

UNIVERSITE TOULOUSE III – PAUL SABATIER  
FACULTE DE SANTE – DEPARTEMENT D'ODONTOLOGIE

---

ANNEE 2023

2023 TOU3 3086

THESE

POUR LE DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN CHIRURGIE DENTAIRE

Présentée et soutenue publiquement

par

Charles CORTINAT

le 07 NOVEMBRE 2023

LA SOIE COMME BIOMATERIAU D'INGENIERIE TISSULAIRE  
DENTAIRE ET MAXILLO-FACIALE : UNE REVUE SYSTEMATIQUE

Directeur de thèse : Pr Paul MONSARRAT

JURY

Président :	Pr Florent Destruhaut
1er assesseur :	Pr Paul Monsarrat
2ème assesseur :	Pr Franck Diemer
3ème assesseur :	Pr Sara Laurencin-Dalicious



**Faculté de santé  
Département d'Odontologie**

➔ **DIRECTION**

**Doyen de la Faculté de Santé**

M. Philippe POMAR

**Vice Doyenne de la Faculté de Santé  
Directrice du Département d'Odontologie**

Mme Sara DALICIEUX-LAURENCIN

**Directeurs Adjoint**

Mme Sarah COUSTY

M. Florent DESTRUHAUT

**Directrice Administrative**

Mme Muriel VERDAGUER

**Présidente du Comité Scientifique**

Mme Cathy NABET

➔ **HONORARIAT**

**Doyens honoraires**

M. Jean LAGARRIGUE +

M. Jean-Philippe LODTER +

M. Gérard PALOUDIER

M. Michel SIXOU

M. Henri SOULET

**Chargés de mission**

M. Karim NASR (*Innovation Pédagogique*)

M. Olivier HAMEL (*Maillage Territorial*)

M. Franck DIEMER (*Formation Continue*)

M. Philippe KEMOUN (*Stratégie Immobilière*)

M. Paul MONSARRAT (*Intelligence Artificielle*)

➔ **PERSONNEL ENSEIGNANT**

**Section CNU 56 : Développement, Croissance et Prévention**

**56.01 ODONTOLOGIE PEDIATRIQUE et ORTHOPEDIE DENTO-FACIALE** (Mme Isabelle BAILLEUL-FORESTIER)

**ODONTOLOGIE PEDIATRIQUE**

Professeurs d'Université : Mme Isabelle BAILLEUL-FORESTIER, M. Frédéric VAYSSE

Maîtres de Conférences : Mme Marie- Cécile VALERA, M. Mathieu MARTY

Assistants : Mme Anne GICQUEL, M. Robin BENETAH

Adjointes d'Enseignement : M. Sébastien DOMINE, M. Mathieu TESTE, M. Daniel BANDON

**ORTHOPEDIE DENTO-FACIALE**

Maîtres de Conférences : M. Pascal BARON, M. Maxime ROTENBERG

Assistants : M. Vincent VIDAL-ROSSET, Mme Carole VARGAS JOULIA, Mme Chahrazed BELAILI

Adjointes d'Enseignement : Mme. Isabelle ARAGON

**56.02 PRÉVENTION, ÉPIDÉMIOLOGIE, ÉCONOMIE DE LA SANTÉ, ODONTOLOGIE LÉGALE** (Mme Catherine NABET)

Professeurs d'Université : M. Michel SIXOU, Mme Catherine NABET, M. Olivier HAMEL, M. Jean-Noël VERGNES

Maîtres de Conférences : Mme Géromine FOURNIER

Adjointes d'Enseignement : M. Alain DURAND, Mlle. Sacha BARON, M. Romain LAGARD, M. Jean-Philippe GATIGNOL

Mme Carole KANJ, Mme Mylène VINCENT-BERTHOUMIEUX, M. Christophe BEDOS

**Section CNU 57 : Chirurgie Orale, Parodontologie, Biologie Orale**

**57.01 CHIRURGIE ORALE, PARODONTOLOGIE, BIOLOGIE ORALE** (M. Philippe KEMOUN)

**PARODONTOLOGIE**

Professeurs d'Université : Mme Sara LAURENCIN- DALICIEUX,

Maîtres de Conférences : Mme Alexia VINEL, Mme. Charlotte THOMAS

Assistants : M. Joffrey DURAN, M. Antoine AL HALABI

Adjointes d'Enseignement : M. Loïc CALVO, M. Christophe LAFFORGUE, M. Antoine SANCIER, M. Ronan BARRE ,  
Mme Myriam KADDECH, M. Matthieu RIMBERT,

## CHIRURGIE ORALE

Professeur d'Université : Mme Sarah COUSTY  
Maîtres de Conférences : M. Philippe CAMPAN, M. Bruno COURTOIS  
Assistants : M. Clément CAMBRONNE, M. Antoine DUBUC  
Adjoints d'Enseignement : M. Gabriel FAUXPOINT, M. Arnaud L'HOMME, Mme Marie-Pierre LABADIE, M. Luc RAYNALDY,  
M. Jérôme SALEFRANQUE,

## BIOLOGIE ORALE

Professeurs d'Université : M. Philippe KEMOUN, M. Vincent BLASCO-BAQUE  
Maîtres de Conférences : M. Pierre-Pascal POULET, M. Matthieu MINTY  
Assistants : Mme Chiara CECCHIN-ALBERTONI, M. Maxime LUIS, Mme Valentine BAYLET GALY-CASSIT,  
Mme Sylvie LE  
Adjoints d'Enseignement : M. Mathieu FRANC, M. Hugo BARRAGUE, Mme Inessa TIMOFEEVA-JOSSINET

## **Section CNU 58 : Réhabilitation Orale**

### **58.01 DENTISTERIE RESTAURATRICE, ENDODONTIE, PROTHESES, FONCTIONS-DYSFONCTIONS, IMAGERIE, BIOMATERIAUX** (M. Franck DIEMER)

#### **DENTISTERIE RESTAURATRICE, ENDODONTIE**

Professeur d'Université : M. Franck DIEMER  
Maîtres de Conférences : M. Philippe GUIGNES, Mme Marie GURGEL-GEORGELIN, Mme Delphine MARET-COMTESSE  
Assistants : M. Nicolas ALAUX, M. Vincent SUAREZ, M. Loris BOIVIN, Mme Laura PASCALIN, M. Thibault  
DECAMPS, Mme Emma STURARO, Mme Anouk FESQUET  
Adjoints d'Enseignement : M. Eric BALGUERIE, M. Jean- Philippe MALLET, M. Rami HAMDAN, M. Romain DUCASSE,  
Mme Lucie RAPP

#### **PROTHÈSES**

Professeurs d'Université : M. Philippe POMAR, M. Florent DESTRUHAUT,  
Maîtres de Conférences : M. Antoine GALIBOURG,  
Assistants : Mme Margaux BROUTIN, Mme Coralie BATAILLE, Mme Mathilde HOURSET, Mme Constance CUNY  
M. Anthony LEBON  
Adjoints d'Enseignement : M. Christophe GHRENASSIA, Mme Marie-Hélène LACOSTE-FERRE, M. Olivier LE GAC, M. Jean-  
Claude COMBADAZOU, M. Bertrand ARCAUTE, M. Fabien LEMAGNER, M. Eric SOLYOM,  
M. Michel KNAFO, M. Victor EMONET-DENAND, M. Thierry DENIS, M. Thibault YAGUE,  
M. Antonin HENNEQUIN, M. Bertrand CHAMPION

#### **FONCTIONS-DYSFONCTIONS, IMAGERIE, BIOMATERIAUX**

Professeur d'Université : Mr. Paul MONSARRAT  
Maîtres de Conférences : Mme Sabine JONJOT, M. Karim NASR, M. Thibault CANCEILL, M. Julien DELRIEU  
Assistants : M. Olivier DENY, Mme Alison PROSPER  
Adjoints d'Enseignement : Mme Sylvie MAGNE, M. Thierry VERGÉ, M. Damien OSTROWSKI

-----  
*Mise à jour pour le 01 Novembre 2023*

## REMERCIEMENTS

A mon père, pour m'avoir transmis l'aventure, l'ambition et de m'avoir maintenu les pieds sur Terre.

