



Projet DIAPID

I Talon

Journée Nationale HCD juin 2022



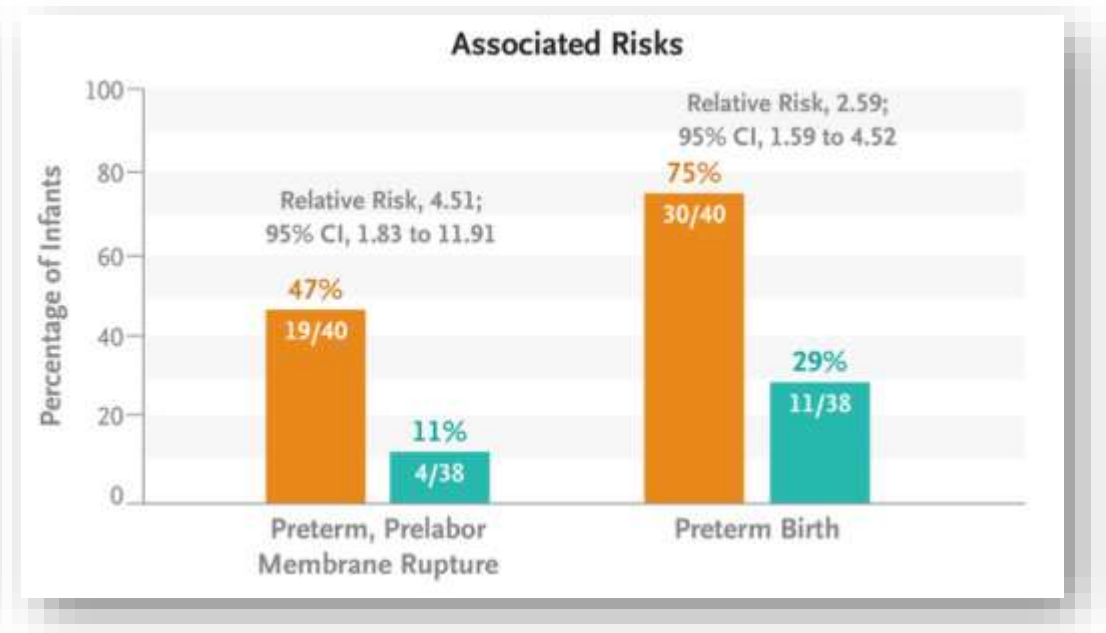
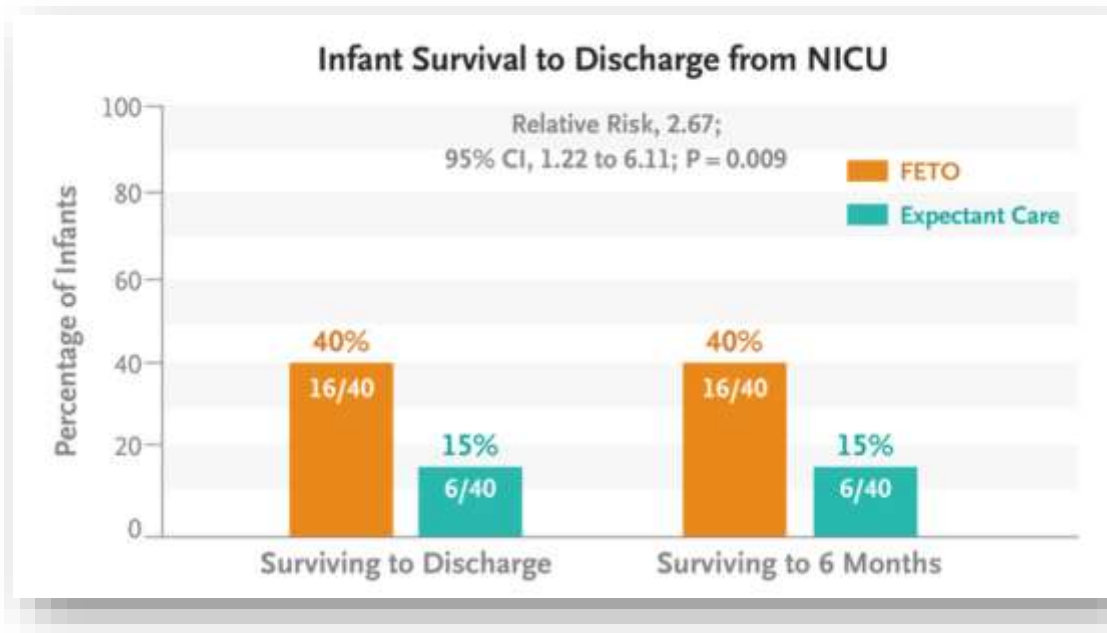
Contexte

July 8, 2021
N Engl J Med 2021; 385:107-118
DOI: 10.1056/NEJMoa2027030

ORIGINAL ARTICLE

Randomized Trial of Fetal Surgery for Severe Left Diaphragmatic Hernia

Jan A. Deprest, M.D., Ph.D., Kypros H. Nicolaides, M.D., Alexandra Benachi, M.D., Ph.D., Eduard Gratacos, M.D., Ph.D., Greg Ryan, M.D., Nicola Persico, M.D., Ph.D., Haruhiko Sago, M.D., Ph.D., Anthony Johnson, M.D., Mirosław Wielgoś, M.D., Ph.D., Christoph Berg, M.D., Ph.D., Ben Van Calster, Ph.D., and Francesca M. Russo, M.D., Ph.D. for the TOTAL Trial for Severe Hypoplasia Investigators*



Contexte



“These allude to:

- 1) high recurrence rates;*
- 2) morbidities arising from lack of growth (chest wall deformities in 50% and scoliosis in 27% of cases); and*
- 3) surgical complications like adhesion-induced small bowel obstruction and intraoperative acidosis in thoracoscopic intervention.[10–16]”*

Contexte



*The two- to threefold cross-sectional expansion of the infant diaphragm sets **specific demands** for application in congenital defects:*

- a) fast integration;*
- b) the ability to adjust to rapid growth; and*
- c) maintenance of regenerative potential through either an innate stem cell pool or provision of optimal survival conditions for native stem cells.[15]*

Establishing a balance between fast degradation and resistance to shear forces and a constant pressure gradient is an additional demand for graft failure prevention.

Premiers travaux

- Analyser les échecs (explants à 7 mois, 9 mois, 5 ans, 10 ans)
- Analyser le e-PTFE :
 - D'un point de vue mécanique
 - D'un point de vue biologique
- Définir un axe de recherche
 - Partir de technologies « intéressantes »
 - Faire différent
- DIAPID 2019... ANR 2021

