de grande étendue, la capacité naturelle de réparation du tissu osseux n'est pas suffisante et nécessite d'être assistée. Les pertes osseuses de taille critique représentent un enjeu thérapeutique et économique majeur. Elles sont responsables de plus de cent millions de procédures chirurgicales chaque année à travers le monde (11). La greffe d'os autologue constitue actuellement la référence absolue. Cependant, cette thérapeutique présente tout de même des inconvénients qui ont entraîné le développement de substituts osseux. Actuellement, le substitut idéal n'existe pas en raison de la difficulté à recréer un réseau vasculaire fonctionnel au sein du nouvel os. Depuis quelques années, les espoirs se tournent vers la création d'un substitut osseux prévascularisé par ingénierie tissulaire afin de pallier la principale limite des alternatives actuelles : l'établissement d'un réseau vasculaire au sein de ce biomatériau, permettant la connexion au système vasculaire de l'hôte après implantation (12–15).

Les points cruciaux sont l'identification d'un stimulus capable d'agir à la fois sur l'angiogenèse et l'ostéogenèse mais également l'association cellules-stimulus idéale permettant de combler ces défauts osseux.

La nacre et plus particulièrement, un extrait de nacre : les principes actifs solubles dans l'éthanol (appelés *Ethanol soluble matrix*, ESM) pourraient représenter ce stimulus, d'autant plus qu'il est d'origine naturelle. Ses effets sur l'ostéogenèse ont déjà été démontré. L'ESM a ainsi démontré dans des travaux précédents sa capacité à restaurer la minéralisation de la matrice extracellulaire (MEC) d'ostéoblastes matures humains issus de patients arthrosiques

(16). Cependant, **leur action sur la différenciation de cellules immatures (CSM) vers un phénotype osseux ainsi que leur effet sur l'angiogénèse n'ont, à ce jour, jamais été étudiés.**

### *Objectif*

Mon projet était d'évaluer l'effet stimulateur d'un composé naturel, les principes actifs de la nacre solubles dans l'éthanol (ESM), à la fois sur les capacités angiogéniques de cellules de la lignée endothéliale (cellules progénitrices endothéliales (CPE) provenant du sang de cordon) et sur la différenciation ostéogénique de CSM provenant de la moelle osseuse et cultivées sous forme de sphère tridimensionnelle avec comme objectif le développement d'un substitut osseux prévascularisé.

### *Résultats*

Nous avons évalué *in vitro* le rôle stimulateur de l'ESM sur l'angiogénèse en étudiant deux types de cellules de la lignée endothéliale (cellules endothéliales matures de la veine ombilicale humaine, HUVEC, *Human Umbilical Vein Endothelial Cells*, et CPE, issues de sang de cordon) (17). Pour les cellules matures, nous avons obtenu des résultats en présence d'ESM quasiment comparables à ceux obtenus avec l'utilisation d'un cocktail de facteurs de croissance. Puis, nous nous sommes intéressés à l'effet de l'ESM sur les CPE, cellules capables de recréer un réseau vasculaire à partir d'un réseau pré-existant. Les résultats obtenus ont permis de mettre en évidence l'effet pro-angiogénique de l'ESM notamment à la concentration de 200µg/mL au travers d'une augmentation de l'expression de gènes spécifiques des CE et de la fonctionnalité de ces cellules (capacité à former des structures pseudo-vasculaires). Cet effet de l'ESM sur les capacités angiogéniques des CPE pourrait résulter d'une action additive ou synergique avec les facteurs de croissance présents dans le milieu de référence (EGM-2). Nous avons ainsi pu démontrer un effet positif de cet extrait sur la fonctionnalité et l'expression génique des deux types cellulaires étudiés notamment à la concentration de 200µg/mL d'ESM (17). Cette efficacité de la concentration 200µg/mL d'ESM avait précédemment été mise en évidence dans la stimulation de la capacité ostéogénique d'ostéoblastes arthrosiques (16). Nos résultats sont encourageants et démontrent l'effet bénéfique de cet ESM sur l'angiogénèse.

Nous avons ensuite observé l'effet de l'ESM sur la différenciation ostéogénique des CSM. Les CSM, cultivées sous forme de sphère tridimensionnelle et en présence d'ESM à 100µg/mL, ont montré une expression combinée de marqueurs spécifiques de chondrocytes et de chondrocytes hypertrophiques, étape précédant la différenciation ostéoblastique dans

l'ossification endochondrale. Ces résultats suggèrent une différenciation des CSM *via* le phénomène d'ossification endochondrale. Cependant ces résultats restent à confirmer par l'étude de la matrice extracellulaire secrétée par les CSM. L'ESM utilisée à la concentration de 200µg/mL ne semblait pas stimuler l'expression des gènes de chondrocytes ou de chondrocytes hypertrophiques, cela pourrait être dû à une compétition entre l'ESM utilisée à cette concentration et la dexaméthasone.

Ces résultats prouvent que l'ESM peut intervenir à la fois sur l'angiogenèse et sur l'ostéogenèse et qu'il constitue ainsi un stimulus potentiel pour le développement d'un substitut osseux prévascularisé.

## Partie 2 : Effet paracrine des CSM sur les cellules de la lignée endothéliale, HUVEC et CPE

### *Introduction*

Les systèmes de co-culture permettent de recréer un environnement le plus proche possible de celui rencontré *in vivo*, en mimant les processus physiologiques se déroulant dans l'organisme et dans le cadre de cette thématique, la régénération osseuse et l'angiogenèse. Il aurait été donc intéressant de tester les bénéfices engendrés par l'utilisation de l'ESM dans un système de co-culture CPE/CSM. Cependant, les CSM bien que classiquement utilisées en médecine régénérative présentent des inconvénients et de nombreuses études ont montré que leur potentiel de régénération était principalement médié par leurs produits de sécrétion, c'est ce qui a favorisé l'apparition de la thérapie dite « *cell-free* », et permet de s'affranchir totalement de la composante cellulaire (18,19). Cette thérapie utilise soit le milieu conditionné (milieu de culture contenant les produits de sécrétion des cellules (facteurs solubles et vésicules extracellulaires (VEC)) soit uniquement les VEC. Parmi les VEC, une fraction spécifique a été étudiée de manière plus approfondie : les vésicules extracellulaires de taille nanométrique (nEV). Ces nEV transportent des protéines, des acides ribonucléiques (ARN) et désoxyribonucléiques (ADN) qui vont interagir avec les cellules environnantes et ainsi engendrer une modification du comportement de la cellule.

### *Objectif*

L'objectif était d'étudier l'effet de nEV issues de CSM sur les capacités angiogéniques des cellules de la lignée endothéliale (cellules endothéliales matures (HUVEC) et CPE). Les

cellules utilisées avaient la même origine tissulaire : le cordon ombilical, sang de cordon pour les CPE et gelée de Wharton pour les CSM.

### *Résultats*

Dans le cas des cellules matures, nous avons mis en évidence l'interaction existant entre les nEV et les HUVEC et une stimulation de la fonctionnalité de ces CE matures. Cette interaction est représentée par une internalisation des nEV issues des CSM et marquées au PKH67 au niveau du cytoplasme des HUVEC. La capacité des HUVEC à former des structures vasculaires, représentative de leur fonctionnalité, a été stimulée à partir d'une concentration de  $10^9$  nEV/mL. De la même façon, nous avons pu mettre en évidence une meilleure capacité des CPE à former des néo-vaisseaux ainsi qu'une expression plus importante des marqueurs endothéliaux en présence de nEV à partir d'une concentration de  $10^9$  nEV/mL (20).

Ces nEV issues des CSM semblent présenter un double rôle en pouvant à la fois maintenir le phénotype fonctionnel de cellules matures (HUVEC) et participer à la différenciation de progéniteurs (CPE). Leur utilisation pourrait permettre de s'affranchir de l'utilisation de facteurs de croissance onéreux et exogènes lors de la différenciation. Leur association à l'ESM au sein d'un hydrogel pourrait avoir un effet synergique et accélérateur sur l'angiogenèse.

## Partie 3 : Etude des effets *in vitro* de vésicules de taille nanométrique issues d'agroressources sur les CPE et CSM

### *Introduction*

Au cours des étapes de différenciation cellulaire, les différents stimulus biochimiques tels que les facteurs de croissance jouent un rôle primordial. Il pourrait être intéressant d'utiliser des structures permettant de protéger efficacement ces constituants sensibles, augmentant ainsi leur temps de présence au sein d'un système biologique ou de biomatériaux (21). Cette étude a été réalisée en collaboration avec le Dr Cyril Kahn et le Pr Elmira Arab-Tehrany du LIBio. Cela permettrait de diminuer ainsi la quantité de facteurs de croissance utilisée. Ce système pourrait également remplir les mêmes fonctions vis-à-vis de notre stimulus naturel, utilisé dans la partie 1 : l'ESM. Une encapsulation efficace pourrait également permettre de mieux cibler l'ESM vers le site d'implantation et donc notamment au niveau du défaut osseux.

Cette encapsulation pourrait être réalisée grâce à des nanoparticules synthétisées à partir de lécithine et donc issues de l'agroressource (soja, colza, saumon) (21). Elles sont biocompatibles et déjà utilisées en cosmétique, en pharmaceutique ainsi que dans l'industrie alimentaire. Leur composition spécifique en acide gras va jouer un rôle dans le métabolisme cellulaire. La composition en acide eicosapentaénoïque (EPA) et d'acide docosahexaénoïque (DHA) de cette lécithine va jouer un rôle bénéfique au niveau cardiovasculaire (22).

### *Objectif*

L'objectif était de développer des structures capables de véhiculer l'ESM et donc de favoriser son utilisation en médecine régénérative.

### *Résultats*

En collaboration avec l'équipe E.A. 4367-UL du LIBio (Pr Arab-Tehrany et le Dr Kahn) nous avons développé des nanoparticules synthétiques à base de lécithines de colza puis les avons mises en contact avec deux types de cellules : les CPE et les CSM. Nous avons montré la parfaite innocuité de ces nanoparticules lorsqu'elles sont utilisées à des concentrations inférieures à 500µg/mL. Ces résultats ouvrent la voie à des essais d'encapsulation d'ESM au sein de ces nanoliposomes de lécithines de colza et ainsi permettre un meilleur ciblage *in vivo*.

### *Perspectives*

Ces travaux pourraient être l'étape préliminaire au développement d'une matrice ensemencée avec des CPE issues du sang de cordon, enrichie avec des nEV issue de CSM de la gelée de Wharton et vectorisée par des nanoliposomes enrichis en ESM, permettant la création d'un substitut osseux prévascularisé.

**Cette thèse a fait l'objet de 4 publications internationales, 3 communications orales, 4 communications affichées, 2 prix pour communications orales** Prix de la meilleure communication orale (Journée de la FR CNRS-UL 3209 BMCT, septembre 2014, Nancy (France)), Prix du meilleur flash poster (XVII<sup>ème</sup> Journées Françaises de Biologie des Tissus Minéralisés, février 2015, Super- Besse (France)) **et un prix de thèse (prix de recherche Michel et Lydie Wittner (Fondation pour la Recherche Médicale), novembre 2017).**

### 3.3.3.2 Deuxième ACT

**Thèse d'Université (Charlène KICHENBRAND) : Cellules souches de la pulpe dentaire et matrice de collagène : une association au service de l'ingénierie tissulaire osseuse prévascularisée.**

**Directeur de Thèse** : Patrick MENU, PR en Physiologie et physiopathologie, Faculté de Pharmacie, UMR CNRS 7365.

**Codirecteur de Thèse** : Vanessa MOBY, MCU-PH en Fonction-Dysfonction, Imagerie, Biomatériaux, CHRU de Nancy, UMR CNRS 7365.