A ma mère, pour m'avoir transmis la poésie, l'éthique et son esprit créatif pour une vie romanesque.

A mes grand-mères, à mes tantes et à mon oncle pour l'amour de la famille, de la cuisine, du bien vivre qui ont toujours été là quand j'en avais besoin.

A ma sœur Cécile et mon cousin Nico pour les moments passés, ces expériences extraordinaires et celles à venir. A Alexandre, Clémentine, François, Guillaume, Olivier, Pierre, Sophie.

A la *Dream Team* ; Clémence, Coline, Gautier, Marine et Valentin pour ces souvenirs des Vilières au Brésil et à nos Pierre et Anne-Marie nationaux sans qui on ne serait jamais allé si loin.

Aux irréductibles ; Antoine, Benjamin, Guillaume, Inès, Louis, Paul, Pierre, Pierre-Louis, Simon, Thomas, Yvan qui furent d'abord surpris de me voir amorcer un cursus dentaire vu ma dextérité, puis moins surpris de constater que ce n'était pas si facile avant de se demander si je pouvais avoir des réductions sur d'éventuelles chambres à la fac. Merci pour les rires, la bêtise, la simplicité, l'évasion..

A Amélie, Benjamin, Charli, Charlotte, Driss, Eléonore, Etienne, Owen, Paul pour ces bouffées d'air plus ou moins frais, pour ces fêtes, cette joie que vous avez apporté à mes études. Il a été aussi génial de vous rencontrer en partageant une promotion que déchirant de voir nos chemins se séparer. Un merci particulier à toi Charlotte qui m'a soutenu et relevé à chaque fois que j'ai chuté.

A mes passionnés bénévoles associatifs préférés, des scouts aux activistes en passant par les représentants étudiants. Antoine, Clémence, Fred, Jacques, Jean-Paul, Letto, Mayine, Nicolas, Olivia, Oscar, Pierre. Merci pour votre de votre générosité et de la confiance mutuelle qui m'ont permis de repousser mes limites lors de mes engagements.

Au Bear's House et à la Rose Blanche pour leur accueil jusqu'à tard lors de ma rédaction.

A Annie et Michel qui ont su avec finesse m'éloigner de certains précédemment cités dans des moments décisifs pour que je réussisse concours et examens cruciaux.

A Maxime, Audrey et Clément qui après m'avoir bien coaché en PACES m'ont bien vendu l'odonto.

A Amadou, mon binôme, véritable artiste de ses mains comme dans sa manière d'être. Merci pour ta sérénité. Tu ne seras peut-être pas « grand ministre » comme je m'amusais à te prédire mais je te souhaite la belle carrière que tu mérites.

A Xavier qui fut le premier à me donner les moyens de répéter jusqu'à réussir, sans qui je serais au mieux encore bloqué en P2, noyé dans ma cire...

Aux *Senseis* Kounougou et Riccio qui par le karaté m'ont donné la passion des sports de combat, à Olivier ainsi qu'aux coachs Tancrede et Philippe pour l'avoir entretenu. Sans vous je n'aurais pas cultivé la combativité qui m'a permise d'arriver où j'en suis.

Aux équipes d'occluso pour leur accueil et leur bienveillance, à l'équipe d'endo pour leur patience et leur exigence. A l'équipe enseignante qui m'a fait éclore. Au Dr Raynaldy qui m'a donné quelques plumes supplémentaires avant le saut du nid et aux équipes qui auront eu la patience de m'encadrer.

Au Pr. Pomar et Pr Alary pour leur passion du service public, leur sympathie et leur disponibilité.

Au Dr Canceill et Dr Tibourtine qui m'ont accompagné pour mes premiers pas en laboratoire. Au Dr Cazalbou et à l'équipe du CIRIMAT pour m'avoir accueilli pour que je matérialise mes lectures.

A mon jury bien-sûr et au Pr. Kemoun pour m'avoir validé en premier la pertinence de l'idée du sujet.

A notre président du jury,

Monsieur le Professeur Destruhaut Florent

- Professeur des Universités, Praticien Hospitalier d'Odontologie,
- Directeur adjoint du département d'Odontologie de la Faculté de Santé de l'Université de Toulouse III Paul Sabatier
- Directeur adjoint de l'Unité de Recherche Universitaire EvolSan (Evolution et Santé Orale)
- Habilitation à Diriger des recherches
- Docteur en Chirurgie Dentaire
- Spécialiste Qualifié « Médecine Bucco-Dentaire »
- Docteur de l'École des Hautes Études en Sciences Sociales en Anthropologie sociale et historique
- Certificat d'Études Supérieures en Prothèse Maxillo-Faciale
- Certificat d'Études Supérieures en Prothèse Conjointe
- Diplôme Universitaire de Prothèse Complète Clinique de Paris V
- Diplôme universitaire d'approches innovantes en recherche de TOULOUSE III
- Responsable du diplôme universitaire d'occlusodontologie et de réhabilitation de l'appareil manducateur
- Lauréat de l'Université Paul Sabatier

Je ne peux vous cacher mon bonheur quand vous avez accepté de prendre part de mon jury. Votre enseignement de l'occlusodontie a donné du sens à mon cursus et fut la première pierre de mon intérêt pour les autres disciplines de cette filière. Je vous remercie de la sympathie que vous avez pu m'apporter malgré mes interrogations que vous aurez peut-être jugé « dans les pires moments », tant dans leur ponctualité un dimanche férié d'été que dans leur « jusqu'au-boutisme » une veille d'exam..

A notre directeur de thèse,

Monsieur le Professeur Paul Monsarrat

- Professeur des Universités, Praticien Hospitalier d'Odontologie,
- Docteur de l'Université Paul Sabatier - Spécialité Physiopathologie,
- Diplôme Universitaire d'Imagerie 3D maxillo-faciale,
- Diplôme universitaire de Recherche Clinique en Odontologie,
- Habilitation à Diriger les Recherches
- Lauréat de la faculté de Médecine Rangueil et de Chirurgie Dentaire de l'Université Paul Sabatier,

De votre premier cours d'anatomie à ce jour, je commencerai par souligner que vous aurez vu mon évolution tout ce parcours. Je le précise car notre entrevue à propos d'un schéma en vue médiale de la mandibule m'avait alors semblé « hors de propos » (il avait en fait été selon moi mal retranscrit dans notre ronéo) ... Ce jour où effronté je suis venu vous trouver en clinique me hante encore alors que j'écris ces lignes, merci d'avoir eu le courage, la patience et tout simplement le temps de me suivre et de m'encadrer comme vous l'avez fait sur une thèse qui en plus sort des sentiers battus.