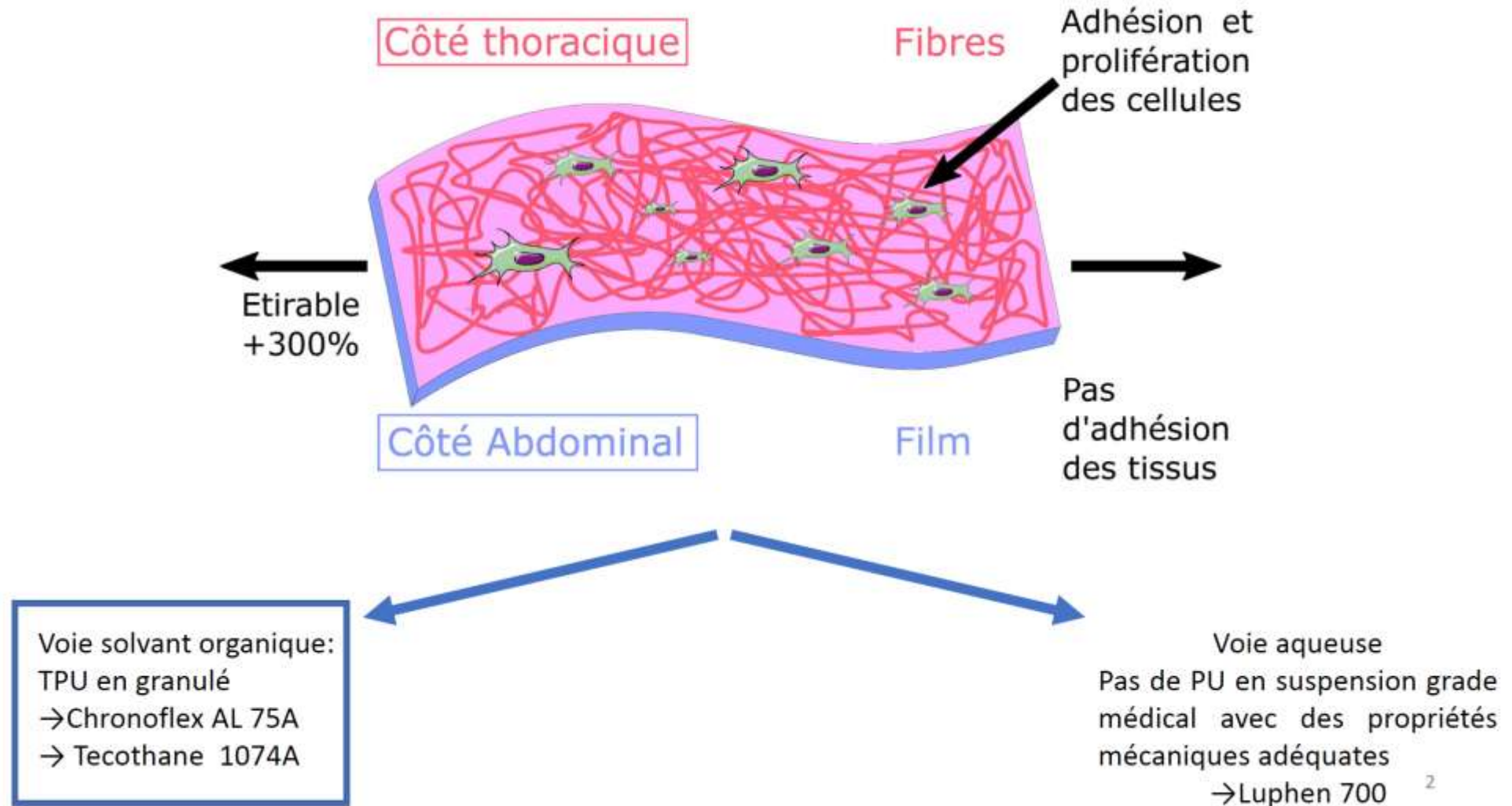
Choix d'une prothèse non résorbable : TPU

Choix d'une technique : électrospinning

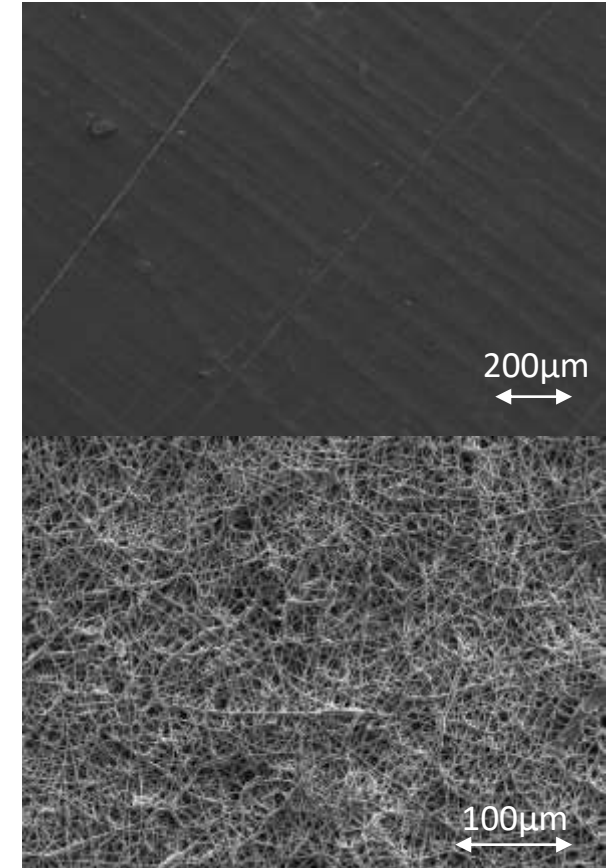
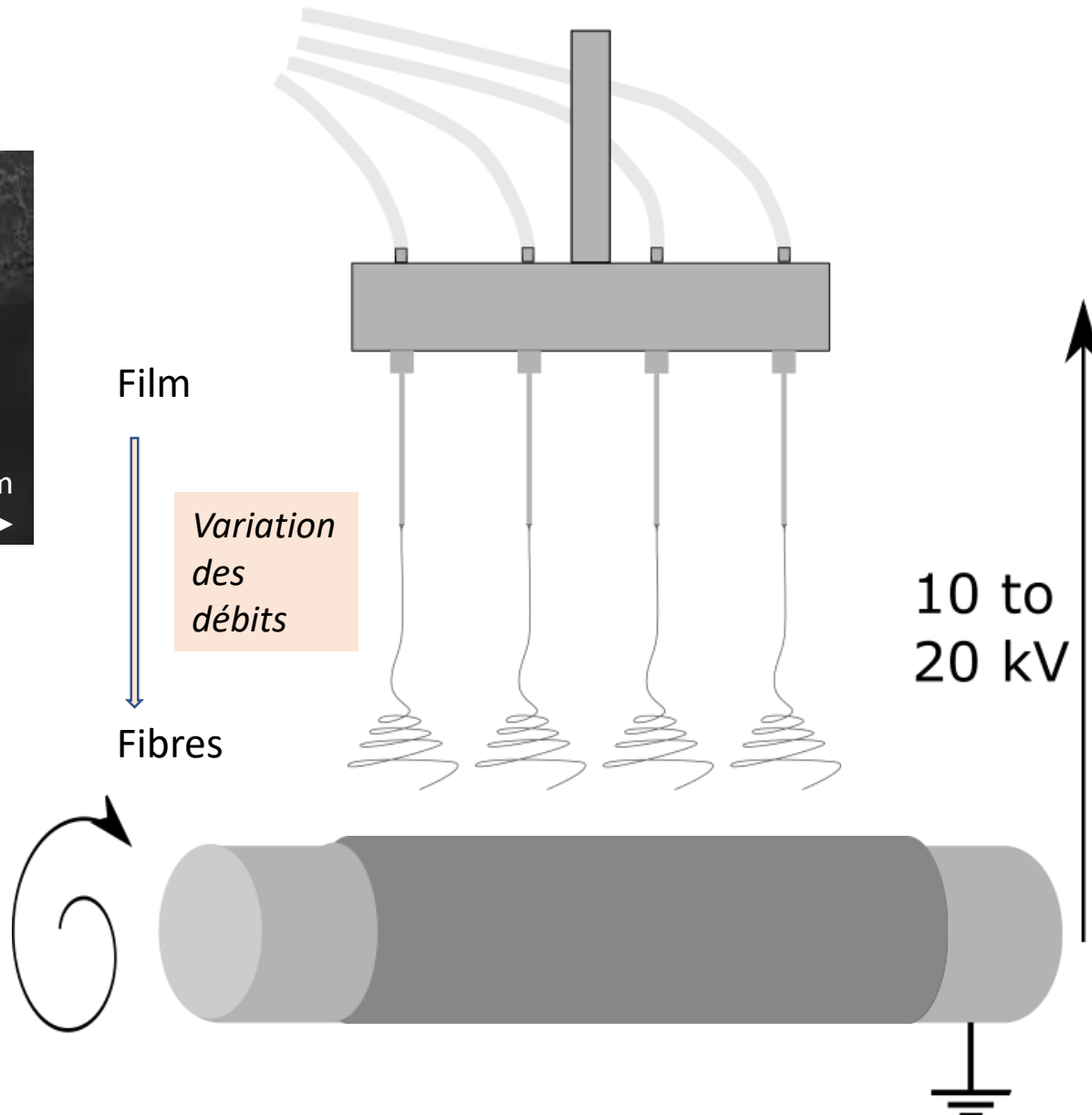
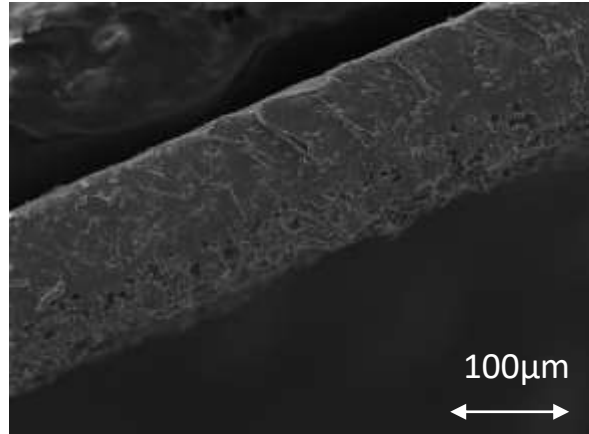
Choix de voies d'optimisation



