

# Influence des méthodes de préservation de la membrane amniotique pour la régénération osseuse chez la souris

M. Etchebarne<sup>a</sup>, M. Fénelon<sup>b</sup>, Y. Tores<sup>c</sup>, R. Siadous<sup>c</sup>, A. Gremarre<sup>c</sup>, M. Durand<sup>d</sup>, L. Sentilhes<sup>e</sup>, S. Catros<sup>b</sup>, F. Gindraux<sup>f</sup>, N. L'Heureux<sup>c</sup>, JC. Fricain<sup>b</sup>

<sup>a</sup> Univ. Bordeaux, INSERM, Laboratory BioTis, UMR 1026 / CHU Bordeaux, Service de chirurgie maxillo-faciale, Bordeaux, FRANCE ; <sup>b</sup> Univ. Bordeaux, INSERM, Laboratory BioTis, UMR 1026 / CHU Bordeaux, Département de chirurgie orale, Bordeaux, FRANCE ; <sup>c</sup> Univ. Bordeaux, INSERM, Laboratory BioTis, UMR 1026, Bordeaux, FRANCE ; <sup>d</sup> CHU Bordeaux, CIC 1401, Bordeaux, FRANCE ; <sup>e</sup> CHU Bordeaux, service de gynécologie-obstétrique, Bordeaux, FRANCE ; <sup>f</sup> Nanomedicine Lab, Imagery and Therapeutics (EA 4662) / CHU Besançon, service de chirurgie orthopédique, traumatologique et plastique, Besançon, FRANCE

## INTRODUCTION

### La Membrane Amniotique Humaine (MAH)

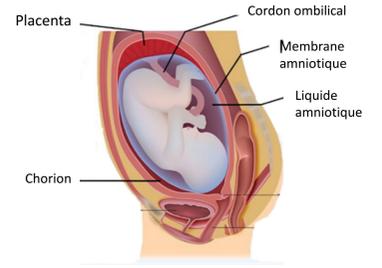
- Utilisée en médecine depuis 1910
- Déchet chirurgicale facile d'accès
- Présente des propriétés anti-inflammatoire, anti-fibrotique ainsi qu'une faible immunogénicité
- Nécessite d'être conservée avant son utilisation pour limiter le risque de transmission d'agent pathogènes

### Plusieurs méthodes de conservation de la MAH sont utilisées en ingénierie tissulaire osseuse :

- La MAH est utilisée fraîche (MAH-F), cryopréservée (MAH-C), lyophilisée (MAH-L) et décellularisée (MAH-D)
- MAH-F et MAH-D augmentent la régénération osseuse chez le rat lors de la réalisation de défauts fémoraux (1)
- MAH-L est utilisée chez l'homme pour traiter les poches parodontales ainsi que les défauts de furcation dentaire (2)

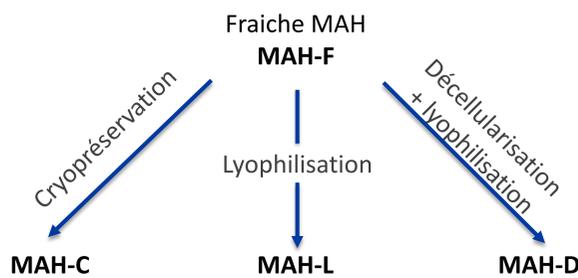
Pendant, aucune étude n'a comparé l'apport de la MAH fraîche versus préservée en régénération osseuse

➔ **Objectif** : Sélectionner la meilleure méthode de préservation de la MAH pour une application en reconstruction osseuse



## MATERIELS & METHODES

### 1) Collection des placentas et conservation de la MAH (3) :



### 2) Etude in vitro de la MAH :

- Analyse histologique : Coloration trichrome de Masson et bleu alcian
- Test de rétention à la suture

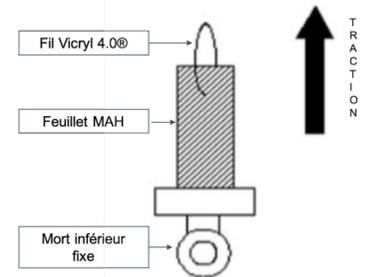


Fig 1. Schématisation du test de rétention à la suture

### 3) Etude in vivo chez la souris de la MAH :

- Défaut fémoral unicortical de 1,3mm de diamètre couvert ou non par de la MAH
- Analyse radiologique par microCT
- Analyse histologique :
  - Evaluation de la régénération osseuse
  - Quantification de la néo-vascularisation

Sacrifice à 1 et 4 semaines



Fig 2. Photographies intervention chirurgicale défaut fémoral unicortical chez la souris

## RESULTATS

### 1) Persistance des fibres de collagènes et des GAG après traitement de la MAH

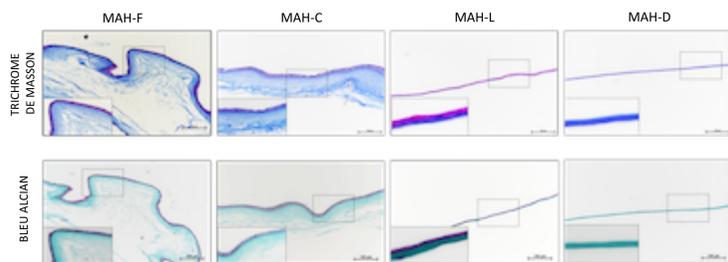


Fig 3. Acquisition des lames de MAH au Microscope NIKON ECLIPSE 80i grossissement x 20 et x 40