A notre assesseur,

Monsieur le Professeur DIEMER Franck

- Professeur des Universités, Praticien Hospitalier d'Odontologie,
- Docteur en Chirurgie Dentaire,
- D.E.A. de Pédagogie (Education, Formation et Insertion) Toulouse Le Mirail,
- Docteur de l'Université Paul Sabatier,
- Responsable du comité scientifique de la Société française d'Endodontie,
- Responsable du Diplôme Inter Universitaire d'Endodontie à Toulouse,
- Responsable du Diplôme universitaire d'hypnose,
- Co-responsable du diplôme Inter-Universitaire d'odontologie du Sport,
- Lauréat de l'Université Paul Sabatier

C'est un honneur de conclure ma formation initiale sous votre approbation,  
Merci de m'avoir appris la nécessité de la précision et de rigueur qui fait partie intégrante de notre exercice.

Merci de m'avoir délivré de précieux conseils quand je demeurais en plein désarroi.

Merci pour ces échanges lors de la rédaction de ce travail qui ont aiguisé mon sens de l'innovation.

A notre assesseur,

Madame le Professeur LAURENCIN-DALICIEUX Sara

- Vice Doyenne de la Faculté de Santé de l'Université de Toulouse III Paul Sabatier
- Directrice Département d'Odontologie
- Professeur des Universités, Praticien Hospitalier d'Odontologie,
- Docteur en Chirurgie Dentaire,
- Docteur de l'Université Paul Sabatier,
- Diplôme Universitaire de Parodontologie
- Lauréate de l'université Paul Sabatier
- Diplôme Universitaire d'Injection d'Acide Hyaluronique en Odontologie
- Diplôme Universitaire Approches Innovantes en Recherche Biomédicale et en Méta-recherche
- Habilitation à Diriger des Recherches (H.D.R.).

Me souvenant quand en 3<sup>e</sup> année vous m'avez généreusement accueilli à vos consultations de parodontologie, je vous remercie d'avoir pris le temps de rejoindre mon jury de thèse. Je ne suis pas peu fier quand les patients satisfaits me disent que je fais les détartrages comme personne. Merci aussi pour votre gestion du département dentaire incluant tant que possible les étudiants.

Ce fut un plaisir de collaborer avec vous.



## **Table des matières**

1.	Introduction .....	13
1.1.	Soie de vers à soie .....	15
1.1.1.	Fibroïne .....	16
1.1.2.	Séricine .....	16
1.1.3.	Autres espèces de vers à soie .....	17
1.2.	Soies d'araignées.....	17
1.3.	Principe d'excrétion commun aux araignées et aux vers.....	20
1.4.	Les soies maritimes .....	21
1.5.	Synthèse des propriétés.....	22
1.5.1.	Propriétés mécaniques.....	23
1.5.2.	Dégradabilité.....	24
1.6.	Production de soie synthétique .....	25
1.6.1.	Films .....	26
1.6.2.	Microtubes .....	26
1.6.3.	Fibres artificielles & Eponges fibreuses.....	27
1.6.4.	Hydrogels.....	28
1.6.5.	Eponges ou Aérogel ou Mousse .....	28
1.6.6.	Nanoparticules & Microsphères.....	29
1.6.7.	Impression 3D.....	30
1.6.8.	Elaboration de soie d'araignée.....	31
1.7.	Application biomédicale & intérêt croissant de la recherche.....	31
2.	Matériel & Méthode .....	32
2.1.	Sélection des études .....	32
2.1.1.	Critères d'inclusion.....	32
2.1.2.	Critères d'exclusion .....	33
2.2.	Extraction des données & Données relevées.....	33
2.3.	Risque de biais.....	33

2.3.1.	Biais inhérent à chacune des études.....	33
2.3.2.	Biais transversal aux études .....	33
3.	Résultats et discussion .....	34
3.1.	Régénération du complexe pulpo-dentinaire .....	35
3.2.	Régénération parodontale .....	35
3.3.	Régénération vasculaire .....	35
3.3.1.	Films poreux de soie et angiogénèse .....	36
3.3.2.	Hydrogel de soie et angiogénèse .....	38
3.3.3.	Tubes de soie et angiogénèse .....	38
3.3.4.	Ajout de principes actifs.....	39
3.4.	Régénération osseuse .....	40
3.4.1.	Films et revêtements de régénération osseuse .....	41
3.4.2.	Hydrogels de régénération osseuse .....	43
3.4.3.	Mousses de régénération osseuse.....	44
3.4.4.	Membranes fibreuses de régénération osseuse.....	47
3.4.5.	Micro particules et ciments de régénération osseuse .....	49
3.4.6.	Variation de la protéine de soie dans la régénération osseuse .....	51
3.4.7.	Régénération ostéochondrale.....	52
3.5.	Régénération nerveuse .....	53
3.5.1.	Introduction à la régénération nerveuse .....	53
3.5.2.	Microarchitecture des échafaudages.....	56
3.5.3.	Composition des échafaudages .....	57
3.5.4.	Impact des différents types de soie .....	60
3.6.	Etudes complémentaires.....	61
3.6.1.	Fabrication d'adhésifs bio-inspirés.....	61
3.6.2.	Innovation de fabrications pour création de plaques, vis d'ostéosynthèse .....	61
3.6.3.	Perspectives en chirurgie maxillo-faciale.....	62
3.6.4.	Les protéines de soie encore au stade observationnel.....	63

3.7. Economie circulaire et ingénierie verte .....	63
3.8. Limites .....	65
3.8.1. Méthodologique.....	65
3.8.2. Intrinsèque aux résultats.....	66
Conclusion .....	67
Bibliographie .....	68
Annexe 1 : Abréviations .....	97
Annexe 2 : Propriétés des différentes soie .....	98

## 1. Introduction

Biomimétisme : Démarche d'innovation durable qui consiste à transférer et à adapter à l'espèce humaine les solutions déjà élaborées par la nature (faune, flore, etc.). – Larousse

La situation clinique en odontologie permet rarement de préserver *ad integrum* les tissus natifs. Traumatismes ou pathologies infectieuses sont autant de situations à l'origine de pertes tissulaires d'étendues variables. L'objectif thérapeutique étant alors de mimer autant que faire se peut les tissus natifs avec leurs propriétés biomécaniques et optiques. Bien que l'idéal puisse être la régénération des structures, les thérapeutiques actuelles ne nous permettent souvent que des réparations partielles des structures dento-parodontales.