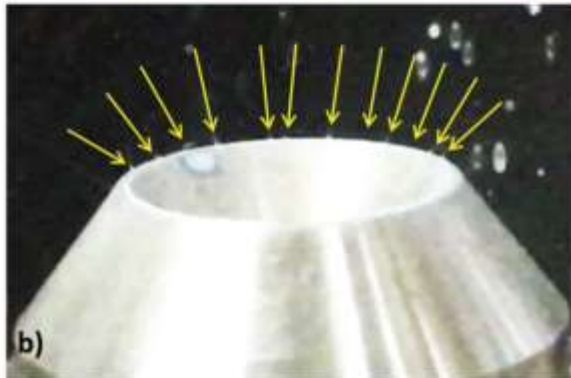
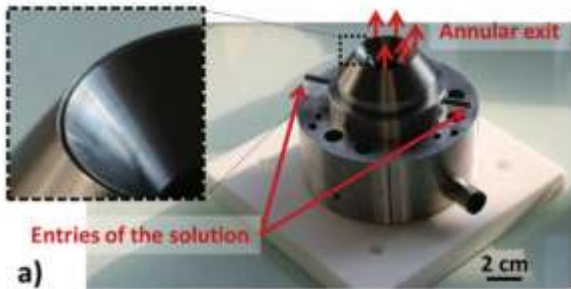
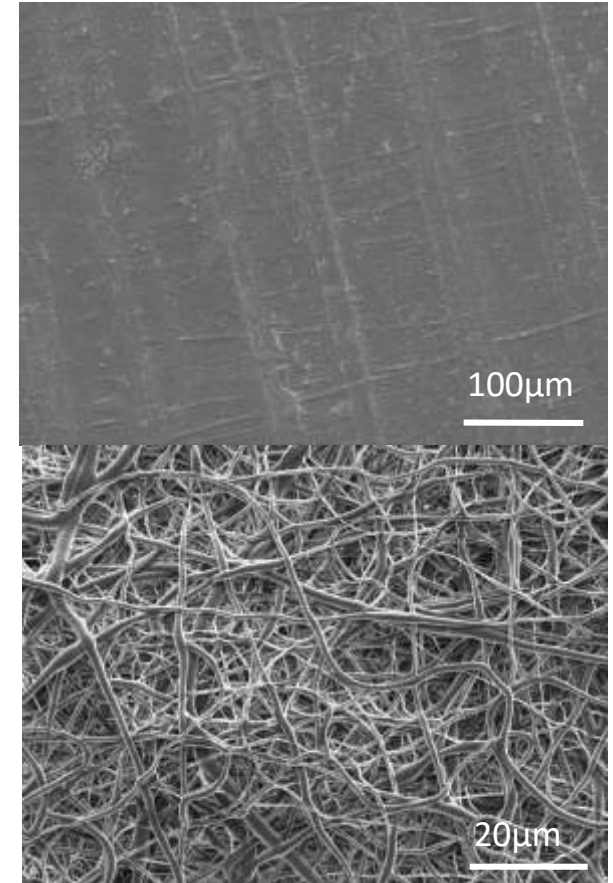
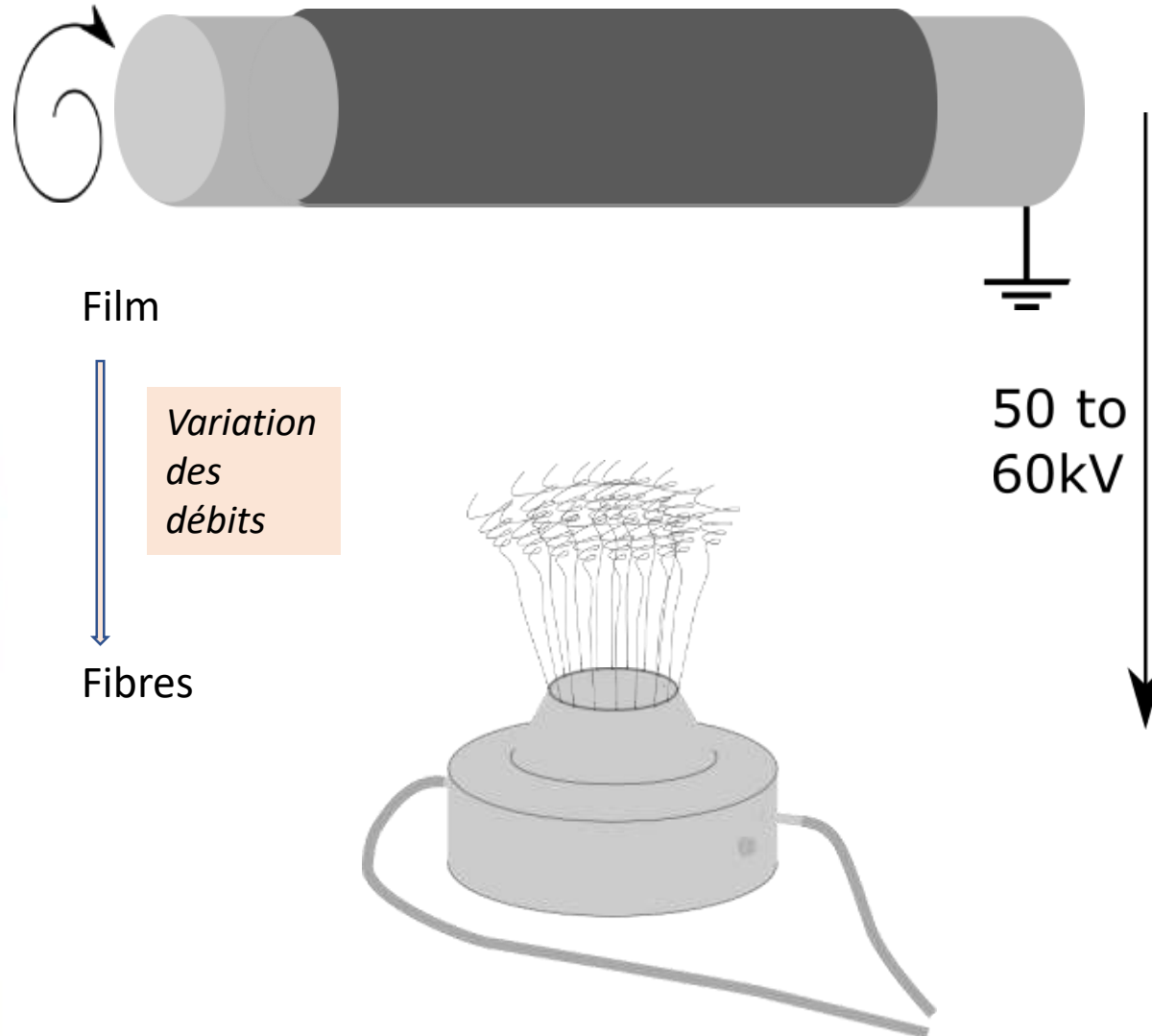
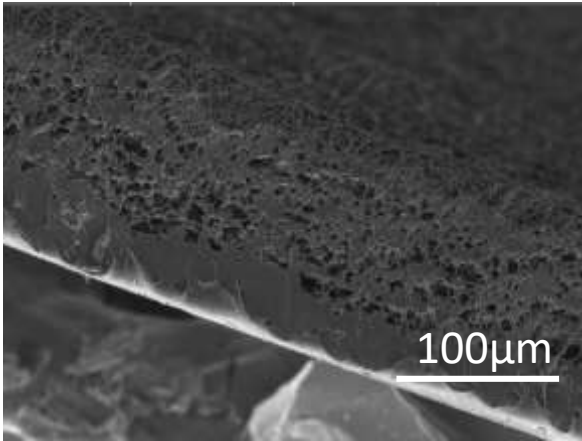
Synthèse des membranes