**Doctorante** : Charlène KICHENBRAND, AHU en Chirurgie Orale, CHRU de Nancy

#### *Introduction*

Ces dernières années, les récentes découvertes sur les cellules souches et notamment les CSM ont été à l'origine d'une révolution biomédicale qui s'est traduite par l'essor de la médecine régénérative. Ces CSM sont capables de réparer ou remplacer les tissus et organes déficients de l'organisme (maladies, traumatismes, vieillissement). La principale source de CSM utilisée en clinique est la moelle osseuse. Cependant, le caractère invasif du prélèvement, la nécessité d'avoir recours le plus souvent à une anesthésie générale, la morbidité au niveau du site de prélèvement et l'impact de l'âge du donneur sur la qualité de ces cellules, sont des inconvénients à prendre en compte (23). De ce fait, d'autres sources de CSM ont été explorées et notamment les CSM issues de la pulpe dentaire. Ces CSM possèdent les mêmes propriétés que les CSM issues de la moelle osseuse (autorenouvellement, multipotententialité, capacités immunosuppressives, ...) et des avantages supplémentaires tels que le caractère non invasif, non douloureux et facile du prélèvement. Elles ont démontré leur capacité à réparer ou régénérer des tissus de l'organisme (24).

Les CSM issues de la pulpe dentaire ont démontré leur capacité de différenciation ostéogénique *in vitro* (en présence d'un cocktail de différenciation (sérum de veau fœtal, dexaméthasone, acide ascorbique, béta-glycérophosphate)) et *in vivo*. Cependant, il est souvent nécessaire de les combiner à une matrice afin d'optimiser la structure tridimensionnelle de l'os néoformé et d'augmenter le potentiel de différenciation ostéoblastique (25). Leur capacité de différenciation endothéliale a été récemment étudiée mais fait l'objet d'un faible nombre d'études (26).

**A ma connaissance, aucune étude à ce jour, n'a étudié de façon simultanée la capacité de différenciation endothéliale et ostéoblastique des CSM issues de la pulpe dentaire au sein d'une matrice tridimensionnelle.**

### *Objectif*

Mon projet était de créer un biomatériau cellularisé pour la régénération osseuse à partir d'une seule source tissulaire (la pulpe dentaire) et d'une matrice biologique à base de collagène. Le collagène 1 constitue le support idéal pour ces cellules car c'est le constituant majoritaire à la fois de la matrice extracellulaire de la pulpe dentaire mais également de la trame organique du tissu osseux.

### *Résultats*

Après confirmation par cytométrie en flux qu'il s'agissait bien de CSM (profil phénotypique classique : expression des marqueurs CD73, 90 et 105 et absence d'expression des marqueurs CD34 et 45 ainsi qu'HLA-DR), les cellules souches mésenchymateuses issues de la pulpe dentaire (CSM-PD) ont été cultivées pendant 28 jours en présence d'un milieu ostéoinducteur. Les CSM-PD ont étéensemencées sur un support en collagène en deux dimensions ou encapsulées dans un gel d'alginate enrichi en hydroxyapatite puisensemencées dans des éponges de collagène (support tridimensionnel).

Afin de déterminer quel était l'environnement idéal pour cette différenciation, nous avons évalué l'impact de la teneur en glucose du milieu de culture sur les cellules et notamment sur leurs capacités de différenciation. L'effet du glucose sur la prolifération et la différenciation ostéogénique des cellules souches donne des résultats contradictoires selon les études et le type de cellules souches. **Aucune étude à ce jour n'a comparé les effets d'une faible et d'une forte concentration en glucose sur la différenciation ostéogénique des CSM-PD.**

Nous avons donc étudié l'influence de deux concentrations en glucose, utilisées en routine dans les milieux de culture : une faible concentration en glucose (5,5 mM) qui correspond à une concentration sérique physiologique et une forte concentration en glucose (20 mM), qui peut être comparée à une condition hyperglycémique *in vivo*, qu'on retrouve notamment chez les patients diabétiques. Nous avons mis en évidence que les CSM-PD présentaient une prolifération et une viabilité similaire que ce soit en présence d'un milieu pauvre ou riche en glucose. La teneur en glucose n'a pas non plus modifié la capacité de ces cellules à former des nodules minéralisés. Ces résultats nous encouragent à privilégier pour la culture des CSM-PD,

un milieu de culture à faible concentration en glucose, afin de se rapprocher le plus possible des conditions physiologiques. Ces résultats mettent également en évidence une absence de modification du métabolisme des cellules souches pulpaire en présence d'un environnement riche en glucose, contrairement à d'autres types de cellules souches. Ce qui pourrait en faire des acteurs prometteurs en ingénierie tissulaire osseuse chez des patients diabétiques, patients pour lesquels la cicatrisation et le métabolisme osseux sont modifiés et freinés par l'hyperglycémie (27).

Les milieux ostéoinducteurs sont des milieux riches en facteurs de croissance et donc onéreux et d'une durée d'action limitée. Afin de diminuer la quantité de principes actifs utilisés, l'encapsulation de ces principes actifs au sein de vésicules capables de les protéger pourrait être une alternative intéressante. Un type de vésicules de taille nanométrique est largement étudié, ce sont les nanoliposomes (nanovésicules issues d'agroressources). Ils sont actuellement considérés comme des vecteurs sûrs et efficaces pour le transport de molécules actives dans des systèmes biologiques (21). Avant d'envisager leur utilisation dans nos systèmes, nous avons étudié le comportement des CSM-PD en leur présence. Nous n'avons pas constaté de modification de la viabilité et de la prolifération cellulaire en présence de ces nanovésicules. L'absence de cytotoxicité ayant été mise en évidence, nous envisageons donc de les utiliser dans nos futurs systèmes.

Enfin, nous avons mis en évidence l'initiation de la **formation d'un réseau vasculaire** (marquage en immunohistochimie de CD31, marqueur spécifique des cellules endothéliales) ainsi que la **présence d'une matrice minéralisée** (coloration histologique au rouge alizarine et Von Kossa, immunomarquage de l'ostéocalcine et de l'ostéopontine) quand les CSM-PD sont cultivées pendant 28 jours au sein de notre biomatériau tridimensionnel innovant. Nous avons donc obtenu un **substitut osseux prévascularisé à partir d'un biomatériau composite à base de collagène, d'alginate enrichi en nano-hydroxyapatite et de CSM-PD** (article en cours de rédaction).

### *Perspectives*

Il serait intéressant d'évaluer le rôle synergique joué par le milieu conditionné issu de la culture de ces CSM sur la différenciation cellulaire et la production d'une matrice osseuse prévascularisée. En effet, le rôle potentiel du sécrétome dans l'induction d'une néo-vascularisation et sur l'induction d'une différenciation ostéogénique a fait l'objet d'études

récentes mais nécessite d'être approfondi. De plus, à notre connaissance, dans la littérature, aucune étude à ce jour, n'a étudié l'influence du milieu conditionné, provenant de la culture des cellules souches issues de la pulpe dentaire, sur la différenciation endothéliale et ostéoblastique.

**Cette thèse a fait l'objet de deux publications internationales, trois publications nationales, et une communication orale.**

### **3.3.3.3 Valorisation du travail des étudiants encadrés**

#### **Articles valorisant un travail de thèse**

**Kichenbrand C**, Grossin L, Menu P, **Moby V**. (2020). Behaviour of human dental pulp stem cell in high glucose condition: impact on proliferation and osteogenic differentiation. *Arch Oral Biol*. doi :10.1016/j.archoralbio.2020.104859.

Canceill T, Campana SC, Blasco-Baque V, Monsarrat P, **Kichenbrand C**, Joniot S, Cazalbou S, **Moby V**. (2020). Les concentrés plaquettaires en chirurgie orale : quand la biologie et les matériaux ne font qu'un. *Biomatériaux Dentaires Cliniques*. 5(1):18-25.

**Kichenbrand C**, Velot E, Menu P, **Moby V**. (2019). Dental Pulp Stem Cell-Derived Conditioned Medium: An Attractive Alternative for Regenerative Therapy. *Tissue Eng Part B Rev*, 25(1):78-88. doi: 10.1089/ten.TEB.2018.0168.

Canceill T, **Kichenbrand C**, Joniot S, **Moby V**. (2019). Les substituts osseux en odontologie. Partie II : Classification des substituts osseux. *Biomatériaux Dentaires Cliniques*. 4(2):42-47.

**Willemin AS**, Zhang G, Velot E, Bianchi A, Decot V, Rousseau M, Gillet P, **Moby V**. (2019). The effect of nacre extract on cord blood-derived endothelial progenitor cells: A natural stimulus to promote angiogenesis? *J Biomed Mater Res Part A*. 107(7):1406-1413. doi:10.1002/jbm.a.36655.

Canceill T, **Kichenbrand C**, Joniot S, **Moby V**. (2018). Les substituts osseux en odontologie. Partie 1-Structure du tissu osseux, définition des substituts osseux, cahier des charges. *Biomatériaux Dentaires Cliniques*. 3(1):46-51.

**Willemin AS\***, Dostert G\*, Jouan-Hureau V, Louis H, Hupont S, Gillet P, Menu P, Decot V, Velot E°, **Moby V°**. (2017). Evaluation of the pro-angiogenic effect of nanoscale extracellular vesicles derived from human umbilical cord mesenchymal stem cells. *Bio-Med Mater Eng*, 28(S1): S75-S79. doi: 10.3233/BME-171626.

Zhang G, Brion A, **Willemin AS**, Piet MH, **Moby V**, Bianchi A, Mainard D, Galois L, Gillet P, Rousseau M. (2017). Nacre, a natural, multi-use, and timely biomaterial for bone graft substitution. *J Biomed Mater Res Part A*. 105(2):662-671. doi: 10.1002/jbm.a.35939.

Zhang G, **Willemin AS**, Brion A, Piet M-H, **Moby V**, Bianchi A, Mainard D, Galois L, Gillet P, Rousseau M. (2016). A new method for the separation and purification of the osteogenic compounds of nacre ethanol soluble matrix. *J Struct Biol*. 196(2):127-137. doi 10.1016/j.jsb.2016.03.016.

### **Présentations orales valorisant un travail de Master ou de Thèse**

**Kichenbrand C**, Menu P, **Moby V**. (2018). Combined use of mesenchymal stem cells from dental pulp tissue (DPSCs) and natural coating surface from Wharton's jelly-extracellular matrix: benefits and promises in bone tissue engineering. Journées de l'Ecole Doctorale, Nancy, France.

**Willemin AS**, Zhang G, Bianchi A, Rousseau M, Fleutot S, Cleymand E, Arab-tehrany E, Velot E, Gillet P, **Moby V**. (2017). Nacre active compounds and chitosan scaffold for the development of an innovative bone substitute. Congrès de la Société Francophone des Biomateriaux Dentaires (SFBD), Paris, France.

**Willemin AS**, Zhang G, Bianchi A, Rousseau M, Velot E, Gillet P, **Moby V**. (2016). Étude des potentialités ostéogéniques des principes actifs issus de la nacre en ingénierie osseuse. Journée de la Fédération de Recherche CNRS-UL 3209 BMCT « La médecine personnalisée », Nancy, France.

**Willemin AS**, Fleutot S, Boudemagh D, Velot E, Decot V, Gillet P, Arab-Tehrany E, Cleymand F, Rousseau M, **Moby V**. (2015). A new alternative in bone regeneration: combination of chitosan/hydroxyapatite scaffold, nacre compounds and stem cells. 17<sup>èmes</sup> Journées Françaises de Biologie des Tissus Minéralisés. Clermont-Ferrand, France. **Prix du meilleur flash poster.**

**Willemin AS**, Brion A, Velot E, Decot V, Gillet P, **Moby V**, Rousseau M. (2014). Effets des principes actifs issus de la nacre sur la différenciation angiogénique des cellules progénitrices endothéliales et sur la différenciation ostéogénique des cellules souches mésenchymateuses. Journées de la FR, Nancy, France. **Prix de la meilleure communication orale.**

## **Présentations affichées valorisant un travail de Master ou de Thèse**

**Willemin AS**, Fleutot S, Velot E, Ferry O, Gillet P, Cleymand F, Rousseau M, **Moby V**. (2015). Nacre active compounds, stem cells and chitosan/hydroxyapatite hydrogel: a synergic combination for bone tissue engineering. XIII<sup>th</sup> International Symposium on Biomineralization, Grenade, Espagne.