Pourtant, les progrès technologiques nous ouvrent la porte de la médecine régénérative. On peut parler de médecine 4R (Remplacer, Réparer, Régénérer, Reprogrammer), personnalisée au patient. Ainsi de la peau cultivée *in vitro* est déjà utilisée pour soigner les grands brûlés, des études cliniques ont été réalisées concernant la cornée, l'urètre ou encore la trachée (1–4). L'ingénierie tissulaire étant l'administration de cellules stimulées de manière adéquate dans un biomatériau. Ainsi elle repose sur trois composantes (5) :

- Les cellules: il s'agit très souvent de cellules « souches » adultes, multipotentes, comme les cellules stromales mésenchymateuses (CSM), véritables chef d'orchestre des tissus. Accessibles depuis la sphère buccale, on trouve les cellules stromales pulpaire (DSPCs), des dents exfoliées (SHED), de la papille apicale (SCAP), de type parodontal (DFPC), du ligament (PDLSC), de la gencive (GSC) ou du tissu adipeux (ASC).
- Les facteurs de croissance : Ces médiateurs biologiques polypeptidiques agissent sur la prolifération, le chimiotactisme, la différenciation et la synthèse de la matrice extra-cellulaire, tels que la famille du *Transforming Growth Factor bêta* (TGF- $\beta$ ), les *Bone Morphogenic Proteins* (BMP), ou plus spécifique le *Dentin Matrix Protein-1* (DMP-1). Si l'utilisation de facteurs recombinants, utilisés à des doses supra-physiologiques, paraît peu souhaitable au niveau clinique, certains produits utilisés en clinique sont un moyen détourné d'utiliser de tels facteurs trophiques comme l'Emdogain (protéines amélaire porcines, avec un contingent de BMP) ou le Platelet Rich Fibrin (PRF) dérivés des plaquettes.
- Un échafaudage : Dans l'objectif de reconstituer la matrice extra-cellulaire, un biomatériau candidat doit répondre à un cahier des charges précis : Biocompatible pour le

contrôle de la réaction inflammatoire, biodégradable selon le turn over cellulaire cible pour permettre un juste remplacement par le tissu néoformé et limiter une réaction inflammatoire chronique (une réaction inflammatoire aigüe est au contraire souvent souhaitable), adhésion cellulaire pour assurer leur rétention et le maintien de leur phénotype, perméabilité pour permettre les échanges nutritionnels et limiter le gradient en oxygène, possibilité de stérilisation pour faciliter la mise en œuvre et le stockage.

L'ensemble de cette architecture peut alors prendre une forme galénique variable selon les tissus à régénérer et les impératifs de la situation clinique. Ainsi il sera possible de retrouver des granules, des membranes fibreuses, des hydrogels, des films, des mousses, avec une mise en forme par moulage ou des impressions 3D (6).

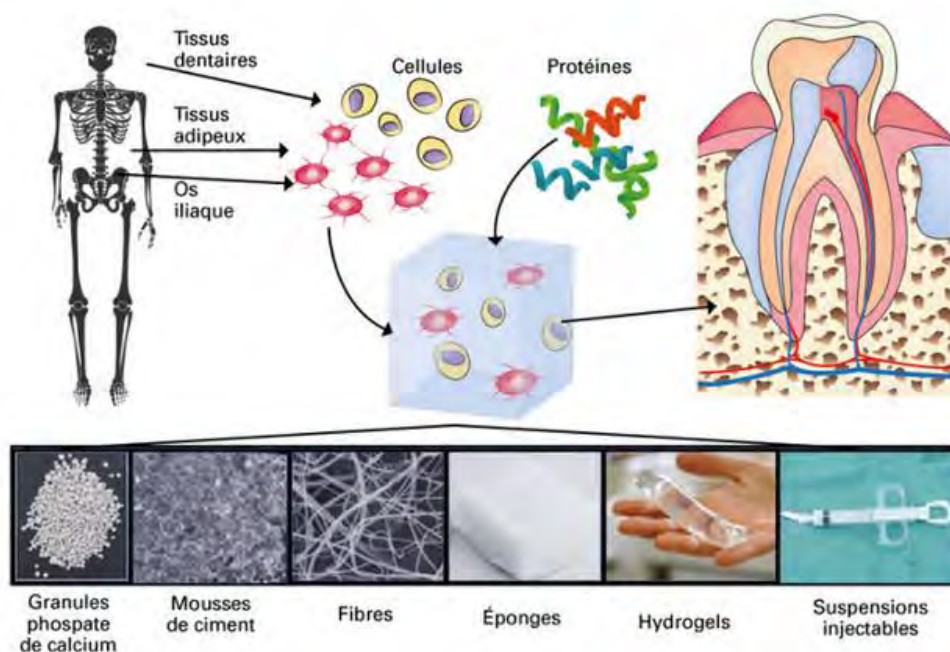


Figure 1: Principe de l'ingénierie tissulaire combinant différentes sciences du vivant pour restaurer, maintenir ou améliorer les fonctions tissulaires

La constitution des échafaudages fait débat dans la littérature. De nombreux matériaux comme les céramiques (phosphate de calcium biphasique [BCP], hydroxyapatite [HAP], phosphates tricalciques [TCP], bioverres ou les alliages métalliques (Titane) présentent des valeurs de résistance et de ténacité exemplaires (7). Des polymères sont également étudiés mais leurs propriétés mécaniques sont souvent décrites comme inférieures. Certains sont synthétiques comme le poly-capro-lactone [PCL], l'Acide Poly-Lactique [PLA] et nécessitent à leur élaboration une industrie couteuse et énergivore. D'autres d'origine naturelle sont constitués d'une palette chimique simple (protéique ou polysaccharidique), s'élaborent naturellement à température ambiante. C'est notamment le cas du collagène, du chitosane ou de l'alginate.

La famille de protéines naturelles faisant l'objet du présent travail est la soie qui a la particularité d'être un polypeptide comme le collagène. Utilisée depuis l'antiquité dans la fabrication de textiles et retrouvée dans des tombes du néolithique (8), la soie fut utilisée dans le domaine médical dès le Xe siècle comme fil de suture par Abu Al Qasim Al Zahrawi (Albucasis) (9). De nos jours elle est de moins en moins utilisée pour cette indication, sa faible dégradabilité associée à sa haute adhérence bactérienne en font une solution discutable comparée aux autres solutions résorbables ou non (10). Cette fibre protéique est essentiellement présente dans le règne animal chez certains insectes (vers à soie ou à cire, abeilles, mite...), chez les arthropodes (araignées, scorpions...) mais aussi chez des mollusques bivalves (moule, huître, bernacle).

Dans cette introduction nous ferons un récapitulatif des principales protéines s'affiliant à la soie dans le règne animal avant de présenter l'apport des biotechnologies dans la production de soie de synthèse.

### 1.1. Soie de vers à soie

Cultivée depuis cinq millénaires dans le nord de la Chine, la soie du cocon de *Bombyx mori* ou vers du murier (son alimentation exclusive) fut la première étudiée dès les années 1940. Il est possible de l'extraire de son cocon, ayant une masse d'environ 0.5g (11) après 42 jours de croissance, avant qu'il ne devienne un lépidoptère ou papillon (Figure 2). Celui-ci possède deux glandes labiales séricigènes sécrétant chacune en postérieur une fibre de fibroïne, toutes deux enveloppées dans une pellicule de séricine dans la partie médiane de la glande(12). Il sécrète également des protéines de taille plus réduites, en lien avec son système immunitaire, une défense contre les micro-organismes, notamment fongiques(13).