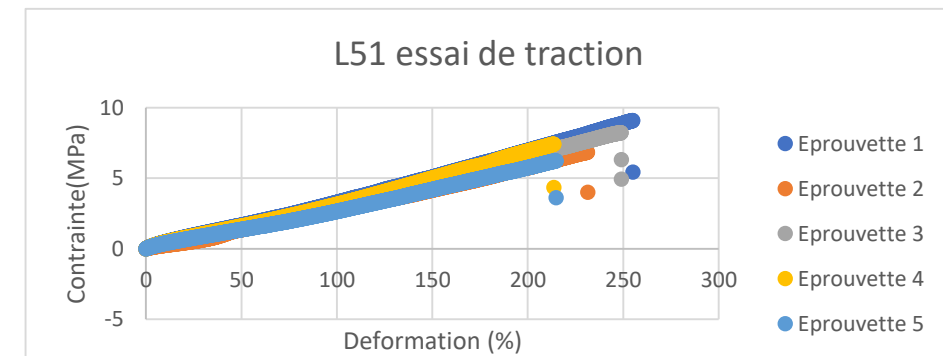
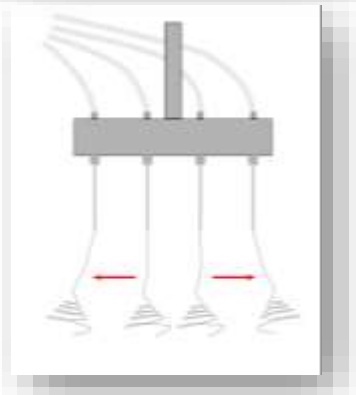
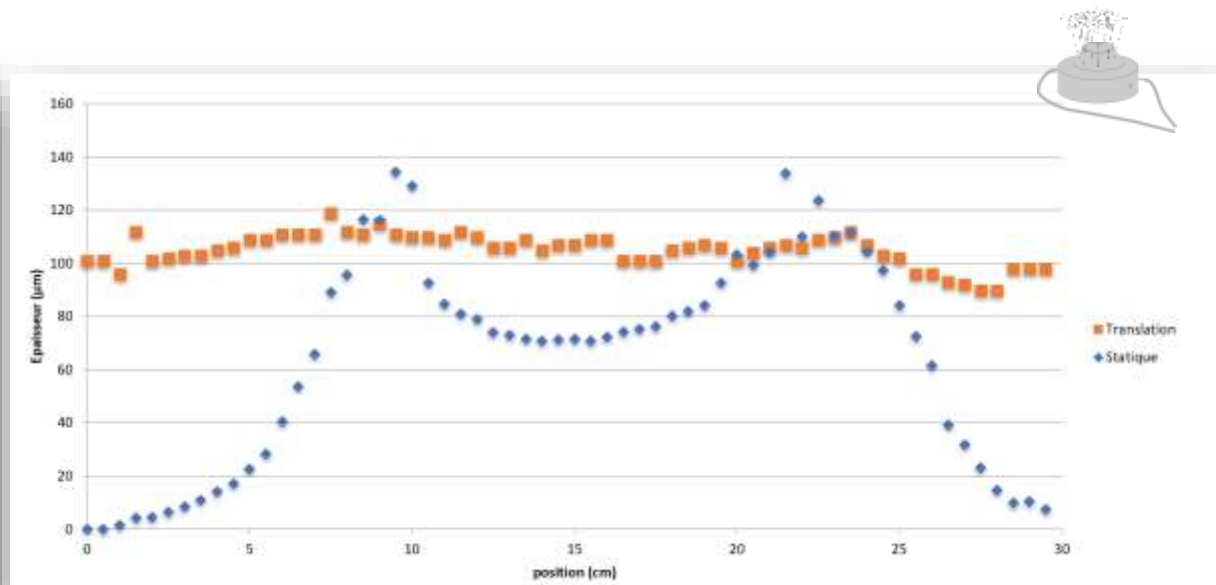
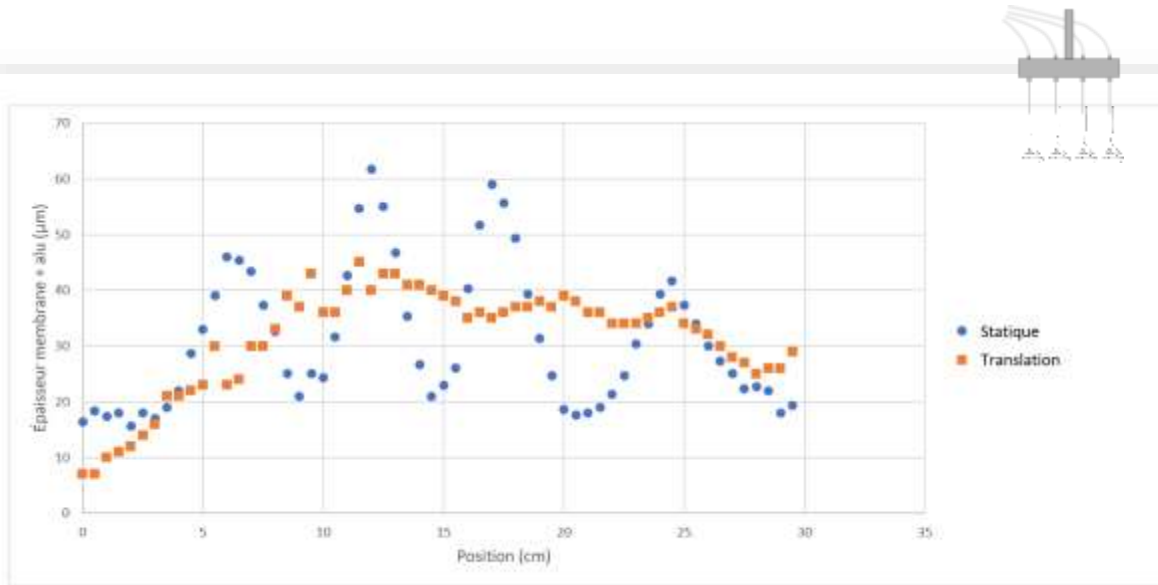
Membrane Bicouche/ES4