### 2) La conservation de la MAH n'altère pas sa résistance à la suture

- Pas de différences significative entre la MAH fraîche, cryopréservée et lyophilisée
- La MAH-D présente une meilleure résistance à la suture que les autres membranes

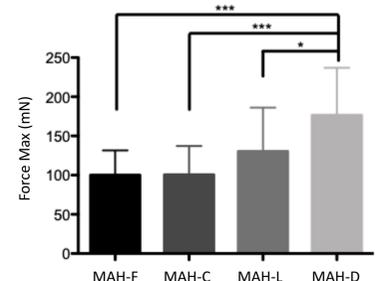


Fig.4 Force maximale exercée sur le fil avant rupture \*p<0.05 et \*\*\* p<0.001

### 3) La MAH décellularisée/lyophilisée augmente la régénération osseuse fémorale chez la souris

#### Micro CT

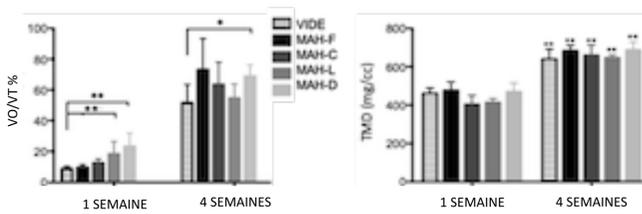
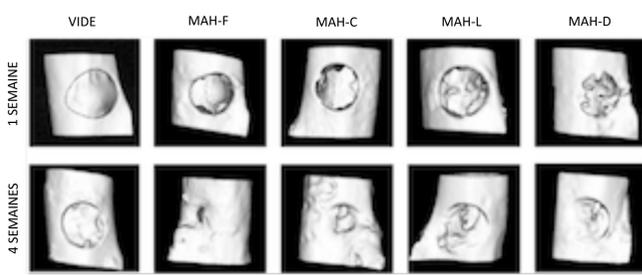


Fig.5 Analyse microCT de la néo-formation osseuse et de la minéralisation chez la souris \*p<0.05 et \*\*p<0.01

#### Histologie : Coloration Trichrome de Masson et HES

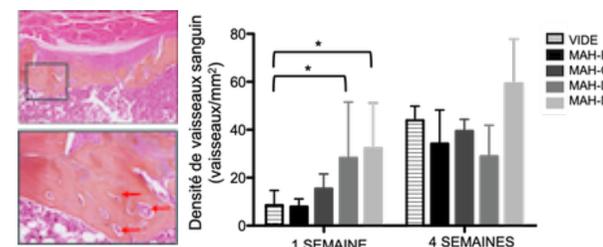
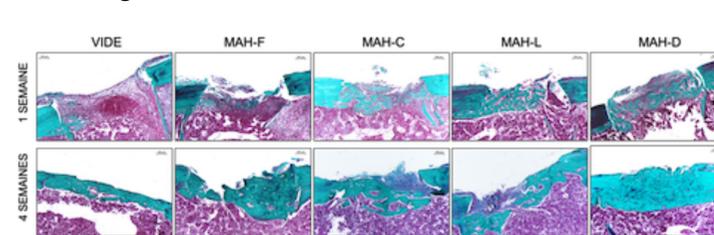
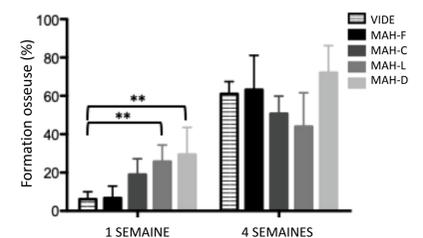


Fig.6 Analyse histologique de la néo-formation osseuse et de la néo-vascularisation chez la souris : coloration Trichrome de Masson et HES \*p<0.05 et \*\*p<0.01



- Concordance des résultats radiologiques et histologiques
- La MAH-D et la MAH-L accélère la régénération osseuse à 1 semaine
- La néo-vascularisation est plus importante en présence de MAH-D et MAH-L à 1 semaine
- A un mois, seule la MAH-D induit une augmentation de la formation osseuse

## DISCUSSION

- La décellularisation/lyophilisation de la MAH semble être la méthode de conservation de choix en régénération osseuse aussi bien sur le plan mécanique que biologique
- Perspective** : Comparer la membrane amniotique décellularisée/lyophilisée à la membrane induite dans un modèle de défaut osseux segmentaire chez le rat

## BIBLIOGRAPHIE

1 Tang K and al. Human acellular amniotic membrane: A potential osteoinductive biomaterial for bone regeneration. Journal of Biomaterials Applications 2018;32:754– 64. doi:10.1177/0885328217739753  
 2 Shah R and al. Amnion membrane for coverage of gingival recession: A novel application. Contemp Clin Dent 2014;5:293–5. doi:10.4103/0976-237X.137900.  
 3 Fenelon M and al. Comparison of the impact of preservation methods on amniotic membrane properties for tissue engineering applications. Materials Science and Engineering: C 2019;104:109903. doi:10.1016/j.msec.2019.109903