**Willemin AS**, Fleutot S, Boudemagh D, Velot E, Decot V, Gillet P, Arab-Tehrany E, Cleymand F, Rousseau M, **Moby V**. (2015). Development of a new functional bone substitute: nacre active compounds in combination with chitosan/hydroxyapatite nanoparticles scaffold and stem cells. European Materials Research Society Spring Meeting. Lille, France.

**Willemin AS**, Fleutot S, Boudemagh D, Velot E, Decot V, Gillet P, Arab-Tehrany E, Cleymand F, Rousseau M, **Moby V**. (2014). Development of a new functional bone substitute: nacre active compounds in combination with chitosan/hydroxyapatite nanoparticles scaffold and stem cells. SFNano, 1st annual meeting, Nancy, France.

**Willemin AS**, Fleutot S, Boudemagh D, Velot E, Decot V, Gillet P, Arab-Tehrany E, Cleymand F, Rousseau M, **Moby V**. (2014). Combining chitosan/hydroxyapatite scaffold, nacre active compounds and stem cells to develop functional bone substitute. Symposium "Architected biomaterials, Medical and Tissue Engineering", Ambassade de France à Berlin, Allemagne.

## **Prix**

**Anne-Sophie WILLEMIN** (Étudiante en Master puis thèse d'Université) : Prix de la meilleure communication orale (Journée de la FR CNRS-UL 3209 BMCT, septembre 2014, Nancy (France)), Prix du meilleur flash poster (XVII<sup>ème</sup> Journées Françaises de Biologie des Tissus Minéralisés, février 2015, Super- Besse (France)), Prix de recherche Michel et Lydie Wittner (Fondation pour la Recherche Médicale) pour son travail de Thèse (novembre 2017).

### 3.4 Participation à des Jurys

Année Universitaire	Nom/Prénom	Niveau d'étude	Sujet	Fonction
2010-2011	GAUCHE Caroline	M1	Caractérisation moléculaire de la $\beta$ 1,3-galactosyltransferase 6	Examineur
2010-2011	BIRCK Cindy	M1	Rôle de la galectine-3 dans l'inflammation : effets sur des cellules humaines	Examineur
2010-2011	BLANDIN Anne-Florence	M1	Profiling protéique par électrophorèse en vue d'un dépistage de l'encéphalopathie hépatique	Examineur
2010-2011	CHERBAL Soufian	M1	Evaluation des propriétés antibactériennes de divers composés chimiques	Examineur
2011-2012	BERTEAU Caroline	SIR	Effet de l'âge du donneur sur la capacité de différenciation ostéogénique des cellules souches mésenchymateuses de moelle osseuse	Examineur
2011-2012	MOUGINOT Manon	SIR	Effet de la nacre sur la différenciation de cellules souches mésenchymateuses de moelle osseuse	Examineur
2020-2021	BAHSOUN Batoul	Thèse d'exercice en Odontologie (Toulouse)	Candidature à un poste d'AHU	Président
2020-2021	CANCEILL Thibault	Thèse d'Université (Toulouse)	Développement d'un biomatériau naturel, bioactif, dérivé du sang pour la régénération tissulaire	Examineur

**Tableau 8 : Participation à des Jurys en tant qu'examineur ou président (master, SIR, Thèse d'Université, AHU)**

### 3.5 Diffusion des travaux (vulgarisation)

J'ai participé à la rédaction d'un article de vulgarisation scientifique sur le site d'information de l'Université de Lorraine (**Factuel**) intitulé : « Régénérer le tissu osseux grâce à la biologie cellulaire, les biomatériaux et l'étude des nanovésicules », et publié le 21 janvier 2015. Cet article permettait d'aborder le sujet de recherche sur lequel je travaillais à savoir le

développement des substituts osseux et qui avait fait l'objet d'un financement l'année précédente (PEPS Mirabelle 2014).

### 3.6 Expertise biologique

Depuis avril 2018, je travaille pour l'entreprise Micro-Méga en tant qu'**expert biologique**. La société Micro-Méga, basée à Besançon (25), dont l'activité d'origine remonte à 1905, est mondialement reconnue pour la conception, la fabrication et la commercialisation de dispositifs médicaux destinés à la chirurgie dentaire. Ses instruments canaux et d'obturation, ses pièces à main et contre-angles et ses appareils d'hygiène témoignent de son savoir-faire technique et scientifique unique et de la qualité irréprochable de ses produits conçus et fabriqués en France. En relation directe avec les services technique, réglementaire et clinique, mes missions se concentrent sur quatre axes en vue de la conservation du label CE :

- 1) Etablir la stratégie de caractérisation des matériaux après visite du site de fabrication et explications des procédés de fabrication.
- 2) Recherche bibliographique sur les matériaux et leur utilisation.
- 3) Proposer la liste des dispositifs médicaux les plus critiques après croisement des données transmises par l'entreprise : caractéristiques et compositions des matériaux, procédés de fabrication, utilisation clinique des produits finis.
- 4) Etablissement de recommandations et argumentaire sur les tests de biocompatibilité applicables aux dispositifs médicaux les plus critiques selon la norme ISO 10993-1 (Évaluation biologique des dispositifs médicaux - Partie 1 : évaluation et essais au sein d'un processus de gestion du risque).

### 3.7 Participation à des groupes collaborateurs

#### **Société Francophone des Biomatériaux Dentaires :**

Je suis membre du conseil d'administration de la **Société Francophone des Biomatériaux dentaires** (SFBD) depuis 2016.

Je suis **vice-présidente de la SFBD en charge des relations inter-universités** depuis 2020.

Je suis également **membre du Conseil Scientifique attribuant la bourse de recherche Michel DEGRANGE-SFBD** depuis 2019.

J'ai été **trésorière-adjointe de la SFBD** de 2018 à 2019.

J'ai été **membre du Conseil scientifique du congrès de la SFBD** (6-7 juillet 2017, 4-5 juillet 2019).

### **Association pour l'étude et la prévention de l'endocardite infectieuse :**

Je suis membre de **l'association pour l'étude et la prévention de l'endocardite infectieuse** (AEPEI) depuis 2020.

## **3.8 Contrats**

### *Financements de projets de recherche*

PHC PROCOPE 2018 (bourse de mobilité pour chercheur France/Allemagne) pour le projet « *Merging ECM bioscaffolds, MSCs and RAAV Vectors as a new strategy for human musculoskeletal regenerative medicine applications* » (Emilie Velot (porteur), Magali Cucchiari, Vanessa Moby, Patrick Menu)

PEPS Mirabelle 2016 : 25 000 euros pour le projet sur « *Construction de substituts osseux prévascularisés, apport d'une différenciation facilitée par les nanoliposomes dans un modèle de co-culture CSM/CPE (SOPRANO)* » (Vanessa Moby (porteur), Anne-Sophie Willemin, Cédric Carteret, Franck Cleymand, Laura Sanchez)

Vaincre la mucoviscidose 2015-17 : 31 000 euros pour le projet sur « *Évaluation de l'intérêt de la nacre pour la réduction du déficit osseux dans la mucoviscidose* » (Marthe Rousseau (porteur), Vanessa Moby, Patrice Laquerrière)

PEPS Mirabelle 2014 : 24 000 euros pour le projet sur « *Éco-conception d'un biomatériau fonctionnalisés à l'aide des exosomes des CSM de la gelée de Wharton pour l'ingénierie tissulaire osseuse (BioExoOs)* » (Marthe Rousseau (porteur), Vanessa Moby, Franck Cleymand, Elmira Arab-Tehrany)

### *Demandes de financement déposées*

Projets Interdisciplinaires 2021 : 20 000 euros pour le projet « *Ensemble pour la Valorisation et l'Innovation DENTaire (EVIDENT)* » (Pascal Demarch (porteur), Patrice Berthod, Vanessa Moby, Déborah Helle, Patrice Choquet, Roberto Quintana, Jacques Hoernbeck)

Projets incitatifs 2020 (appel à projets interne BMS) : 13 000 euros pour le projet « *Création d'un substitut osseux innovant associant dérivés plaquettaires issus de sang placentaire et*

*cellules souches humaines dentaires (STIMULATE)* » (Vanessa Moby (porteur), Reine El-Omar, Patrick Menu) : premier projet refusé.

ANR AAPG 2020 (ANR JCJC) : 345 000 euros « *Création d'un substitut osseux innovant basé sur l'association de dérivés plaquettaires issus de sang placentaire et de cellules souches humaines dentaires (STIMULATE)* » (Vanessa Moby (porteur))

ANR AAPG 2018 (ANR JCJC) : « *Amélioration des systèmes de délivrance de vésicules extracellulaires nanométriques dérivées des cellules souches mésenchymateuses pour accélérer la cicatrisation ou la réparation des tissus pour la médecine régénérative (InEVative)* » (Emilie Velot (porteur), Vanessa Moby, Reine El Omar).

Bilateral Project PHC PAVLE SAVIC 2016 (bourse de mobilité pour chercheur France/Serbie) : pour le projet « *Development of mesenchymal stem cell and natural extracellular matrix-based transplant for joint tissue engineering* » (Emilie Velot (porteur), Jelena Krstic, Vanessa Moby).

Starting Grant ERC Consolidator 2016 : 1 995 560 euros pour le projet « *Identification of nacre compounds and characterisation of their in vitro and in vivo mechanisms of action on bone* » (Marthe Rousseau (porteur), Vanessa Moby).

ANR PRCE 2015 : 719 000 euros pour le projet « *Caractérisation des composés de la nacre, mécanismes d'action et activité sur l'os (NACAR)* » (Marthe Rousseau (porteur), Vanessa Moby, Jean-Pol Frippiat, Patrice Laquerrière).

Agence de Biomédecine, recherche et greffe 2014 : 40 000 euros pour le projet « *Évaluation du potentiel angiogénique et ostéogénique du milieu conditionné des cellules souches mésenchymateuses de la gelée de Wharton* » (Emilie Velot (porteur), Vanessa Moby, Véronique Decot, Marthe Rousseau, Anne-Sophie Willemin).

Starting Grant ERC 2013 : 1 486 108 euros pour le projet sur « *Nacre supplementation for osteoporosis treatment* » (Marthe Rousseau (porteur), Vanessa Moby, Pierre Gillet, Arnaud Bianchi).

#### 4. PRESENTATION DU PROJET SCIENTIFIQUE

Dans le prolongement de mes activités actuelles de recherche, mes projets concernent aussi bien le versant fondamental (UMR CNRS 7365, équipe BioReMatch) que le versant clinique (Service Odontologie du CHRU de NANCY).

La première étape de mon projet sera de réaliser une mobilité d'un an (janvier 2021 à décembre 2021) au sein du laboratoire de l'Unité de Recherche Biomatériaux Innovants et Interfaces (URB2i, EA 4462) de l'Université de Paris.

A moyen et long terme, mes projets vont concerner principalement en la poursuite de mes travaux (recherche fondamentale et recherche clinique) en ajoutant une composante pharmacologique à mes travaux sur l'endocardite infectieuse et une composante « caractérisation mécanique des biomatériaux » ainsi qu'une composante *in vivo* à mes travaux sur le développement de substituts osseux prévascularisés.

Mon projet de mobilité vise à étudier non plus la composante cellulaire mais véritablement la **composante « matériaux »** des biomatériaux. Les travaux de recherche auxquels je vais participer vont me permettre d'étudier un grand nombre de techniques de caractérisation mécanique des matériaux tels que les essais de porosimétrie par intrusion de mercure (évaluation de la porosité, de la distribution de la taille des pores et de leur densité), essais de nanoindentation instrumentée (évaluation de l'élasticité, la plasticité et la dureté), mais également d'autres techniques telles que l'analyse thermogravimétrique qui est une technique d'analyse thermique permettant de mesurer les variations de masse d'un échantillon en fonction de la température, et la microscopie électronique à balayage. Ces techniques vont me permettre d'évaluer des matériaux issus de l'impression 3D et plus globalement de la fabrication additive, afin de déterminer leurs propriétés et leur adaptation à l'usage clinique auquel ils sont destinés. L'acquisition de cette expertise dans l'évaluation des propriétés mécaniques des matériaux combinée à mon expertise biologique acquise au cours de mon cursus me permettra de détenir deux des clés indispensables au développement de biomatériaux innovants en ingénierie tissulaire.