Membrane Bicouche/ESA



Ecueils / synthèse

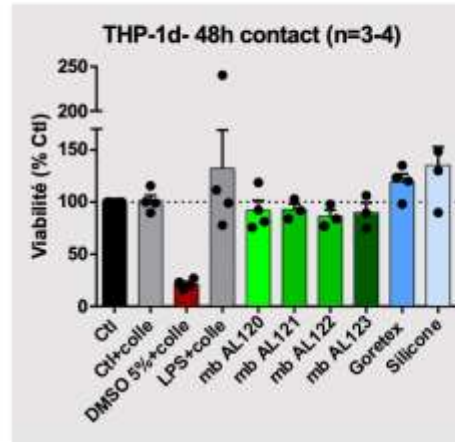
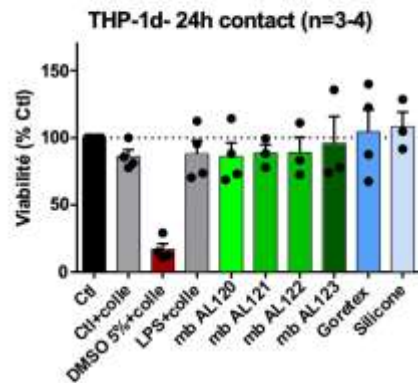


Tests biologiques

- Cytotoxicité?
- Activation des macrophages?
- Adhérence/différenciation des cellules musculaires squelettiques et fibroblastes?
- optimisation

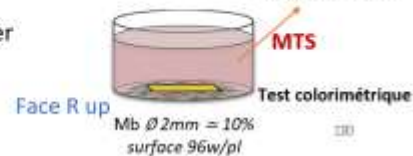
Cytotoxicité

Toxicité cellulaire de contact: macrophages humains THP-1d



➤ Pas de diminution de la viabilité cellulaire vs. Ctl colle à 24h.

- Tests lavages des mb avec des bains rapides d'EtOH pour éliminer traces de solvants résiduels-> pas de modifications vs. NT
- Vérifier avec toxicité cellulaire indirecte

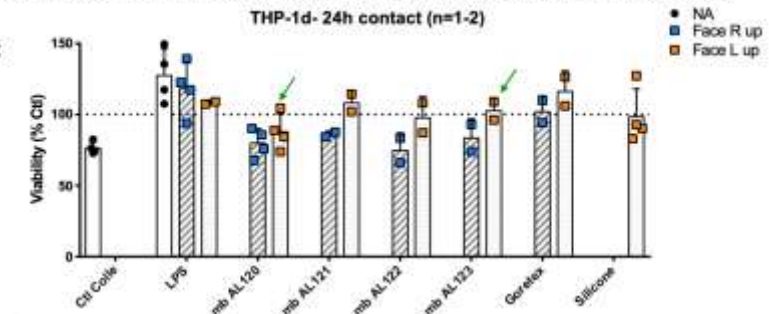


Viabilité cellulaire
→ activité métabolique mitochondriale

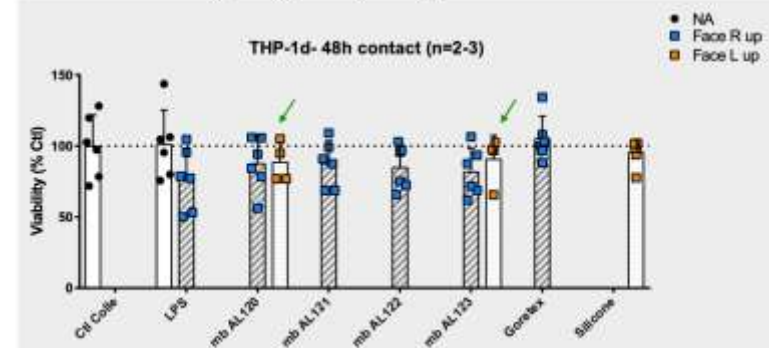
Toxicité cellulaire de contact: influence de la surface du matériau

Ensemencement THP-1d sur face :

- rugueuse/texturée (Face R up)
- lisse (Face L up)

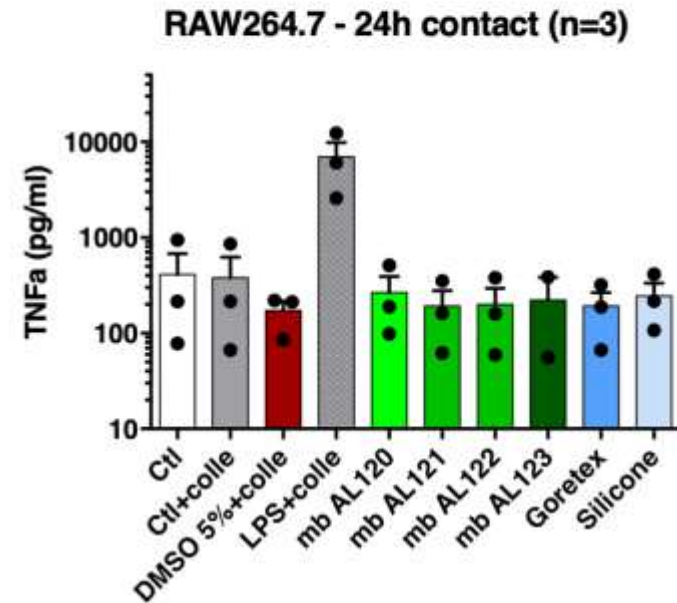
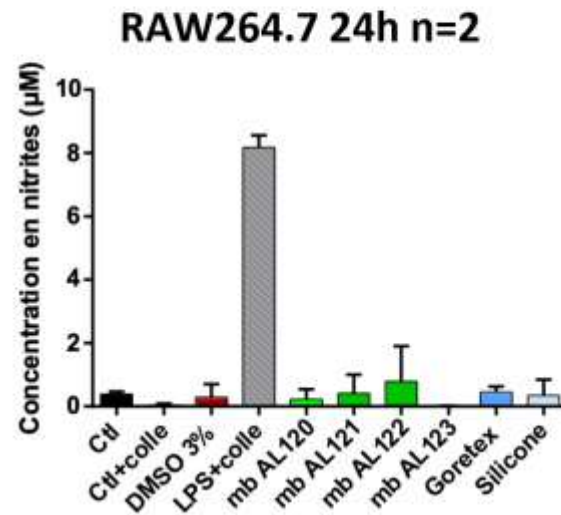


➤ Pas d'influence de la face exposée sur la viabilité du puits cellulaire vs. colle *a priori*

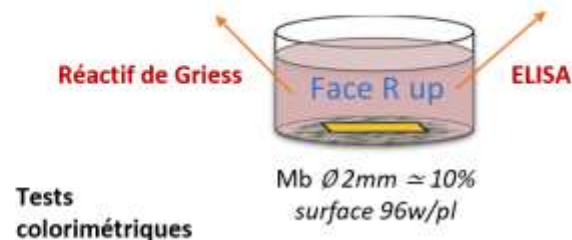


Activation des macrophages?

Activation des macrophages murins: production de NO et TNF α



- Faible activation des macrophages (adh) en réponse au LPS
2µM limite de détection de la technique



➤ En corrélation avec la production de NO -> sécrétion de TNF α en réponse au LPS