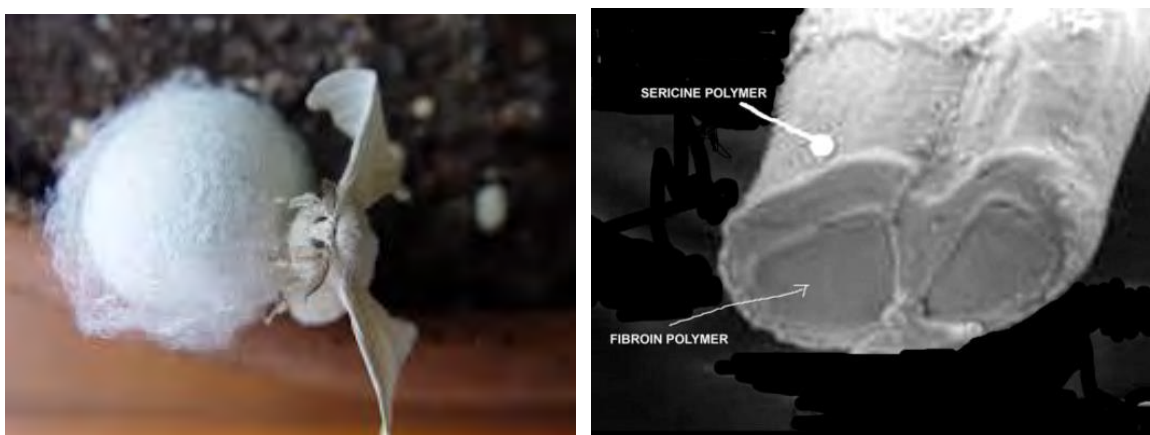


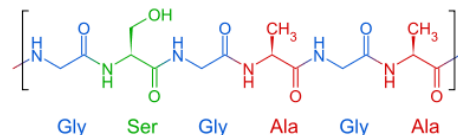
Figure 2: *Bombyx mori* à l'état de cocon et après éclosion (gauche). Coupe transversale montrant la structure commune de la soie issue des différentes espèces de vers à soie (droite) (9)

D'autres espèces de vers à soies ne dépendant pas du murier font également le sujet d'études bien que moins nombreuses sous la mention « non-mulberry silk ».(14) A l'instar des soies des vers *Tasar (Antheraea mylitta)* ou *Tussah (Antheraea pernyi)* retrouvés notamment en Inde, bien

que constitués des mêmes protéines que la soie de *Bombyx mori*, ces dernières voient leurs propriétés mécaniques et biologiques modifiées. Ainsi le tripeptide [Arginine – Glycine – Aspartate] (RGD), connu pour son rôle dans l'adhésion cellulaire, se retrouve naturellement dans des soies du genre *Antheraea*.(15)

### 1.1.1. Fibroïne

La fibroïne de soie (SF) est une protéine polymérique



constituant le noyau de la fibre de soie chez *Bombyx mori*, constituée de régions cristallines en feuillets  $\beta$  hautement organisées et de régions semi-cristallines responsables de l'élasticité de la soie. Elle contient essentiellement de Glycine, agencée à de l'Alanine, de la Sérine voire de la Tyrosine (**Erreur ! Source du renvoi introuvable.**) formant ainsi des blocs hydrophobes (GAGAGS)<sub>n</sub> représentant 94% du polypeptide.

Au moins deux chaînes sont présentes, une légère et une lourde, pesant respectivement 25 et 325 kDa. Elles sont jointes par liaison di-sulfure au niveau de leur extrémité C-terminale.

### 1.1.2. Séricine

La séricine correspond à la gaine souple adhérent aux deux filaments de fibroïne qu'elle entoure. Elle apporte de la souplesse et un état de surface lisse à la fibre de soie. Hydrophile, elle est essentiellement composée de Sérine, Thréonine, Glycine et d'Acide aspartique (type A) agencés en hélice  $\alpha$  ou en feuillet  $\beta$  aléatoirement répartis. Certaines formes, moins solubles contiennent du Tryptophane (type B) quand d'autres contiennent de la Proline (type C) et sont insolubles. Solubilisée à 50-60°C, elle se transforme en hydrogel pour des températures plus basses augmentant la part de feuillets  $\beta$  (16).

La séricine a longtemps été associée à une réponse immunitaire(17) mais des études plus récentes *in vitro*(18) et *in vivo* ont invalidé dans les années 2000 son caractère pro-inflammatoire et recruteur de macrophages pour en déduire que c'est l'association de la fibroïne avec la séricine qui induit cette réaction inflammatoire. Il a été montré chez le rat que cette protéine pouvait augmenter de manière fugace la production de TNF- $\alpha$  et d'IL-1 $\beta$  mais sans activer la cascade inflammatoire. Des essais *in vitro* rapportent également sa non cytotoxicité (19). Elle est ainsi utilisée en cosmétologie, en additif aux milieux de culture de cryoconservation, dans le pansement des plaies, en oncologie, dans l'inhibition de la peroxydation lipidique et dans le traitement de l'obésité (16).

### 1.1.3. Autres espèces de vers à soie

Les vers à soie possèdent une grande diversité phylogénétique. Si *Bombyx morii* fut étudié des suites de la sériculture au sein de l'empire du milieu, la fibroïne et la séricine se retrouvent dans des cocons d'autres espèces. C'est notamment le cas des espèces de vers Tasar indiens (*Antheraea mylitta*) et chinois (*Antheraea pernyi*) qui possèdent la plus grosse capacité de production de soie (20), des espèces de Muga (*A. assama*) et des Eri (*P. ricini*).

### 1.2. Soies d'araignées

Les soies d'araignées présentent une plus grande hétérogénéité selon la glande de laquelle elles proviennent, chacune ayant des usages spécifiques. De surcroît, la diversité des plus de 50 000 espèces référencées en 2020 par *World Spiders Catalog*(21) s'accompagne de mutations des gènes codant pour les protéines de soie augmentant cette diversité protéique.

On considère, depuis les biologistes Simon et Pocock à la fin du XIX<sup>e</sup> siècle, deux grandes familles d'araignées (**Erreur ! Source du renvoi introuvable.**) : *Aranaemorphae* rassemblant des espèces se servant de la soie pour faire des toiles leur permettant entre autres d'attraper des insectes ; *Mygalomorphae* correspondant à des espèces plus volumineuses, plus trapues, incluant également les tarentules et la fameuse *Theraphosa blondi* qui n'ont pas besoin de toile pour attraper oiseaux et opossums. Ces dernières ont néanmoins une à trois types de glandes pour par exemple envelopper leurs œufs quand les *Anaraemorphae* les ont diversifiés au nombre de six en moyenne voire sept dont la composition change d'une glande à l'autre mais reste similaire d'une espèce à l'autre en fonction des habitudes de chasse de l'araignée(22). Ce sont les soies des *Anaraemorphae* qui font principalement l'objet de recherches pour leur soie de toile. L'analogue de la fibroïne retrouvée chez l'araignée est appelé *spidroïne (Sp)*.



Figure 4 : Deux grandes familles d'araignées : Les *Aranaemorphae* représentées ici par *Nephilia clavipes* (gauche) et les *Mygalomorphae* représentées ici par *Theraphosa blondi* (droite)

Étudiée pour son pouvoir adhésif depuis les années 1960(23), une culture de la soie d'araignée fut envisagée, comme c'était déjà le cas avec la soie de *Bombyx mori*. Mais celles-ci devenant



cannibales quand regroupées en grande densité de population, l'élevage industriel devint impossible. De plus elles ont tendance à réingérer leurs toiles lorsque ces dernières ne lui trouvent pas d'utilité.