## 4.1 Projet de recherche fondamentale

Ce premier projet de recherche vise à développer un substitut osseux original pour pallier les limites de l'autogreffe osseuse.

Ce projet de recherche se propose d'étudier **l'association synergique d'une matrice composite**, de **cellules souches mésenchymateuses (CSM) humaines issues de dents permanentes immatures** (utilisables à la fois dans un contexte autologue ou allogénique) et de **dérivés plaquettaires**. Ces derniers sont des molécules bioactives, abondantes, d'origine naturelle, et seront issus de **sang placentaire humain** et utilisés à la place des facteurs de croissance commerciaux pour favoriser à la fois la différenciation angiogénique et ostéogénique. Cette construction sera implantée chez l'animal pour mesurer sa capacité de régénération osseuse et de néovascularisation.

- **Le contexte, les acquis scientifiques dans le domaine**

Le tissu osseux possède une grande capacité de régénération. Pourtant, le traitement des défauts osseux, notamment de grande étendue, nécessite souvent l'utilisation d'autogreffes, ou de substituts osseux. Ces derniers sont de plus en plus utilisés en chirurgie, puisque plus de deux millions de greffes osseuses sont effectuées chaque année dans le monde. L'utilisation des autogreffes constitue le "*gold standard*" mais est associée à une morbidité élevée, à une quantité disponible limitée et à une résorption difficile à anticiper (28). Pour ces raisons, **le développement de substituts osseux par ingénierie tissulaire osseuse** constitue une alternative idéale, basée sur l'association de cellules, d'une matrice ou "*scaffold*" et de stimuli (notamment des facteurs de croissance) qui pourraient agir à la fois sur la différenciation ostéogénique et angiogénique (17). La recherche du substitut osseux idéal est considérée comme la "**quête du Saint Graal**" (29) et nécessite l'utilisation de matériaux biocompatibles, non immunogènes et idéalement d'origine humaine.

### **Les dérivés plaquettaires issus du sang placentaire : une source innovante de facteurs de croissance d'origine humaine**

La régénération des tissus osseux est médiée par de nombreuses protéines de signalisation. De nombreux facteurs de croissance sont impliqués dans l'ostéogénèse et l'angiogénèse. Cependant, ils sont d'un coût élevé, souvent d'origine xénogénique, et présentent un manque de diffusion et une dégradation limitée après injection dans l'organisme. Pour pallier ces

limites, ils sont souvent incorporés dans des systèmes à libération contrôlée (30). Les **systèmes à libération contrôlée** n'encapsulent la plupart du temps qu'un ou deux facteurs de croissance. Le “*scaffold*” idéal devrait contenir et libérer progressivement les molécules bioactives nécessaires à la stimulation de la différenciation et de la maturation cellulaires. Il serait très intéressant d'utiliser des molécules bioactives dérivées d'une source naturelle humaine et de coût réduit. Les plaquettes sanguines pourraient représenter cette source originale. En effet, les **dérivés plaquettaires** sont le plus souvent des concentrés de plaquettes riches en divers facteurs de croissance, notamment le *Vascular Endothelial Growth Factor* (VEGF), le *Platelet Derived Growth Factor* (PDGF), le *Fibroblast Growth Factor* (bFGF) et l'*Epidermal Growth Factor* (EGF), qui jouent un rôle clé dans la réparation et la régénération des tissus (31). Ces facteurs de croissance agissent comme des éléments attracteurs vis-à-vis des cellules et sont des stimulateurs de la prolifération et de la différenciation cellulaires, favorisant ainsi une régénération et une réparation osseuses appropriées (32). Les dérivés plaquettaires peuvent être libérés lentement et de manière continue pendant plus de deux semaines (33). De ce fait, ils pourraient représenter la source idéale de **molécules bioactives pour la régénération osseuse** surtout si ces dérivés sont isolés d'une manière simple et non invasive à partir de sang placentaire où ils se retrouvent en plus grande quantité par rapport au sang périphérique (34). Le **sang placentaire** d'origine humaine est une source intéressante de dérivés plaquettaires. En effet, il est obtenu plus facilement, plus fréquemment, en quantité importante et de façon non invasive par rapport au sang périphérique humain.

L'utilisation de ces dérivés plaquettaires représente la base de mon projet à moyen et long terme.

### **La pulpe dentaire des dents permanentes immatures : un réservoir de CSM humaines pour une application autologue ou allogénique**

De nombreuses cellules peuvent être utilisées pour la cellularisation des “*scaffolds*” en ingénierie tissulaire osseuse. La pulpe dentaire est considérée comme une excellente source non invasive dans les thérapies régénératives allogéniques et autologues. Cette source tissulaire n'induit pas de morbidité au niveau du site de prélèvement et sa facilité d'accès est un grand avantage par rapport aux procédures invasives de prélèvement de CSM notamment à partir de la moelle osseuse (CSM-MO) (35). Les **cellules souches/stromales mésenchymateuses humaines issues de la pulpe dentaire** (CSM-PDh) notamment issues des dents permanentes immatures, ont un privilège immunitaire et des propriétés anti-inflammatoires, qui en font une

source optimale pour les transplantations allogéniques *in vivo* dans le domaine de l'ingénierie des tissus osseux (36). Les CSM-PDh ont un potentiel de prolifération et une capacité à induire une minéralisation plus importants que les CSM-MO (37). Elles ont été utilisées avec succès pour régénérer l'os maxillaire humain ; toutefois, l'os régénéré était entièrement compact (38) ce qui limite son intérêt. Cependant, ces résultats encourageants ont été obtenus en présence de sérum de veau fœtal (SVF), complément nécessaire mais exogène qui pourrait augmenter les risques de réactions immunologiques et de transmission virale (36). Pour éviter d'utiliser ces facteurs de croissance exogènes commerciaux et réduire le coût de la culture cellulaire et de la régénération osseuse, certains auteurs les ont remplacés avec succès par des dérivés plaquettaires et ont d'ailleurs constaté que les dérivés plaquettaires induisaient des taux de prolifération des CSM plus élevés que le SVF (36). Dans ce projet, nous proposons de cultiver ces cellules de pulpe dentaire en présence de dérivés plaquettaires issus du sang placentaire.

Notre construction innovante représentera une avancée majeure dans le domaine de l'ingénierie tissulaire osseuse, notamment en permettant une différenciation angiogénique et ostéogénique simultanée des cellules humaines grâce à l'utilisation de molécules bioactives naturelles. Elle pourrait permettre de pallier certaines limites en médecine régénérative osseuse, notamment dans le cadre de régénération de défauts osseux de grande étendue.

- **Description du projet**

Pour ce faire, deux approches seront envisagées :

- La **première approche** visera à caractériser les dérivés plaquettaires issus du sang placentaire (analyse protéomique) et à les utiliser comme stimulateur lors de l'expansion en monocouche des CSM-PDh.

Dans cette étude, je propose de remplacer le sérum xénogénique par des dérivés plaquettaires issus du sang placentaire et de comparer leurs effets sur la prolifération, l'activité métabolique et les capacités de différenciations angiogénique et ostéogénique des CSM-PDh. Grâce à cette méthode, les cellules ne seront pas soumises à des réactions immunologiques xénogènes et la construction répondra aux exigences des produits de grade clinique implantables. Ces dérivés plaquettaires fourniront l'enrichissement nécessaire au milieu de culture. Les difficultés de stockage et de transport constituant une limite à l'utilisation des dérivés plaquettaires, leur utilisation sous forme lyophilisée pourrait être une alternative, grâce à une meilleure capacité

de stockage des facteurs de croissance, à une meilleure disponibilité, à des coûts réduits et à une meilleure gestion du transport. Les propriétés biologiques des dérivés plaquettaires et la stabilité de ses biofacteurs ne semblent pas être altérées par les processus de lyophilisation. De plus, il a été démontré que les dérivés plaquettaires lyophilisés présentaient un potentiel ostéogénique accru par rapport aux dérivés plaquettaires “frais”, en présence de CSM dérivées des follicules dentaires, de ligaments parodontaux et de cellules osseuses issues de l’os alvéolaire (39). **À notre connaissance, l’effet des dérivés plaquettaires sous forme lyophilisée n’a jamais été évalué sur les CSM-PDh.**

Cette approche sera complétée par un versant immunologique, grâce à une évaluation de l’influence des dérivés plaquettaires sur les propriétés immunitaires des CSM-PDh cultivées en co-culture avec des cellules mononuclées du sang périphérique.

Les résultats de cette étude nous permettront ainsi de mieux connaître la bioactivité des dérivés plaquettaires issus du sang placentaire et leur influence sur la viabilité, les capacités de différenciation ostéogénique et angiogénique et les propriétés immunitaires des CSM-PDs.

- La **deuxième approche** consistera à créer et évaluer un *scaffold* composite enrichi en dérivés plaquettaires issus du sang placentaire etensemencées par des CSM-PDh.

Le choix du biomatériau approprié est l'un des paramètres les plus importants en ingénierie tissulaire osseuse. De nombreuses études ont utilisé du collagène ou de l'alginate sous leur forme soluble puis gélifiée (40) mais **à notre connaissance dans la littérature il n'existe aucune étude sur la combinaison d'éponges de collagène et de gel d'alginate.** Cependant, ces biomatériaux sous forme de gel présentent des propriétés mécaniques insuffisantes. Pour surmonter ces limites, nous avons récemment mis au point un biomatériau composite associant une éponge de collagène à un gel d’alginate enrichi en nanohydroxyapatite dans lequel sontensemencées des CSM-PDh (publication en cours de rédaction). Ce substitut original combine les avantages des deux systèmes : d'une part, les propriétés mécaniques optimales des éponges de collagène enrichies en hydroxyapatite et, d'autre part, des conditions de culture tri-dimensionnelles optimales par l’encapsulation des cellules dans un gel d’alginate. Ce substitut osseux prévascularisé a été obtenu après culture en présence de sérum xénogénique.

Dans ce nouveau projet de recherche, je souhaite remplacer ce produit xénogénique par des dérivés plaquettaires lyophilisés issus du sang placentaire. Le développement d'une technique

bien définie, sûre et contrôlée pour obtenir et délivrer localement des facteurs de croissance, capables d'agir à la fois sur la différenciation angiogénique et ostéogénique des CSM-PDh, constitue un grand défi. Le gel d'alginate pourrait permettre de maintenir plus longtemps les dérivés plaquettaires dans l'échafaudage et limiter le stress hémodynamique perçu par les cellules (41).

**L'encapsulation des dérivés plaquettaires dans de l'alginate a fait à ce jour l'objet d'une seule étude (42), et l'association à un *scaffold* composite (collagène, hydroxyapatite) n'a pas encore été étudiée.** Les résultats de ce travail permettront de mettre en lumière l'intérêt des dérivés plaquettaires lyophilisés issus du sang placentaire comme alternative aux produits xénogéniques dans l'obtention d'un substitut osseux prévascularisé.

La caractérisation biologique du biomatériau innovant (microscopie électronique à balayage, test de viabilité, test d'activité métabolique, test de différenciation cellulaire) sera associée à une **caractérisation mécanique** (porosimétrie par intrusion de mercure, essais de nanoindentation notamment).

Enfin, je souhaite également compléter cette thématique de recherche en y associant des **projets d'expérimentation animale.**

L'étude que je souhaite réaliser vise à valider la biofonctionnalité du substitut osseux dans un modèle de calvaria chez le lapin.

Ce projet s'inscrit donc à long terme puisqu'il sera réalisé une fois la caractérisation biologique et biomécanique du substitut réalisée. Cela me permettra de développer au sein de mon équipe de recherche une expérimentation animale originale, et également de poursuivre les collaborations internationales initiées.

Les paramètres ainsi évalués seront notamment la croissance osseuse et l'établissement d'une néo-vascularisation. Les modèles de calvaria sont relativement simples à mettre en œuvre et de faible coût. Ils sont donc intéressants pour l'évaluation de nouveaux substituts osseux ou pour la comparaison de plusieurs biomatériaux (43).