➤ A priori pas d'activation des RAW liée aux membranes

Colonisation

C2C12 milieu diff° j+6 : Myotubes

C2C12 diff° J+6
Mb 123 LETF 16%

R UP

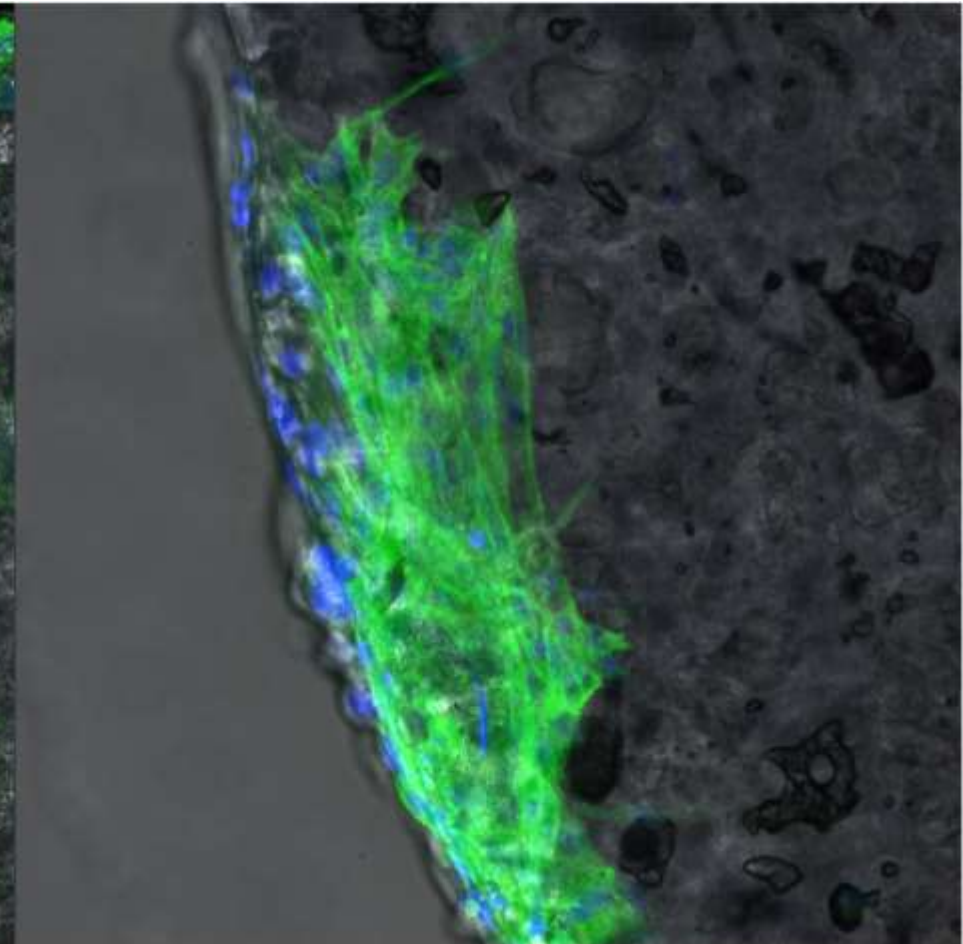
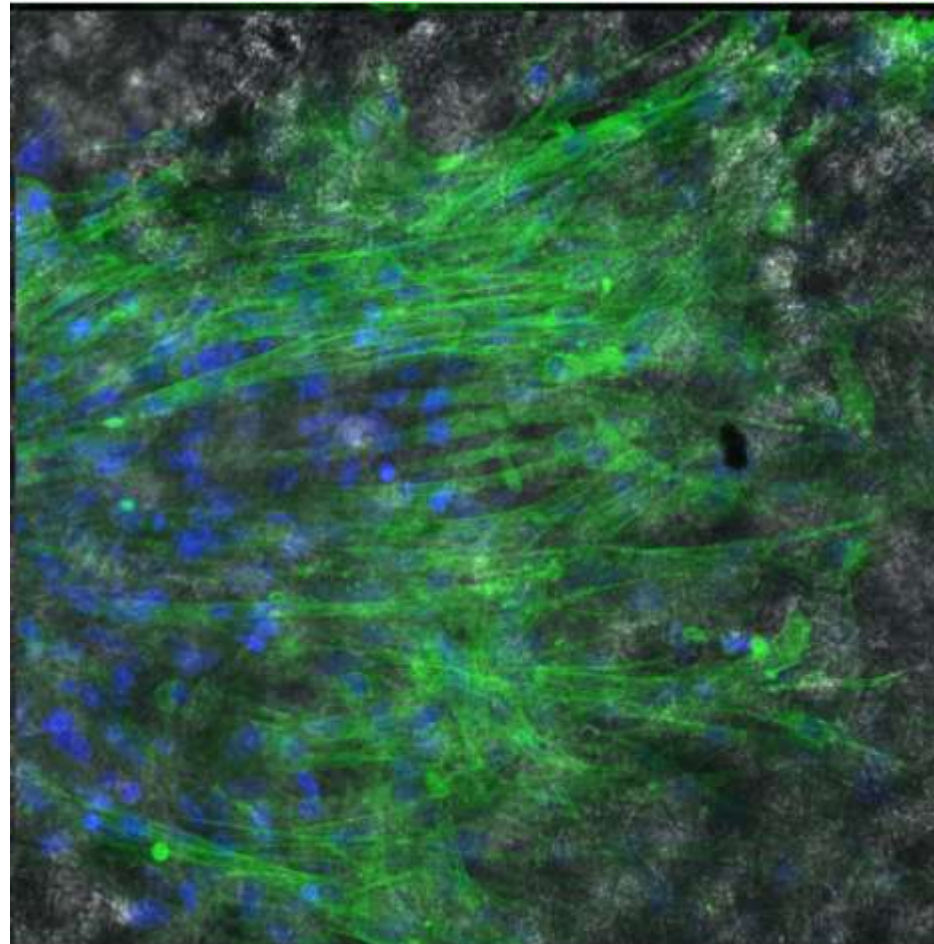
Cellules se différenciant en Myotubes: sérum cheval

- allongées++
- plusieurs noyaux/myotube?

C2C12 diff° J+6
Mb 123 LETF 16%

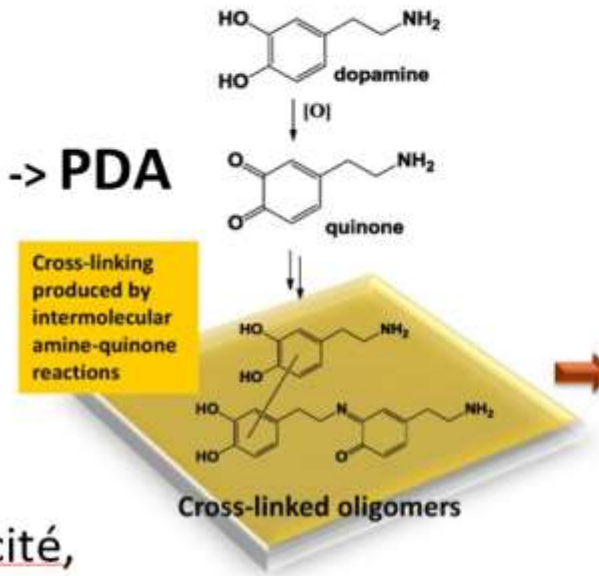
L UP

Différence assez marquée face R et L: Moins de cellules adhérentes sur la face L/ se retrouvent sur les bords, enchevêtrées.



Fonctionnalisation de la membrane par la **polydopamine (PDA)**

Dopamine -> oxydation /périodate de sodium (NaIO_4) pdt 4h -> **PDA**



Mb TPU Goretex

—> **Eumelanine**: composé brun/noir: diminue hydrophobicité, augmente l'adhésion

—> **Sensible à l'oxydation** : mb+PDA stockées ds de l'eau si possible à l'abri de la lumière