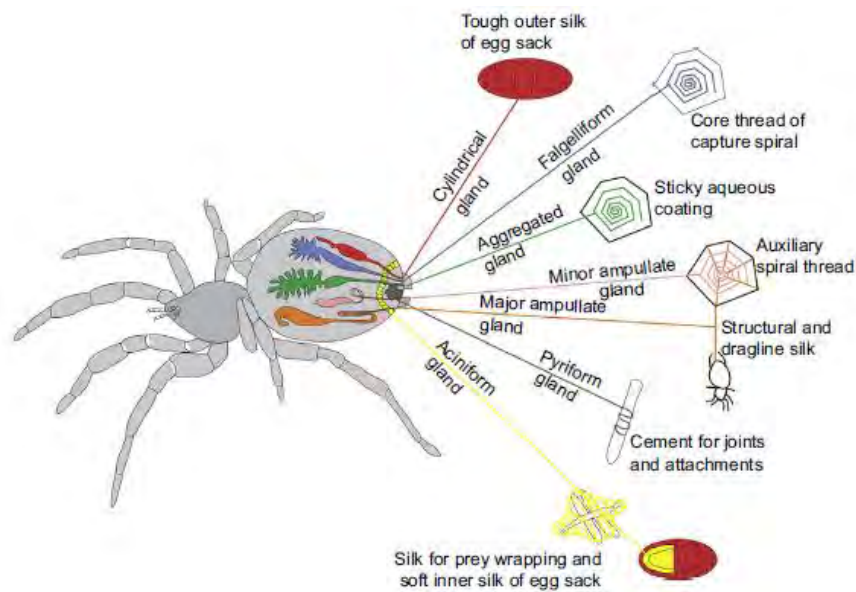


Figure 5 : Présentation des différentes glandes de de araignée de la famille Aranaomorphae et des usages de leur soie(24)

La soie de la glande ampullacée majeure (MA) est utilisée pour concevoir les fondations de la toile. Elle est généralement constituée de *Spidroine Majeure 1 et 2 (MaSp 1 & MaSp2)* à respectivement 80% et 20% mais les proportions peuvent varier selon les espèces(25). Leurs séquences protéiques sont composées d'unités répétitives comportant essentiellement de Glycine et d'Alanine  $(GA)_n$  / GPGGX / GPGQQ. A l'instar de la soie de *Bombyx morii*, la soie Dragline possède une organisation en feuillet pour 15-20% du volume, le reste correspondant à une phase semi-cristalline(26). Elle subit des modifications post-traductionnelles, essentiellement des phosphorylations chez les araignées *Nephila*.(27) Elle est réputée pour ses propriétés mécaniques, plus solides que l'acier ou le kevlar.

La soie de la glande ampullacée mineure (MI) ressemble par sa composition à la soie de la glande majeure, constituée de *Spidroïne mineur 1 et 2 (MiSp1-MiSp2)*. Elle sert d'échafaudage temporaire pendant l'édification de la toile avant d'être remplacée par la soie de la glande majeure.

La soie de la glande flagelliforme est constituée majoritairement d'une protéine de 500kDa à forte teneur en Glycine, enrichie en Proline et en valine avec moins d'alanine que les soies des glandes majeures et mineures. Son unité de base est GPGGX/GGX. Aussi appelée « viscid » et abrégée

« *flag* », cette soie de capture hautement élastique est disposée en spirale de capture autour de laquelle des gouttelettes de soie *aggregate* sont déposées pour fixer la proie. La soie flagelliforme possède une haute absorbance cinétique amortissant l'impact des insectes.

La soie de la glande *aggregates* se présente sous la forme de globules déposés le long d'un fil de soie flagelliforme pour capturer les proies, réputée pour son fort potentiel adhésif. Son excrétion suit le même procédé que pour les fibres(28). L'analyse de leur séquence révèle un motif de 36 acides aminés répété 55 fois dont un sub-motif X1PGGX2 est un analogue du motif de l'élastine, VPGXG/GPGQQ.(29) La composition moléculaire révèle deux protéines AgSp1 (1450 kDa) et AgSp2 (400-600 kDa) de très grande taille mais le motif répété n'a pas été trouvé(30). L'adhésion primaire serait liée à la présence de glycoprotéine et le maintien de cette adhésion est assuré par l'hygroscopie de composé à faible masse moléculaire (*Low Molecular Mass Compounds, LMMC*) même dans des conditions de haute humidité.(31) Les LMMC seuls ne permettent pas d'obtenir ces qualités adhésives, c'est bien leur interaction avec les glycoprotéines qui le permet.(32) L'hypothèse serait qu'elles permettent une élasticité et une extensivité permettant de retenir les proies.

La soie de la glande aciniforme est utilisée pour envelopper les proies fraîchement capturées ainsi qu'en éluant spermatique des mâles.

La soie de la glande tubuliforme sert à faire les cocons des soies pour la descendance de l'araignée. Les protéines de spidroine la composant sont abrégées TuSp

La soie de la glande piriforme permet de faire les points de jonction entre les soies majeures, mineures et flagelliforme ainsi qu'à faire adhérer la toile à différentes surfaces (branches d'arbres, murs). La soie pyriforme est très différente des autres types de soie. Constituée de protéines PySp1 et PySp2, deux motifs répétitifs ont été identifiés sur PXPXP(33) (PySp1) et QQXXXX(34) (PySp2), elle est réputée pour ses propriétés adhésives.

### 1.3. Principe d'excrétion commun aux araignées et aux vers

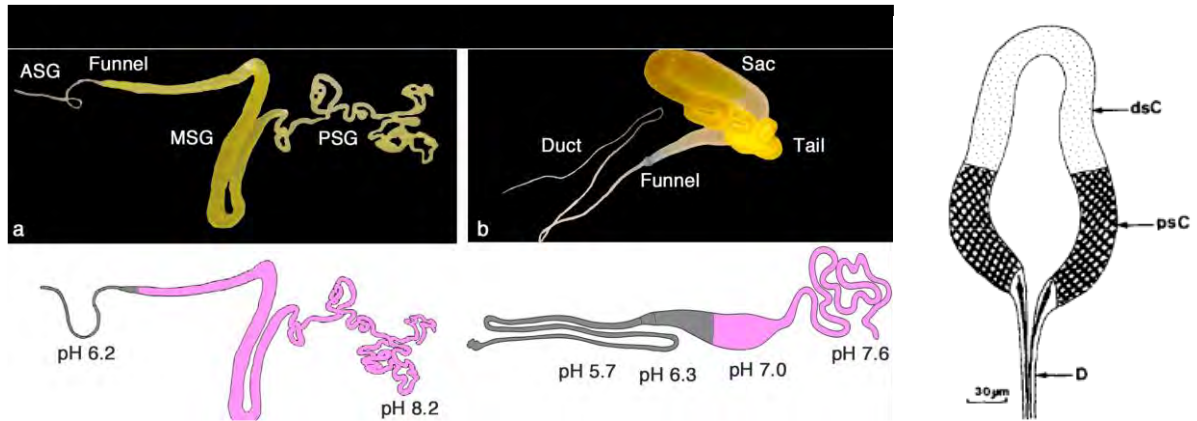


Figure 6: GAUCHE : Comparaison de l'organisation des glandes séricigènes antérieures, moyennes et postérieures (ASG, MSG, PSG) de *Bombyx mori* (gauche) et d'une glande Ampulate Majeure de *Nephiloida* (droite). Les cellules séricigènes sont dans la partie proximale (rose) et les cellules productrices d'anhydrase carbonique sont dans la partie distale (grise) DROITE : Représentation de la glande pyriforme avec des cellules sécrétrices distales (dsC), proximales (psC) et un conduit sécrétrice (D)

Les glandes séricigènes de *Bombyx mori* et des araignées partagent une même organisation(35) même si des variations anatomiques sont possible(36) (Figure 6).