Ce modèle est plus intéressant que celui réalisé chez le rat car il permet non seulement de tester quatre échantillons simultanément (contrairement à deux chez le rat) mais surtout il permet de réaliser un modèle bicortical (comme chez le rat) mais également un modèle monocortical. Le modèle monocortical permet d'accéder à l'os spongieux sous-jacent et de préserver les

corticales internes. Il permet donc de recréer un modèle d'augmentation osseuse tel que l'on pourrait le pratiquer chez un patient.

L'objectif de cette tâche est donc d'**évaluer *in vivo* les capacités de régénération osseuse et de néovascularisation de notre substitut** grâce à un modèle permettant une standardisation et une calibration optimales. Elle sera réalisée grâce à une collaboration que j'ai établie avec le Dr Stéphane Durual (Division Biomatériaux, Clinique Universitaire de Médecine Dentaire, Genève) qui possède l'expertise nécessaire vis-à-vis de ce modèle animal.

Le recrutement d'un doctorant sera proposé, financé par un contrat doctoral si le candidat est retenu par le pôle BMS/ et l'Ecole Doctorale BioSE.

---

## **Synthèse**

### **Objectifs :**

- Produire *in vitro* un substitut osseux prévascularisé innovant à partir d'un biomatériau composite à base de collagène, d'alginate et d'hydroxyapatite, de CSM-PDh et de dérivés plaquettaires issus de sang placentaire humain, pour des applications autologues et allogéniques en médecine régénérative
- Réaliser la caractérisation biologique et biomécanique de ce substitut
- Validation des capacités de régénération osseuse et de néovascularisation *in vivo* de ce substitut sur un modèle de calvaria de lapin

**Partenaires :** Pr Véronique DECOT (Unité de Thérapie Cellulaire et Banque de Tissus, CHRU Nancy), Pr Stéphane DURUAL (Division Biomatériaux, Clinique Universitaire de Médecine Dentaire, Genève), Dr Jean-Pierre ATTAL (URB2i, EA4462, Paris), Dr Laurent TAPIE (URB2i, EA4462, Paris)

**Etudiant Thèse :** Charlène KICHENBRAND (2016-2020)

**Financement :** PEPS Mirabelle 2017 : 25 000 euros

**Etat du projet :** Nous avons mis en évidence après 28 jours de culture en présence de milieu ostéo-inducteur, la présence de différenciation angiogénique et ostéogénique dans les éponges de collagènes enrichies en alginate et hydroxyapatite etensemencées avec des CSM-PDh. En

effet, les analyses histologiques (Alizarin red, Von Kossa) ont révélé une minéralisation importante et répartie de façon homogène dans l'ensemble de l'éponge. Les marquages en immunohistochimie ont mis en évidence la présence de l'ébauche d'un développement vasculaire grâce à un marquage homogène de CD31 dans l'ensemble de l'éponge.

La caractérisation biomécanique n'a pas encore été réalisée.

---

## 4.2 Projet de recherche clinique

En raison de mon implication dans la prise en charge hospitalière des patients à risque d'endocardite infectieuse (EI) et dans la recherche des interactions entre cavité orale et EI, je compte élargir et renforcer mes activités de recherche sur cette thématique en ajoutant une composante pharmacologique.

Depuis plus de 10 ans, je travaille sur ces liens étroits qui m'ont permis d'être investigateur dans une étude cas-témoins multicentrique qui a duré 5 ans (cf liste des publications et recherche clinique (chapitre 3.2.2)).

- **Le contexte, les acquis scientifiques dans le domaine**

L'EI est une pathologie rare mais grave et multifactorielle, nécessitant une prise en charge hospitalière et associée à une morbidité non négligeable (risque important de ré-infection, développement d'une insuffisance cardiaque) et une mortalité importante de 20% (40% à 5 ans) (44). Son traitement nécessite une antibiothérapie prolongée à fortes doses, et une chirurgie est nécessaire dans 50% des cas (44). Cette pathologie se caractérise par une inflammation de l'endocarde (tunique interne de la paroi des valves cardiaques), induite le plus souvent par une ou des bactéries (45). Dans les conditions physiologiques, l'endothélium (principal constituant de l'endocarde) est en général capable de résister à une colonisation bactérienne (46). Des pathologies cardiaques préexistantes comme les cardiopathies congénitales cyanogènes, la présence de valves défectueuses, ou une chirurgie cardiaque peuvent avoir altérées l'endothélium ce qui peut induire une agrégation plaquettaire qui favorisera l'adhésion d'agents pathogènes au niveau des valves et la survenue de l'endocardite (47). La présence d'un terrain cardiaque prédisposant majore donc le risque d'EI.

Il a été démontré que tout acte invasif, en particulier dentaire, pouvait induire une bactériémie transitoire, avec une intensité et une fréquence différentes selon le geste (48). L'avulsion

dentaire serait le geste le plus à risque avec une probabilité de bactériémie avoisinant les 80%. Environ un tiers des EI aurait une porte d'entrée orale, avec pour germes les plus fréquents *les streptocoques oraux* (49–51). Selon les dernières recommandations de la société européenne de cardiologie en 2015, la prophylaxie n'est indiquée que chez les patients à haut risque d'EI, pour des actes dentaires manipulant la gencive ou la région péri-apicale, ou impliquant une perforation de la muqueuse orale (52). Elles reposent cependant sur un niveau de preuve bas. L'intérêt et l'efficacité de cette prophylaxie (amoxicilline en l'absence de contre-indications) ne cessent d'être débattus et font l'objet de nombreuses études. D'autant plus, que le risque induit par un geste dentaire invasif ne serait pas plus élevé par rapport à un geste quotidien (brossage dentaire, mastication...) (53,54) et qu'il a été mis en évidence l'émergence d'une résistance à l'amoxicilline au niveau de la flore buccale. Une étude coréenne de plus de 1000 patients a en effet révélé que seulement 63,8% des streptocoques isolés étaient sensibles à l'amoxicilline (55).

Une appréciation des déterminants pharmacocinétiques et pharmacodynamiques (paramètres PK/PD) de l'amoxicilline pourrait permettre un dosage plus adapté, améliorer l'efficacité chez les patients tout en limitant l'extension de la résistance aux antibiotiques. En effet, cette évaluation permettrait de vérifier si les concentrations circulantes en amoxicilline sont suffisamment efficaces au regard des germes présents. Très peu d'études pharmacocinétiques ont été publiées et celles disponibles sont des études expérimentales utilisant des modèles animaux (56,57) ou incluant des échantillons de patients sains (58,59). De plus, les patients à haut risque d'EI sont des patients le plus souvent fragiles ayant un âge avancé (âge moyen : 60.8 ans), et présentant souvent des comorbidités (35.5%), un diabète (18.1%), une insuffisance rénale (1.9%) (60), ce qui pourrait avoir un impact éventuel sur la nature et/ou la sensibilité des germes rencontrés et/ou sur la pharmacocinétique de l'amoxicilline. A notre connaissance, **la concentration minimale d'inhibition (CMI) des germes retrouvés lors des bactériémies induites pas les gestes dentaires n'a jamais été mise en parallèle avec la concentration sérique en antibiotiques.**

- **Description du projet**

En se basant sur toutes ces données, et en considérant que le profil microbiologique de l'endocardite peut présenter des disparités régionales, je propose de conduire une étude observationnelle, dans un premier temps monocentrique, dans le service d'Odontologie du CHRU de Nancy-Brabois dans le but de mieux comprendre le profil pharmacocinétique, de

l'amoxicilline utilisée lors des actes dentaires invasifs chez les patients à haut risque d'EI (ne présentant pas d'allergie à ce produit).

Ce projet réunit toutes les compétences nécessaires incluant chirurgien-dentiste, pharmacien, cardiologue et méthodologiste. Il a déjà été enregistré au niveau de la Direction de la Recherche Clinique et de l'Innovation (DRCI) et discuté en réunion CCI (Cellule de Coordination et d'Interface).

La capacité de recrutement évaluée est de 3 à 6 patients par mois. Une durée de recrutement de 18 mois permettra de recruter 50 patients, avec une marge d'erreur confortable.

La cible PK/PD sera définie comme une concentration d'amoxicilline supérieure à 4x la CMI correspondant aux valeurs critiques (*breakpoints*) définies par le Comité européen sur les tests de sensibilité aux antimicrobiens (EUCAST). Pour les streptocoques oraux, les valeurs critiques cliniques rapportées pour l'amoxicilline sont de 0,5 mg/l et 2,0 mg/l pour les isolats sensibles et résistants, respectivement (EUCAST. 2020. *Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters, version 10.0. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing, Copenhagen, Denmark. <http://www.eucast.org>*). La concentration en amoxicilline devra rester supérieure à 4xCMI pendant toute la durée du geste invasif. Les résultats de ce travail permettront de mettre en lumière le pourcentage de patients qui atteindront l'objectif PK/PD entre les points T3 et T4 (Figure 1). Une appréciation des paramètres PK/PD de l'amoxicilline réalisée au sein d'une population de patients à haut risque d'EI pourra donc permettre d'évaluer si sa concentration sérique est optimale par rapport à la concentration minimale inhibitrice des principaux germes oraux responsables de l'EI chez ces sujets et ainsi de déterminer si l'antibioprophylaxie actuellement recommandée chez ces patients est adaptée d'un point de vue PK/PD.

Au-delà de l'aspect descriptif de ce travail, nous souhaitons également avoir des éléments de discussion quant à une éventuelle adaptation des modalités de prescriptions actuelles de l'antibioprophylaxie.

## **Synthèse**

### **Objectifs :**

- Évaluation du profil microbiologique de la bactériémie induite par un geste dentaire.
- Déterminer la concentration sérique d'antibiotiques lors de la réalisation de soins dentaires à risque chez des patients à haut risque d'EI.
- Analyser la pharmacocinétique de l'amoxicilline utilisée en antibioprofylaxie chez les patients à haut risque d'EI devant subir des gestes dentaires invasifs.
- Déterminer si la posologie d'amoxicilline actuellement recommandée pour l'antibioprofylaxie de l'EI chez les patients à haut risque devant subir un acte dentaire invasif, permet d'atteindre des concentrations sériques efficaces d'amoxicilline contre les principaux germes oraux responsables de l'EI.

**Partenaires :** Dr Julien SCALA-BERTOLA (Service de Pharmacologie clinique et Toxicologie, CHRU Nancy), Dr Christine SUTY-SELTON (cardiologie, CHRU Nancy), Pr Nelly AGRINIER (CIC-EC, CHRU Nancy), Association pour l'étude et la prévention de l'Endocardite Infectieuse (AEPEI).

**Étudiant SIR :** Clément TONDON (2019-2020)

**Étudiant M2 :** Clément TONDON (2021-2022)

**Financements :** Contrat de Programme de Recherche Clinique (CPRC) (porteur : Vanessa Moby) (les demandes seront déposées au cours de l'année 2021 en fonction des appels d'offres)

**Etat du Projet :** Ce projet a permis le co-encadrement d'un étudiant en 6<sup>ème</sup> année de médecine, pour la réalisation de son stage d'initiation à la recherche. Son stage a été valorisé par le dépôt d'un protocole de recherche interventionnelle de catégorie 2 auprès de la direction de la recherche clinique et de l'innovation (DRCI). Cet étudiant réalisera en 2021-2022 un Master 2 Recherche dans le prolongement de son SIR. Ce protocole, ayant été classé RIPH2, nécessitera le travail en binôme avec un méthodologiste.

---

Ce projet évoluera à moyen et long terme en un projet de recherche non plus monocentrique mais polycentrique et nationale, afin de tenir compte des éventuelles disparités régionales.