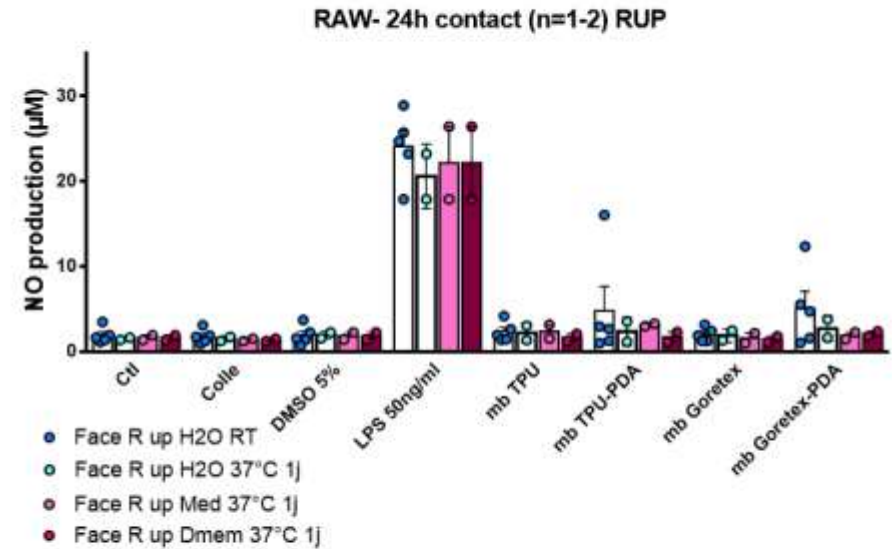
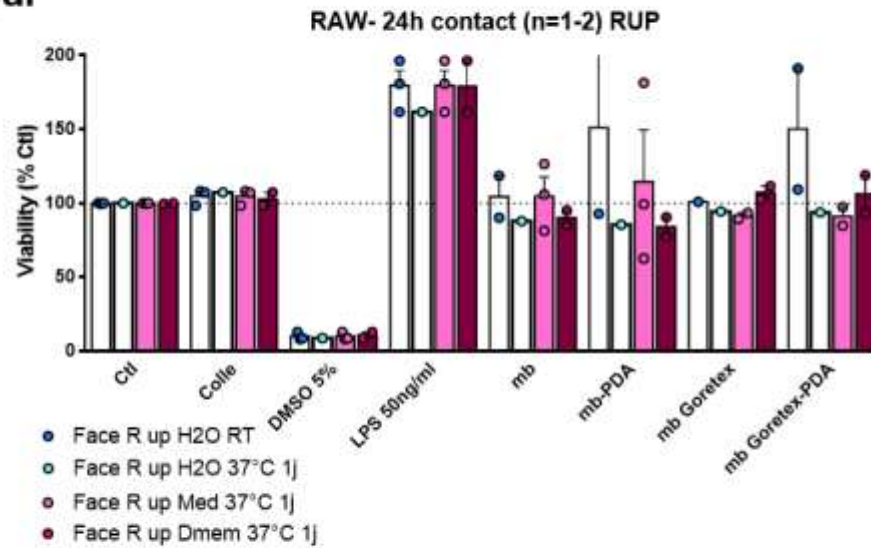
—> **Influence du milieu d'incubation des mbs+PDA?**

à 37°C dans milieu de culture +/- SVF

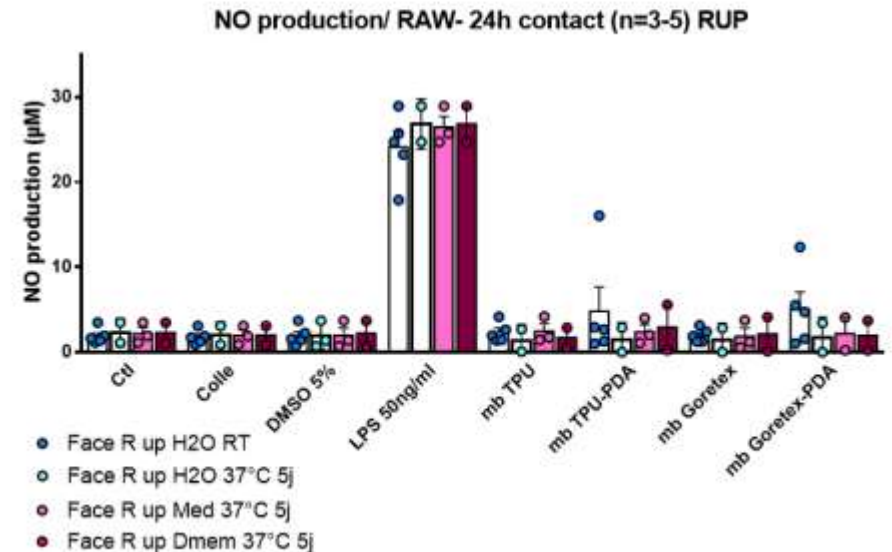
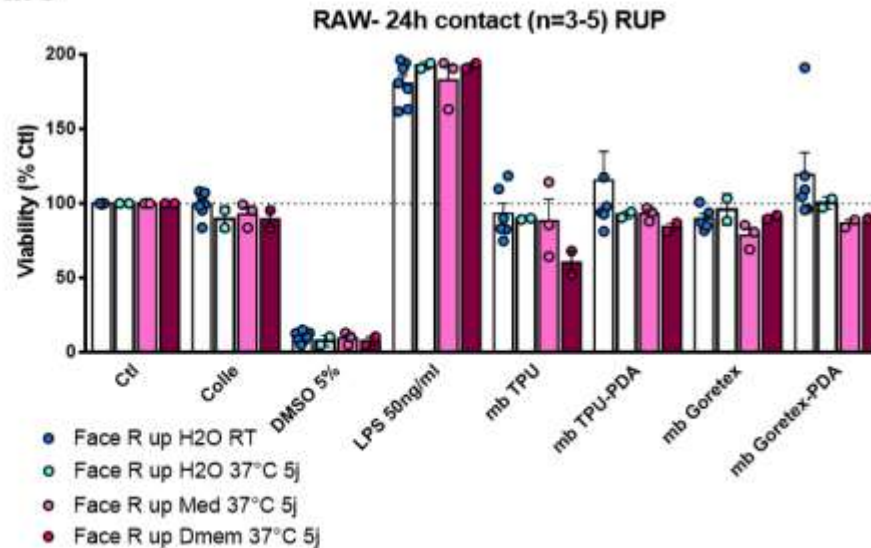


Influence de l'incubation des mbs à 37°C avant collage dans puits et ensemencement

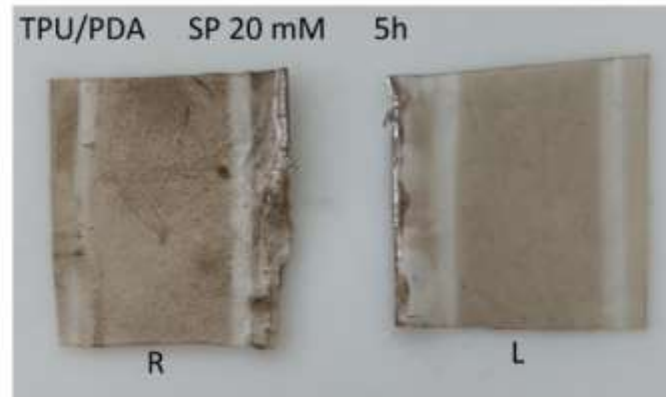
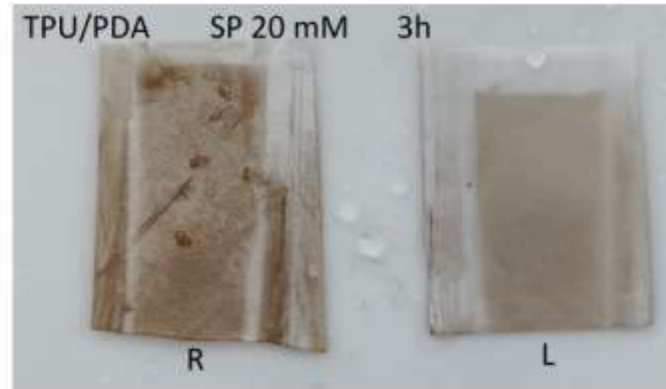
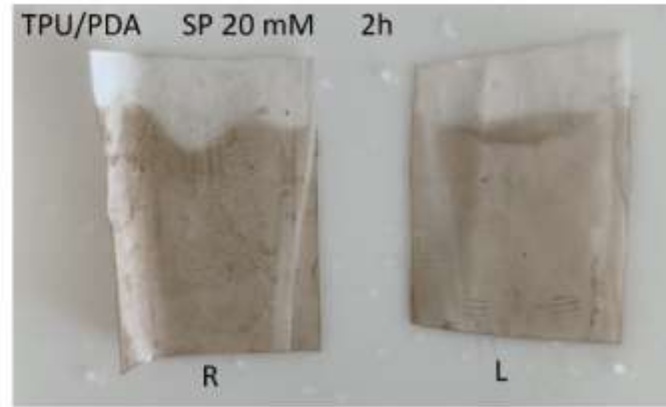
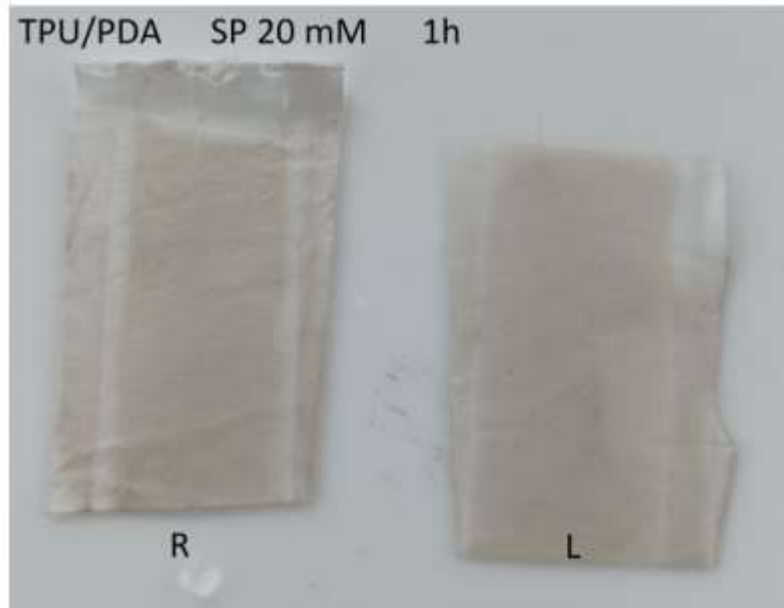
1 jour