Parmi ces différentes protéines de soie, les séquençages du transcriptome montrent un schéma commun, construit sur des extrémité N-terminal et C-terminal non répétitives encadrant des unités intermédiaires répétitives. Si les unités intermédiaires ont leur importance dans la configuration de la protéine obtenue(37), les unités terminales ont la leur dans les propriétés de la fibre à travers les interactions lors du stockage et de l'assemblage (38) (Figure 7) .

Le diamètre du canal excréteur va progressivement passer de 400µm à 50µm chez *Bombyx mori* et de 100µm à <10µm chez l'araignée. Sous l'action de forces de cisaillement, d'une diminution du pH par l'action conjointe d'échanges d'ions et des anhydrases carbonique sécrétées par l'épithélium situé dans les portions distales de l'ampoule, il y a dissociation de phase entre les micelles de soie se solidifiant et le gel liquide (Figure 7). Si la soie dans sa phase désorganisée est sous forme de bobine aléatoire, celle-ci passe par différentes formes d'organisation croissantes vers les cristaux liquides mêlant hélice-  $\alpha$ , hélice- $\beta$  pour les phases intermédiaires aux feuillets- $\beta$  pour les plus organisées par liaison hydrophobe(35). A noter que cette organisation en feuillet- $\beta$  est par exemple valable pour les MaSp et les MiSp mais pas pour les Flag plus chargée en hélice- $\beta$  qui auront de fait une plus grande extensibilité(39).

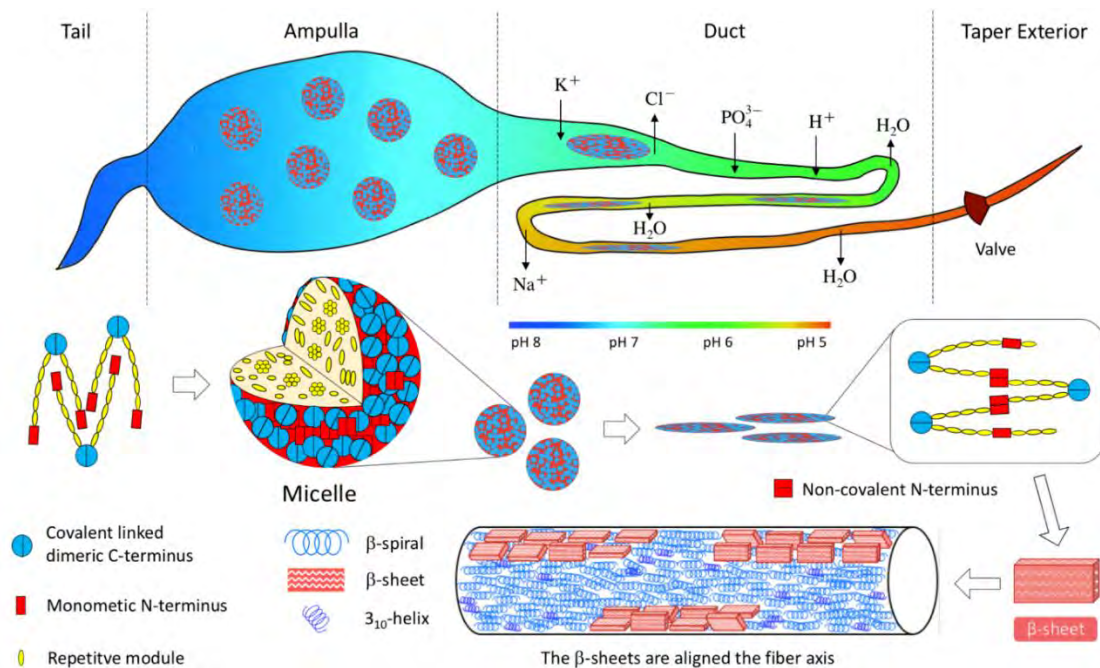


Figure 7: Fonctionnement d'une glande Ampullacée majeure de l'araignée et structure organisationnelle d'une fibre de soie (40)d'après (38)

#### 1.4. Les soies maritimes

Si les araignées vivant au bord des lacs peuvent tisser des toiles à la surface de l'eau, on ne retrouve pas de toile pour les araignées subaquatiques.

Le byssus est un faisceau de filaments qui permet à certains mollusques comme la moule de se fixer sur leur support. Constitué de collagène, d'analogues de l'élastine et d'analogues de fibroïne, il est synthétisé par des rainures situées au niveau du pied de la moule (**Erreur ! Source du renvoi introuvable.**). Moulé par injection sur une épaisseur de 100µm, son rôle est adhésif, antimicrobien et de résistance à l'abrasion(41).

Le byssus est constitué de trois parties :

- La plaque : C'est la partie qui intéresse le plus l'industrie pour sa capacité à adhérer à n'importe quelle surface dans un environnement d'eau salée. Ces propriétés sont liées aux protéines Mfp-3, Mfp-5 et Mcfp-6 qui représentent la première ligne d'adhésion.(42) Cette dernière est augmentée par la présence de DOPA et l'infiltration d'ions Calcium ( $Ca^{2+}$ ) et Fer III ( $Fe^{3+}$ ) depuis le milieu maritime.
- La fibre : Constituée d'un noyau de pré-collagène et TMP ralliant la plaque et d'une cuticule (membrane externe) de Mcfp-1
- Le pied

	Soie d'araignée	Byssus de Moule
Processus de fabrication	Tissage	Injection <i>molding</i>
Fiber thickness (µm)	5	100
Coating thickness	0.1-0.2	2-4
Coating composition	Lipides, Glycoprotéines	Mussel foot protein-1
Coating fonction	Barrière antimicrobienne, équilibre hydrique, phéromone	Anti-microbien, Résistance à l'abrasion

Tableau 1: Comparatif entre la soie d'araignée et le byssus de moule(41)

Parmi les crustacés, le pétoncle de Farrer (*Chlamys farreri*) a montré un schéma différent avec sept protéines byssales identifiées (Sbp1-Sbp7)(43). Au moins 14 protéines byssales ont été identifiées dans la perle de *Pinctada fucata* sans qu'aucune ne corresponde aux protéines Mfps ou Sbp(44). Enfin l'organisation des mollusques bivalves en eau douce comme *Dreissena polymorpha* révèle 12 nouvelles protéines du pied de la moule (Dpfp1-Dpfp12)(45). De plus amples études sur la caractérisation fonctionnelle de ces protéines sont donc nécessaires pour révéler leur potentiel dans l'ingénierie en milieu aquatique.

### 1.5. Synthèse des propriétés

La proportion de feuillets beta est déterminée par spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR)(46).

Paramètre	Soie d'araignée	Soie de vers à soie
Type de glande	6 types de glandes abdominales	1 type de glande buccale
Domestication	Impossible	Domestiqués
Revêtement externe	Glycoprotéines	Séricine
Protéine	Spidroïne	Fibroïne
Taille	275-320kDa	350kDa
Séquence (motif)	GPGGX, GPGQQ	GAGAS, GAGAY
Glycine	37%	46%
Alanine	21%	29%
Serine	4.5%	12%
Beta-sheet	30% (Ampulacée majeure)	40-50%
Hydrophobic contents	Variable, riche en glycine	Résidus hydrophobes
Contraction hydrique (%)	44 +/- 2 (ampulacée majeure)	0 +/- 1 (résiste à l'eau)

Tableau 2: Comparaison des propriétés de la soie d'araignée et de la soie de vers à soie(47).