## 5. PUBLICATIONS

### Cinq Publications internationales principales

1. Kichenbrand C, Grossin L, Menu P, **Moby V.** (2020). Behaviour of human dental pulp stem cell in high glucose condition: impact on proliferation and osteogenic differentiation. *Arch Oral Biol*, 118:104859. doi:10.1016/j.archoralbio.2020.104859. (IF=1.931)
2. Kichenbrand C, Velot E, Menu P, **Moby V.** (2019). Dental Pulp Stem Cell-Derived Conditioned Medium: An Attractive Alternative for Regenerative Therapy. *Tissue Eng Part B Rev*, 25(1):78-88. doi: 10.1089/ten.TEB.2018.0168. (IF=6.512)
3. Willemin AS, Zhang G, Velot E, Bianchi A, Decot V, Rousseau M, Gillet P, **Moby V.** (2019). The effect of nacre extract on cord blood-derived endothelial progenitor cells: A natural stimulus to promote angiogenesis? *J Biomed Mater Res Part A*, 107(7):1406-1413. doi:10.1002/jbm.a.36655. (IF=3.221)
4. **Moby V.**, Labrude P, Kadi A, Bordenave L, Stoltz JF, Menu P. (2011). Polyelectrolyte multilayer film and human mesenchymal stem cells: an attractive alternative in vascular engineering applications. *J Biomed Mater Res A*, 96(2):313-319. doi: 10.1002/jbm.a.32981. (IF=2.625)
5. **Moby V.**, Boura C, Kerdjoudj H, Voegel JC, Marchal L, Dumas D, Schaaf P, Stoltz JF, Menu P. (2007). (Poly(styrene Sulfonate)/Poly(allylamine)) Multilayers: A route to favor Endothelial Cell Growth on ePTFE Vascular Grafts. *Biomacromolecules*, 8: 2156-2160. doi: 10.1021/bm070348n. (IF=4.169)

### Publications dans des revues internationales avec comité de lecture

6. Zhang G, Brion A, Willemin AS, Piet MH, **Moby V.**, Bianchi A, Mainard D, Galois L, Gillet P, Rousseau M. (2017). Nacre, a natural, multi-use, and timely biomaterial for bone graft substitution. *J Biomed Mater Res Part A*, 105(2):662-671. doi: 10.1002/jbm.a.35939.
7. Duval X, Millot S, **Moby V\***, Chirouze C\*, Selton-Suty C\*, Tattevin P, Strady C, Euvrard E, Agrinier N, Thomas D, Hoen B, Alla F. (2018). Reply to Raoult. *Clin Infect Dis*, 66(6):982-983. doi: 10.1093/cid/cix928.
8. Duval X, Millot S, **Moby V\***, Chirouze C\*, Selton-Suty C\*, Tattevin P, Strady C, Euvrard E, Agrinier N, Thomas D, Hoen B, Alla F. (2017). Oral streptococcal endocarditis is associated with sub-optimal oral hygiene habits and recent dental procedures: a case-control study. *Clin Infect Dis*, 64(12):1678-1685. doi: 10.1093/cid/cix237.
9. Zhang G, Willemin AS, Brion A, Piet M-H, **Moby V.**, Bianchi A, Mainard D, Galois L, Gillet P, Rousseau M. (2016). A new method for the separation and purification of the osteogenic compounds of nacre ethanol soluble matrix. *J Struct Biol*, 196(2):127-137. doi 10.1016/j.jsb.2016.03.016.
10. Brion A\*, Zhang G\*, Dossot M, **Moby V.**, Dumas D, Hupont S, Piet MH, Bianchi A, Mainard D, Galois L, Gillet P, Rousseau M. (2015). Nacre extract restores the mineralization capacity of subchondral osteoarthritis osteoblasts. *J Struct Biol*, 192: 500-509. doi: 10.1016/j.jsb.2015.10.012.
11. Kerdjoudj H, Boura C, **Moby V.**, Montagne K, Schaaf P, Voegel JC, Stoltz JF, Menu P. (2007). Re-endothelialization of human umbilical arteries treated with polyelectrolyte multilayers: a tool for damaged vessels replacement. *Adv Funct Mater*, 17:2667-2673.

### Publications dans des revues internationales sans comité de lecture

12. Willemin AS\*, Dostert G\*, Jouan-Hureaux V, Louis H, Hupont S, Gillet P, Menu P, Decot V, Velot E°, **Moby V°.** (2017). Evaluation of the pro-angiogenic effect of nanoscale extracellular

vesicles derived from human umbilical cord mesenchymal stem cells. *Bio-Med Mater Eng*, 28(S1):S75-S79. doi: 10.3233/BME-171626.

13. Kadi A, de Isla N, **Moby V**, Lacolley P, Labrude P, Stoltz JF, Menu P. (2014). The Nebivolol action on vascular tone is dependent on actin cytoskeleton polymerization and Rho-A activity into ECs and SMCs. *Clin Hemorheol Microcirc*, 56:231-246. doi: 10.3233/CH-131718.
14. **Moby V**, Kadi A, de Isla N, Stoltz JF, Menu P. (2008). Polyelectrolyte multilayer films: Effect of the initial anchoring layer on the growth of mesenchymal stem cells. *Bio-Med Mater Eng*, 18: 199-204.
15. Kadi A, **Moby V**, de Isla N, Lacolley P, Menu P, Stoltz JF. (2008). Signalling transduction pathways implicated in Nebivolol-induced NO production in endothelial cells. *Bio-Med Mater Eng*, 18: 303-307.
16. **Moby V\***, Kerdjoudj H\*, Berthelemy N, Gentils M, Boura C, Bordenave L, Stoltz JF, Menu P. (2007). The ideal small arterial substitute: role of cell seeding and tissue engineering. *Clin Hemorheol Microcirc*, 37: 89-98.
17. Boura C, Kerdjoudj H, **Moby V**, Vautier D, Dumas D, Schaaf P, Voegel JC, Stoltz JF, Menu P. (2006). Initial adhesion of endothelial cells on polyelectrolyte multilayer films. *Bio-Med Mater Eng*, 16: 115-121.

### Soumises

18. **Moby V**, Millot S, Suty-Selton C, Erpelding ML, Hoen B, Alla F, Duval X. A multicenter study on oral health and care in patients with infective endocarditis. *Heart* (IF=5,213)

### Publications de chapitres dans des ouvrages scientifiques et/ou dans des comptes/rendus de congrès

Dostert G, Mesure B, **Moby V**, Jouan-Hureau V, Louis H, Motorine I, Menu P, Decot V, Velot E. (2016). Evaluation of the CD73 transfer into NK cells by exosomes derived from Wharton's jelly mesenchymal stem cells and its immunomodulatory effect. *Hum Gene Ther*, 27(11), A67.

Kerdjoudj H, Boura C, **Moby V**, Marchal L, Dumas D, Voegel JC, Stoltz JF, Menu P. (2005). Interest of polyelectrolyte multilayer thin films in tissue engineering: application to vascular allograft. *J Biomed Eng*, 22: 116-117.

Boura C, Kerdjoudj H, **Moby V**, Schaaf P, Voegel JC, Stoltz JF, Menu P. (2005). Potential use of polyelectrolyte multilayer thin films in vasculat tissue engineering: evaluation of the viability and adhesion of endothelial cells. *J Biomed Eng*, 22:117-118.

### Brevet Français

« Procédé de prolifération de cellules sur des multicouches de polyélectrolytes et son application, notamment à la préparation de biomatériaux cellularisés »

Inventeurs : Menu P, Kerdjoudj H, Boura C, **Moby V**, Berthelemy N, Voegel JC, Schaaf P, Stoltz JF. Date de dépôt : 18 juin 2007. Référence : 07/04313.

### Articles dans des revues nationales avec comité de lecture

**Moby V**, Durual S. (2020). L'ostéoblaste : tout ce que vous avez toujours voulu savoir sans jamais oser le demander. *Biomatériaux Dentaires Cliniques*, 5(2):8-12.

Canceill T, Campana SC, Blasco-Baque V, Monsarrat P, Kichenbrand C, Joniot S, Cazalbou S, **Moby V.** (2020). Les concentrés plaquettaires en chirurgie orale : quand la biologie et les matériaux ne font qu'un. *Biomatériaux Dentaires Cliniques*, 5(1):18-25.

Canceill T, Kichenbrand C, Joniot S, **Moby V.** (2019). Les substituts osseux en odontologie. Partie II : Classification des substituts osseux. *Biomatériaux Dentaires Cliniques*, 4(2):42-47.

Canceill T, Kichenbrand C, Joniot S, **Moby V.** (2018). Les substituts osseux en odontologie. Partie 1-Structure du tissu osseux, définition des substituts osseux, cahier des charges. *Biomatériaux Dentaires Cliniques*, 3(1):46-51.

### **Communications orales dans un congrès international ou national**

Willemin A, Zhang G, Bianchi A, Rousseau M, Fleutot S, Cleymand E, Arab-tehrany E, Velot E, Gillet P, **Moby V.** (2017). Nacre active compounds and chitosan scaffold for the development of an innovative bone substitute. Congrès de la Société Francophone des Biomateriaux Dentaires (SFBD), Paris, France.

Dostert G, Mesure B, **Moby V.**, Jouan-Hureau V, Louis H, Motorine I, Menu P, Decot V, Velot E. (2016). Evaluation of the CD73 transfer into NK cells by exosomes derived from Wharton's jelly mesenchymal stem cells and its immunomodulatory effect. ISEV International society of extracellular vesicles, Rotterdam, Pays-Bas.

Zhang G, Brion A, Piet M-H, **Moby V.**, Bianchi A, Mainard D, Galois L, Aubriet F, Carre V, Gillet P. (2016). Cationic nacre ethanol soluble matrix has an osteoanabolic effect on human subchondral osteoarthritic osteoblasts and MC3T3-E1 cell line. 43rd Annual European Calcified Tissue Society Congress, Rome, Italie.

Zhang G, Brion A, Piet MH, **Moby V.**, Bianchi A, Dossot M, Mainard D, Galois L, Aubriet F, Carre V, Gillet P, Rousseau M. (2015). A new method for the purification and identification of the nacre ethanol soluble matrix. XIII<sup>th</sup> International Symposium on Biomineralization, Grenade, Espagne.

Willemin AS, Fleutot S, Boudemagh D, Velot E, Decot V, Gillet P, Arab-Tehrany E, Cleymand F, Rousseau M, **Moby V.** (2015). A new alternative in bone regeneration: combination of chitosan/hydroxyapatite scaffold, nacre compounds and stem cells. 17<sup>èmes</sup> Journées Françaises de Biologie des Tissus Minéralisés. Clermont-Ferrand, France.

Zhang G, Brion A, Piet MH, **Moby V.**, Bianchi A, Dossot M, Mainard D, Galois L, Aubriet F, Carre V, Gillet P, Rousseau M. (2015). Separation and identification of the osteogenic compounds of nacre using ion-exchange resin associated with a mineralization cell model. 17<sup>èmes</sup> Journées Françaises de Biologie des Tissus Minéralisés. 4-6 février 2015, Clermont-Ferrand, France.

Velot E, Dostert G, **Moby V.**, Decot V, Menu P. (2014). Exosomes: when nanoscale vesicles serve a broad range of therapeutic possibilities. SFNano 1<sup>st</sup> Annual Meeting in collaboration with NanoSMS, Nancy, France.

Willemin AS, Brion A, Velot E, Decot V, Gillet P, **Moby V.**, Rousseau M. (2014). Effets des principes actifs issus de la nacre sur la différenciation angiogénique des cellules progénitrices endothéliales et sur la différenciation ostéogénique des cellules souches mésenchymateuses. Journées de la FR, Nancy, France.

Brion A, Zhang G, Piet MH, **Moby V.**, Bianchi A, Dossot M, Mainard D, Galois L, Gillet P, Rousseau M. (2014). Pro-osteogenic properties of nacre powder and extract on three cell lines,

bone marrow mesenchymal stem cells, primary human osteoblasts and MC3T3-E1 cell line. The EC FP7 Cost Action TD0903 on biomineralization, Grenade, Espagne.

Brion A, **Moby V**, Piet MH, Gillet P, Rousseau M. (2013). Nacre: a bioactive biomaterial for bone tissue engineering. 3<sup>rd</sup> Cartilage Net Meeting, Nancy, France.

**Moby V**, Brion A, Piet MH, Gillet P, Rousseau M. (2013). Nacre: a bioactive biomaterial for bone tissue engineering. Symposium Chine, meeting satellite des 8<sup>èmes</sup> journées scientifiques du Pole Lorrain d'Ingénierie du Cartilage, Nancy, France.