5 jours

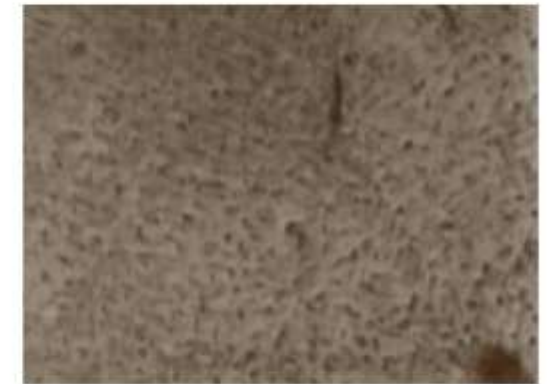


TPU/PDA



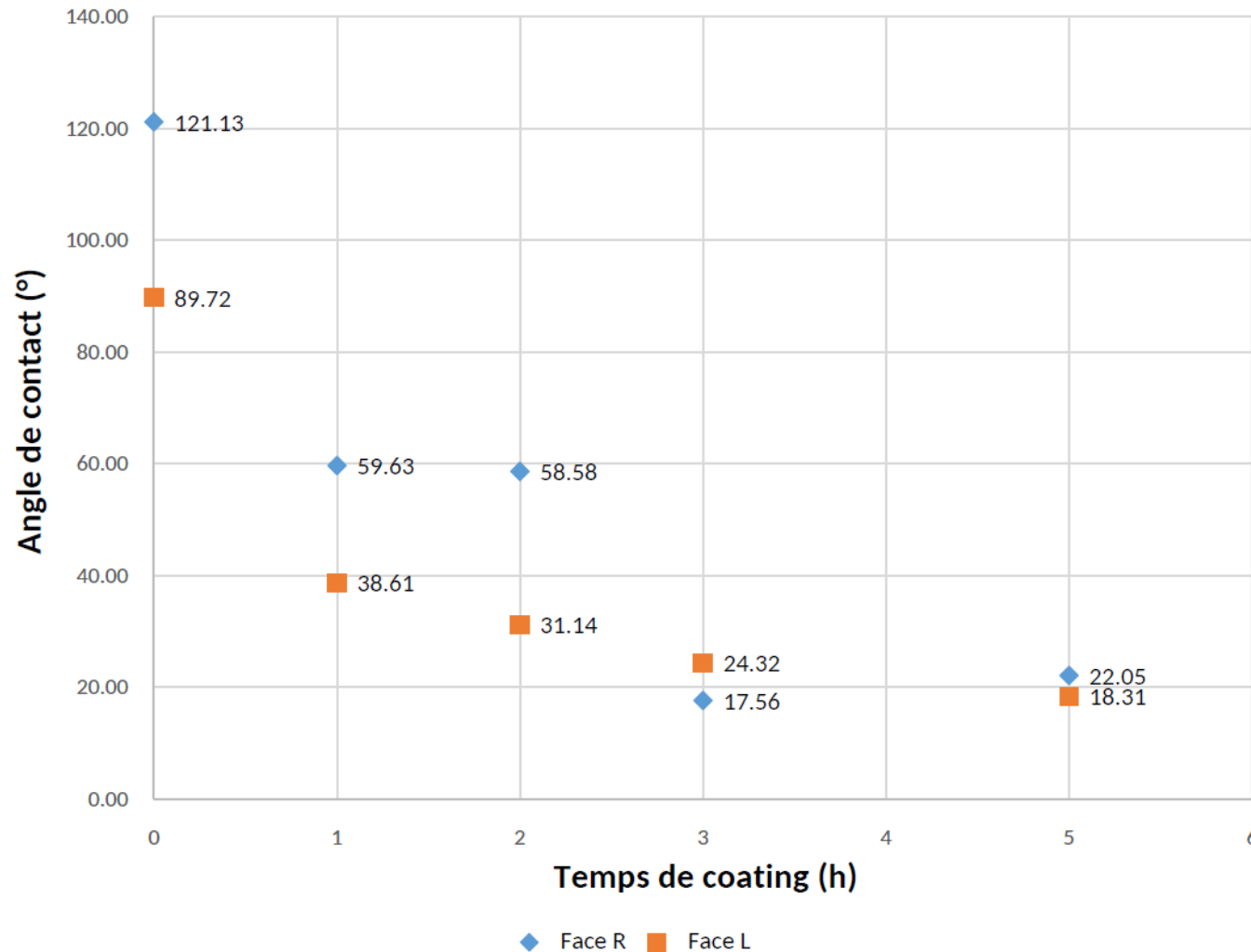
Face L plus uniforme que R
—> cluster ? A observer au MEB

Couleurs s'intensifient avec le
temps de coating



Zoom : R_{up}, 5h

Angle de contact du TPU en fonction du temps de coating de PDA



L'angle de contact diminue lorsque le temps de coating augmente.

Répétabilité à étudier (2 h et 3 h par ex)

Différence entre R et L diminue avec le temps

—> couche plus épaisse donc homogénéisation de la surface

Nexts steps

- Poursuivre les travaux d'optimisation de process
- Poursuivre les preuves biologiques
- In vivo petit animal fin 2022

DIAPID, c'est

Obtention d'une bourse FIMATHO – 2018 / 15000 €

Obtention d'un soutien du club POC de la FMR – 2019 / 63000 €

Obtention d'ANR sur 4 ans d'une valeur de 652 000 €

Chercheurs et unités de recherche impliquées dans le projet DIAPID :

- Vincent BALL, Eric MATHIEU et moi-même : INSERM UMR_S 1121
 - *fonctionnalisation chimique des matériaux, analyses microscopiques, tests in vivo petit animal*
- Nadia BAHLOULI et Hamdi JMAL : ICUBE UMR 7357
 - *analyses mécaniques des matériaux*
- Anne HEBRAUD, Guy SCHLATTER et Rodolphe MIGNERET (et Lisa TACAIL) : ICPEES UMR 7515
 - *synthèse des membranes par électrofilage*
- Benoît FRISCH, Cendrine SEGUIN, Julie FAVRE et Jordana HIRTZEL : CNRS UMR 7199
 - *Tests biologiques in vitro et in vivo petit animal, fonctionnalisation*
- Dyuti SHARMA : METRICS ULR 2694
 - *Tests in vivo gros animal*



MERCI A TOUS