**Moby V**, Bravetti P, Droz D, Strazielle C. (2004). Évaluation et prise en charge de l'anxiété lors des avulsions dentaires en odontologie chirurgicale chez l'enfant : étude sur 40 enfants. 47<sup>e</sup> journées de la Société francophone de Médecine Buccale et de Chirurgie Buccale, Montpellier, France.

## Séminaires

**Moby V**. (2021). Les principales technologies et matériaux utilisés en impression 3D en Odontologie. Séminaire « CAO et impression 3D : nouvelles technologies au service de la clinique », étudiants T1, Faculté d'Odontologie de Paris, visioconférence.

**Moby V**, Canceill T. (2021). Les dérivés plaquettaires. Journées d'hiver de la Société Francophone des Biomateriaux Dentaires, visioconférence.

Kichenbrand C, Menu P, **Moby V**. (2018). Combined use of mesenchymal stem cells from dental pulp tissue (DPSCs) and natural coating surface from Wharton's jelly-extracellular matrix: benefits and promises in bone tissue engineering. Journées de l'Ecole Doctorale, Nancy, France.

**Moby V**. (2018). Endocardites à Streptocoques oraux, habitudes d'hygiène orale, actes dentaires récents : étude cas-contrôles. Journée de formation continue de la faculté d'Odontologie, Nancy, France.

**Moby V**, Boura C, Kerdjoudj H, Voegel JC, Marchal L, Dumas D, Schaaf P, Stoltz JF, Menu P. (2007). Amélioration de l'adhésion et de la croissance des cellules endothéliales sur du PTFEe modifié par un film multicouches de polyélectrolytes. Journée Pharma-Recherche, Nancy, France.

**Moby V**, Boura C, Kerdjoudj H, Voegel JC, Marchal L, Dumas D, Schaaf P, Stoltz JF, Menu P. (2006). Comportement des cellules endothéliales ensemencées sur du PTFEe fonctionnalisé par un film multicouches de polyélectrolytes. Journées de la Recherche en Odontologie, Nancy, France.

## Présentations sous forme de panneau affiché lors de congrès nationaux et internationaux

Mesure B, Dostert G, **Moby V**, Jouan-Hureau V, Louis H, Motorine I, Menu P, Decot V, Velot E. (2016). Evaluation of the CD73 transfer into NK cells by exosomes derived from Wharton's jelly mesenchymal stem cells and its immunomodulatory effect. Congrès de l'European Society for Gene and Cell Therapy (ESGCT). «Changing the Face of Modern Medicine: Stem Cells and Gene Therapy», Florence (Italie).

Willemin AS, Fleutot S, Velot E, Ferry O, Gillet P, Cleymand F, Rousseau M, **Moby V**. (2015). Nacre active compounds, stem cells and chitosan/hydroxyapatite hydrogel: a synergic combination for bone tissue engineering. XIII<sup>th</sup> International Symposium on Biomineralization, Grenade, Espagne.

Willemin AS, Fleutot S, Boudemagh D, Velot E, Decot V, Gillet P, Arab-Tehrany E, Cleymand F, Rousseau M, **Moby V**. (2015). Development of a new functional bone substitute: nacre active compounds in combination with chitosan/hydroxyapatite nanoparticles scaffold and stem cells. European Materials Research Society Spring Meeting. Lille, France.

Willemin AS, Fleutot S, Boudemagh D, Velot E, Decot V, Gillet P, Arab-Tehrany E, Cleymand F, Rousseau M, **Moby V**. (2014). Development of a new functional bone substitute: nacre active compounds in combination with chitosan/hydroxyapatite nanoparticles scaffold and stem cells. SFNano, 1st annual meeting, Nancy, France.

Willemin AS, Fleutot S, Boudemagh D, Velot E, Decot V, Gillet P, Arab-Tehrany E, Cleymand F, Rousseau M, **Moby V**. (2014). Combining chitosan/hydroxyapatite scaffold, nacre active compounds and stem cells to develop functional bone substitute. Symposium "Architected biomaterials, Medical and Tissue Engineering", Ambassade de France à Berlin, Allemagne.

Brion A, Zhang G, Piet MH, **Moby V**, Bianchi A, Dossot M, Mainard D, Galois L, Gillet P, Rousseau M. (2014). Pro-osteogenic properties of nacre extract primary human osteoblasts and MC3T3-E1 cell line. 41st European Calcified Tissue Society Congress, Prague, République Tchèque.

**Moby V**, Stoltz JF, Menu P. (2008). Multilayer film and endothelial cells: two complementary compounds necessary to the autologous endothelialization of ePTFE synthetic vascular prostheses. ISACB 11<sup>th</sup> Biennial meeting, Bordeaux, France.

Kerdjoudj H, **Moby V**, Berthelemy N, Voegel JC, Menu P, Stoltz JF. (2008). Use of Polyelectrolyte Films in Vascular Tissue Engineering. Summer Bioengineering Conference, Floride, USA.

**Moby V**, Kadi A, de Isla N, Stoltz JF, Menu P. (2007). Polyelectrolyte multilayer films: Effect of the initial anchoring layer on the growth of mesenchymal stem cells. 4<sup>ème</sup> Séminaire École doctorale BIOSE "Bioingénierie et Biothérapies", Nancy, France.

Kadi A, **Moby V**, de Isla N, Stoltz J.F, Menu P. (2007). Nitric oxide production in Human Endothelial Cells in Response to Shear Stress Stimulation and/or  $\beta 1$  Adrenergic Receptor Antagonist. 4<sup>ème</sup> Séminaire École doctorale BIOSE "Bioingénierie et Biothérapies", Nancy, France.

**Moby V**, Kerdjoudj H, Boura C, Berthelemy N, Marchal L, Voegel JC, Stoltz JF, Menu P. (2006). Improvement of endothelial cells adhesion on vascular substitutes modified with a polyelectrolyte multilayer film. First International Symposium on "Cardiovascular Biology", Prague, République Tchèque.

**Moby V**, Boura C, Kerdjoudj H, Marchal L, Voegel JC, Stoltz JF, Menu P. (2006). Functionalization of ePTFE with a polyelectrolyte multilayer film to improve endothelial cells adhesion. 3<sup>ème</sup> Colloque International en "Ingénierie Médicale et Thérapie", Nancy, France.

Kerdjoudj H, Boura C, Berthelemy N, **Moby V**, Montagne K, Voegel JC, Stoltz JF, Menu P. (2006). Biomechanical properties of re-endothelialized cryopreserved umbilical arteries. 3<sup>ème</sup> Colloque International en "Ingénierie Médicale et Thérapie", Nancy, France.

Boura C, Kerdjoudj H, **Moby V**, Schaaf P, Voegel JC, Stoltz JF, Menu P. (2005). Interest of polyelectrolyte multilayer thin films use in vascular tissue engineering. 2<sup>ème</sup> Colloque international en "Ingénierie Médicale et Thérapie", Nancy, France.

Kerdjoudj H, Boura C, **Moby V**, Dumas D, Marchal L, Voegel JC, Stoltz JF, Menu P. (2005). Potentiel use of polyelectrolyte multilayer thin films in tissue engineering: application to

vascular allograft. 2<sup>ème</sup> Colloque international en “Ingénierie Médicale et Thérapie”, Nancy, France.

Journal	Rang	IF	2006	2007	2008	2011	2014	2015	2016	2017	2018	2019	2020	Points SIGAPS
<i>Bio-Med Mater Eng</i>	E	0.922	3											4
<i>Biomacromolecules</i>	B	4.169		1										
<i>Clin Hemorheol Microcirc</i>	E	0.977		1										30
<i>Bio-Med Mater Eng</i>	E	0.446			2									
<i>Bio-Med Mater Eng</i>	E	0.446			1									14
<i>J Biomed Mater Res A</i>	C	2.625				1								16
<i>Clin Hemorheol Microcirc</i>	D	2.242					3							6
<i>J Struct Biol</i>	D	2.57						3						3
<i>J Struct Biol</i>	D	2.767							5					3
<i>Clin Infect Dis</i>	A	9.117								3				
<i>J Biomed Mater Res A</i>	C	3.231								5				18
<i>Bio-Med Mater Eng</i>	E	0.872									D			
<i>Clin Infect Dis</i>	A	9.055									3			8
<i>Tissue Eng Part B Rev</i>	B	6.512										D		
<i>J Biomed Mater Res A</i>	C	3.221										D		40
<i>Arch Oral Biol</i>	C	1.931											D	16
<b>Total</b>			<b>16 publications</b>											<b>158</b>

Tableau 9 : répartition des 158 points SIGAPS au 1<sup>er</sup> avril 2021 (D : dernier auteur)

## 6. BIBLIOGRAPHIE

1. Kerdjoudj H, Moby V, Berthelemy N, Gentils M, Boura C, Bordenave L, et al. The ideal small arterial substitute: Role of cell seeding and tissue engineering. *Clin Hemorheol Microcirc.* 2007;37(1-2):89-98.
2. Leguen E, Chassepot A, Decher G, Schaaf P, Voegel J-C, Jessel N. Bioactive coatings based on polyelectrolyte multilayer architectures functionalized by embedded proteins, peptides or drugs. *Biomol Eng.* 2007;24(1):33-41.
3. Boura C, Kerdjoudj H, Moby V, Vautier D, Dumas D, Schaaf P, et al. Initial adhesion of endothelial cells on polyelectrolyte multilayer films. *Biomed Mater Eng.* 2006;16(4 Suppl):S115-121.
4. Kerdjoudj, H., Boura, C., Moby, V, Montagne, K, Schaaf, P, Voegel, JC, Stoltz, JF, Menu, P. Kerdjoudj, H. Re-endothelialization of human umbilical arteries treated with polyelectrolyte multilayers: a tool for damaged vessels replacement. *Advanced Functional Materials.* 2007;17(15):2667-73.
5. Moby V, Boura C, Kerdjoudj H, Voegel J-C, Marchal L, Dumas D, et al. Poly(styrenesulfonate)/poly(allylamine) multilayers: a route to favor endothelial cell growth on expanded poly(tetrafluoroethylene) vascular grafts. *Biomacromolecules.* 2007;8(7):2156-60.
6. Yamamoto A, Mishima S, Maruyama N, Sumita M. Quantitative evaluation of cell attachment to glass, polystyrene, and fibronectin- or collagen-coated polystyrene by measurement of cell adhesive shear force and cell detachment energy. *J Biomed Mater Res.* 2000;50(2):114-24.
7. Moby V, Kadi A, de Isla N, Stoltz JF, Menu P. Polyelectrolyte multilayer films: effect of the initial anchoring layer on the cell growth. *Biomed Mater Eng.* 2008;18(4-5):199-204.
8. Moby V, Labrude P, Kadi A, Bordenave L, Stoltz JF, Menu P. Polyelectrolyte multilayer film and human mesenchymal stem cells: an attractive alternative in vascular engineering applications. *J Biomed Mater Res A.* 2011;96(2):313-9.
9. Wessells H, Teal TH, Engel K, Sullivan CJ, Gallis B, Tran KB, et al. Fluid shear stress-induced nitric oxide production in human cavernosal endothelial cells: inhibition by hyperglycaemia. *BJU Int.* 2006;97(5):1047-52.
10. Kadi A, Moby V, de Isla N, Lacolley P, Menu P, Stoltz JF. Signalling transduction pathways implicated in Nebivolol-induced NO production in endothelial cells. *Biomed Mater Eng.* 2008;18(4-5):303-7.
11. Maisani M, Ziane S, Ehret C, Levesque L, Siadous R, Le Meins J-F, et al. A new composite hydrogel combining the biological properties of collagen with the mechanical properties of a supramolecular scaffold for bone tissue engineering. *J Tissue Eng Regen Med.* 2018;12(3):e1489-500.
12. Unger RE, Ghanaati S, Orth C, Sartoris A, Barbeck M, Halstenberg S, et al. The rapid anastomosis between prevascularized networks on silk fibroin scaffolds generated in vitro with cocultures of human microvascular endothelial and osteoblast cells and the host vasculature. *Biomaterials.* 2010;31(27):6959-67.
13. Buschmann J, Welti M, Hemmi S, Neuenschwander P, Baltes C, Giovanoli P, et al. Three-dimensional co-cultures of osteoblasts and endothelial cells in DegraPol foam: histological and high-field magnetic resonance imaging analyses of pre-engineered capillary networks in bone grafts. *Tissue Eng Part A.* 2011;17(3-4):291-9.

14. Ghanaati S, Unger RE, Webber MJ, Barbeck M, Orth C, Kirkpatrick JA, et al. Scaffold vascularization in vivo driven by primary human osteoblasts in concert with host inflammatory cells. *Biomaterials*. 2011;32(32):8150-60.
15. Yousefi A-M, James PF, Akbarzadeh R, Subramanian A, Flavin C, Oudadesse H. Prospect of Stem Cells in Bone Tissue Engineering: A Review. *Stem Cells Int*. 2016;2016:6180487.
16. Brion A, Zhang G, Dossot M, Moby V, Dumas D, Hupont S, et al. Nacre extract restores the mineralization capacity of subchondral osteoarthritis osteoblasts. *J Struct Biol*. 2015;192(3):500-9.
17. Willemin A-S, Zhang G, Velot E, Bianchi A, Decot V, Rousseau M, et al. The effect of nacre extract on cord blood-derived endothelial progenitor cells: A natural stimulus to promote angiogenesis? *J Biomed Mater Res A*. 2019;107(7):1406-13.
18. Ratajczak J, Wysoczynski M, Hayek F, Janowska-Wieczorek A, Ratajczak MZ. Membrane-derived microvesicles: important and underappreciated mediators of cell-to-cell communication. *Leukemia*. 2006;20(9):1487-95.
19. Vizoso FJ, Eiro N, Cid S, Schneider J, Perez-Fernandez R. Mesenchymal Stem Cell Secretome: Toward Cell-Free Therapeutic Strategies in Regenerative Medicine. *Int J Mol Sci*. 2017;18(9).
20. Dostert G, Willemin A-S, Jouan-Hureaux V, Louis H, Hupont S, Gillet P, et al. Evaluation of the pro-angiogenic effect of nanoscale extracellular vesicles derived from human umbilical cord mesenchymal stem cells. *Biomed Mater Eng*. 2017;28(s1):S75-9.
21. Arab Tehrani E, Kahn CJF, Baravian C, Maherani B, Belhaj N, Wang X, et al. Elaboration and characterization of nanoliposome made of soya; rapeseed and salmon lecithins: application to cell culture. *Colloids Surf B Biointerfaces*. 2012;95:75-81.
22. Nelson JR, Wani O, May HT, Budoff M. Potential benefits of eicosapentaenoic acid on atherosclerotic plaques. *Vascul Pharmacol*. 2017;91:1-9.
23. Katsara O, Mahaira LG, Iliopoulou EG, Moustaki A, Antsaklis A, Loutradis D, et al. Effects of donor age, gender, and in vitro cellular aging on the phenotypic, functional, and molecular characteristics of mouse bone marrow-derived mesenchymal stem cells. *Stem Cells Dev*. 2011;20(9):1549-61.
24. Mayo V, Sawatari Y, Huang C-YC, Garcia-Godoy F. Neural crest-derived dental stem cells--where we are and where we are going. *J Dent*. 2014;42(9):1043-51.
25. Aurrekoetxea M, Garcia-Gallastegui P, Irastorza I, Luzuriaga J, Uribe-Etxebarria V, Unda F, et al. Dental pulp stem cells as a multifaceted tool for bioengineering and the regeneration of craniomaxillofacial tissues. *Front Physiol*. 2015;6:289.
26. Barachini S, Danti S, Pacini S, D'Alessandro D, Carnicelli V, Trombi L, et al. Plasticity of human dental pulp stromal cells with bioengineering platforms: a versatile tool for regenerative medicine. *Micron*. 2014;67:155-68.
27. Kichenbrand C, Grossin L, Menu P, Moby V. Behaviour of human dental pulp stem cell in high glucose condition: impact on proliferation and osteogenic differentiation. *Arch Oral Biol*. 2020;118:104859.

28. Sakkas A, Ioannis K, Winter K, Schramm A, Wilde F. Clinical results of autologous bone augmentation harvested from the mandibular ramus prior to implant placement. An analysis of 104 cases. *GMS Interdiscip Plast Reconstr Surg DGPW*. 2016;5:Doc21.
29. Cengiz IF, Pereira H, de Girolamo L, Cucchiari M, Espregueira-Mendes J, Reis RL, et al. Orthopaedic regenerative tissue engineering en route to the holy grail: disequilibrium between the demand and the supply in the operating room. *J Exp Orthop*. 2018;5(1):14.
30. Cheng G, Yin C, Tu H, Jiang S, Wang Q, Zhou X, et al. Controlled Co-delivery of Growth Factors through Layer-by-Layer Assembly of Core-Shell Nanofibers for Improving Bone Regeneration. *ACS Nano*. 2019;13(6):6372-82.
31. Choukroun J, Diss A, Simonpieri A, Girard M-O, Schoeffler C, Dohan SL, et al. Platelet-rich fibrin (PRF): a second-generation platelet concentrate. Part IV: clinical effects on tissue healing. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2006;101(3):e56-60.
32. Zhao Y-H, Zhang M, Liu N-X, Lv X, Zhang J, Chen F-M, et al. The combined use of cell sheet fragments of periodontal ligament stem cells and platelet-rich fibrin granules for avulsed tooth reimplantation. *Biomaterials*. 2013;34(22):5506-20.
33. Kazemi D, Shams Asenjan K, Dehdilani N, Parsa H. Canine articular cartilage regeneration using mesenchymal stem cells seeded on platelet rich fibrin: Macroscopic and histological assessments. *Bone Joint Res*. 2017;6(2):98-107.
34. Baba K, Yamazaki Y, Sone Y, Sugimoto Y, Moriyama K, Sugimoto T, et al. An in vitro long-term study of cryopreserved umbilical cord blood-derived platelet-rich plasma containing growth factors-PDGF-BB, TGF- $\beta$ , and VEGF. *J Craniomaxillofac Surg*. 2019;47(4):668-75.
35. Ducret M, Fabre H, Degoult O, Atzeni G, McGuckin C, Forraz N, et al. A standardized procedure to obtain mesenchymal stem/stromal cells from minimally manipulated dental pulp and Wharton's jelly samples. *Bull Group Int Rech Sci Stomatol Odontol*. 2016;53(1):e37.
36. Van Pham P, Phan NK. Production of good manufacturing practice-grade human umbilical cord blood-derived mesenchymal stem cells for therapeutic use. *Methods Mol Biol*. 2015;1283:73-85.
37. Davies OG, Cooper PR, Shelton RM, Smith AJ, Scheven BA. A comparison of the in vitro mineralisation and dentinogenic potential of mesenchymal stem cells derived from adipose tissue, bone marrow and dental pulp. *J Bone Miner Metab*. 2015;33(4):371-82.
38. Giuliani A, Manescu A, Langer M, Rustichelli F, Desiderio V, Paino F, et al. Three years after transplants in human mandibles, histological and in-line holotomography revealed that stem cells regenerated a compact rather than a spongy bone: biological and clinical implications. *Stem Cells Transl Med*. 2013;2(4):316-24.
39. Liu Z, Jin H, Xie Q, Jiang Z, Guo S, Li Y, et al. Controlled Release Strategies for the Combination of Fresh and Lyophilized Platelet-Rich Fibrin on Bone Tissue Regeneration. *Biomed Res Int*. 2019;2019:4923767.
40. Perez RA, Kim M, Kim T-H, Kim J-H, Lee JH, Park J-H, et al. Utilizing core-shell fibrous collagen-alginate hydrogel cell delivery system for bone tissue engineering. *Tissue Eng Part A*. 2014;20(1-2):103-14.
41. Wilson JL, Najia MA, Saeed R, McDevitt TC. Alginate encapsulation parameters influence the differentiation of microencapsulated embryonic stem cell aggregates. *Biotechnol Bioeng*. 2014;111(3):618-31.

42. Fernandes G, Wang C, Yuan X, Liu Z, Dziak R, Yang S. Combination of Controlled Release Platelet-Rich Plasma Alginate Beads and Bone Morphogenetic Protein-2 Genetically Modified Mesenchymal Stem Cells for Bone Regeneration. *J Periodontol.* 2016;87(4):470-80.
43. Marger L, Barone A, Martinelli-Kläy CP, Schaub L, Strasding M, Mekki M, et al. Calvarial Model of Bone Augmentation in Rabbit for Assessment of Bone Growth and Neovascularization in Bone Substitution Materials. *J Vis Exp.* 2019;(150).
44. Murdoch DR, Corey GR, Hoen B, Miró JM, Fowler VG, Bayer AS, et al. Clinical presentation, etiology, and outcome of infective endocarditis in the 21st century: the International Collaboration on Endocarditis-Prospective Cohort Study. *Arch Intern Med.* 2009;169(5):463-73.
45. Holland TL, Baddour LM, Bayer AS, Hoen B, Miro JM, Fowler VG. Infective endocarditis. *Nat Rev Dis Primers.* 2016;2:16059.
46. Iung B, Duval X. Infective endocarditis: innovations in the management of an old disease. *Nat Rev Cardiol.* 2019;16(10):623-35.
47. Klein M, Wang A. Infective Endocarditis. *J Intensive Care Med.* 2016;31(3):151-63.
48. Vincent LL, Otto CM. Infective Endocarditis: Update on Epidemiology, Outcomes, and Management. *Curr Cardiol Rep.* 2018;20(10):86.
49. Olsen I. Update on bacteraemia related to dental procedures. *Transfus Apher Sci.* 2008;39(2):173-8.
50. Maharaj B, Coovadia Y, Vayej AC. An investigation of the frequency of bacteraemia following dental extraction, tooth brushing and chewing. *Cardiovasc J Afr.* 2012;23(6):340-4.
51. Reis LC, Rôças IN, Siqueira JF, de Uzeda M, Lacerda VS, Domingues R, et al. Bacteremia after supragingival scaling and dental extraction: Culture and molecular analyses. *Oral Dis.* 2018;24(4):657-63.
52. Habib G, Lancellotti P, Iung B. 2015 ESC Guidelines on the management of infective endocarditis: a big step forward for an old disease. *Heart.* 2016;102(13):992-4.
53. Lockhart PB, Brennan MT, Sasser HC, Fox PC, Paster BJ, Bahrani-Mougeot FK. Bacteremia associated with toothbrushing and dental extraction. *Circulation.* 2008;117(24):3118-25.
54. Mougeot FKB, Saunders SE, Brennan MT, Lockhart PB. Associations between bacteremia from oral sources and distant-site infections: tooth brushing versus single tooth extraction. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol.* 2015;119(4):430-5.
55. Chun S, Huh HJ, Lee NY. Species-specific difference in antimicrobial susceptibility among viridans group streptococci. *Ann Lab Med.* 2015;35(2):205-11.
56. Fluckiger U, Moreillon P, Blaser J, Bickle M, Glauser MP, Francioli P. Simulation of amoxicillin pharmacokinetics in humans for the prevention of streptococcal endocarditis in rats. *Antimicrob Agents Chemother.* 1994;38(12):2846-9.
57. Glauser MP, Bernard JP, Moreillon P, Francioli P. Successful single-dose amoxicillin prophylaxis against experimental streptococcal endocarditis: evidence for two mechanisms of protection. *J Infect Dis.* 1983;147(3):568-75.

58. Dajani AS, Bawdon RE, Berry MC. Oral Amoxicillin as Prophylaxis for Endocarditis: What Is the Optimal Dose? *Clinical Infectious Diseases*. 1994;18(2):157-60.
59. Paulsen O, Hoglund P, Schalen C. Pharmacokinetic Comparison of Two Models of Endocarditis Prophylaxis with Amoxicillin. *Scandinavian Journal of Infectious Diseases*. 1989;21(6):669-73.
60. Duval X, Millot S, Chirouze C, Selton-Suty C, Moby V, Tattevin P, et al. Oral Streptococcal Endocarditis, Oral Hygiene Habits, and Recent Dental Procedures: A Case-Control Study. *Clin Infect Dis*. 2017;64(12):1678-85.