### 1.5.1. Propriétés mécaniques

Les protéines natives de soies sont réputées pour leur compromis entre leur résistance à la rupture, leur potentiel d'élongation, leur module d'élasticité, leur ductilité et leur ténacité. Les fibres de soies sont ainsi réputées pour être plus résistantes que le Kevlar ou l'acier.

Les fibres de soie d'araignée sont particulièrement concernées par ces propriétés mécaniques exceptionnelles, notamment celles venant de la glande ampullacée majeure. Celle de *Caerostris darwini* avait par exemple une résistance à la rupture de 1.7GPa pour un module d'élasticité de 10GPa(48) quand celle de *Bombyx mori* rompt jusqu'à 0.5GPa pour un module à 7GPa et 15% d'élongation(49). Mais certaines *draglign* comme celle de *Plebs sachalinensis* ont des résistances à la rupture pouvant dépasser les 3GPa pour des modules d'élasticité de 30GPa(50). Cette différence de propriétés serait autant liée aux conditions d'excrétions comme la vitesse qu'à leur séquence protéique (49,51,52). Par rapport aux autres matériaux d'origine naturelle, la soie possède le meilleur rapport entre densité et rigidité. Elle possède également un excellent ratio entre résistance et élasticité(53) comme présenté en Figure 8a.

Les soies artificielles sont loin d'égaliser les propriétés des soies natives du fait de l'absence de liaison hydrogènes. Ces dernières sont irréversiblement rompues lors de l'utilisation de solvants comme le Bromure de Lithium qui s'avère chaotropique. De plus la soie de laboratoire perd l'enchevêtrement naturel procurant une plus-value aux propriétés des matériaux composites vivants. En effet, les propriétés des composites naturels comme l'os ou la nacre sont souvent supérieures à la somme de celles de leurs composants. Ce potentiel architectural surclasse la loi des mélanges qui préfigure les propriétés d'un composite selon celles de ses constituants. Ainsi comme présenté Figure 8b, les matériaux obtenus (ronds pleins) ont des propriétés plus élevées que leur valeur théorique (ronds vides)(54). E Munch & al ont ainsi réussi en mimant l'architecture du nacre à recréer cet effet sur un composite synthétique à base de PMMA et d'Alumine (55).

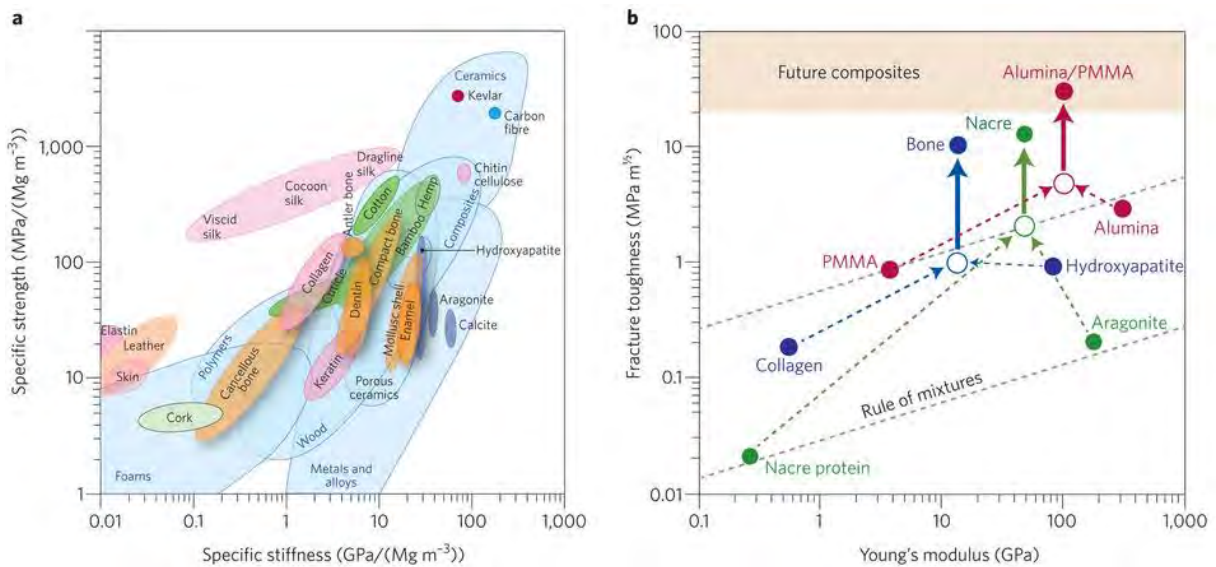


Figure 8: (a) Graphique d'Ashby des valeurs spécifiques (normalisées par la densité) de résistance et de rigidité (ou module de Young) pour les matériaux naturels et synthétiques. (b) Graphique montrant la rupture de la loi des mélanges, symbolisée par des pointillés. Tous deux issus de la revue de U. G. K. Wegst & al.(54)

### 1.5.2. Dégradabilité

L'utilisation de la soie en ingénierie tissulaire se justifie par son excellente biocompatibilité et sa dégradabilité paramétrable.(56) Comparée aux autres matériaux synthétique biodégradables comme les polycaprolactones ou l'acide poly-(L)-lactique, la fibroïne de soie n'émet pas de monomère intermédiaire. Plus intéressant encore, contrairement à des éléments de la matrice extra-cellulaire comme le collagène ou la gélatine, la purification de la soie ne nécessite pas de fragmentation cellulaire, ce qui réduit les risques de contamination(57). Enfin la fibroïne de soie montre un très faible taux d'antigénicité. Ainsi les échafaudages poreux de fibroïne peuvent être utilisés comme matrice extra-cellulaire temporaire pour maintenir l'espace à une prolifération, une différenciation et même une migration cellulaire.

La dégradation de la soie dépend de plusieurs paramètres comme la teneur en feuillet  $\beta$ , la concentration en fibroïne, la porosité, la stabilité structurale liée aux pressions locales et au taux de croissance tissulaire. La soie se dégrade par l'action d'enzymes hydrolysant les liaisons amides entre les acides aminés qui sont alors facilement réabsorbés. L'action de ces protéases XIV, protéase K et de l' $\alpha$ -chymotrypsine fut étudiée in-vivo et in vitro, révélant qu'elles facilitaient la rupture des fibres. In vitro, la protéase XIV dégrade la soie en dix jours quand elle est sous forme de fibre et en 8 semaines sous une disposition tri-dimensionnelle (scaffold). In vivo, la dégradation se fait rapidement pendant les neufs premiers jours pour se ralentir les dix-huit jours suivants. La conformation change alors et l'échafaudage est en général totalement dégradé après huit à dix semaines pour une demi vie de un mois(58,59).



## 1.6. Production de soie synthétique

Avant toute chose, il est nécessaire de séparer la fibroïne de la séricine pour l'élaboration d'échafaudages de régénération tissulaire. Cette phase d'extraction aboutit à l'élaboration d'une solution de *Fibroïne de Soie Régénérée* (RSF). Les cocons de soie sont insérés dans de l'eau bouillante contenant du carbonate de sodium pendant 30 voire 60 minutes avant de la rincer trois fois dans de l'eau distillée et laisser sécher les résidus de fibroïne. (60,61)

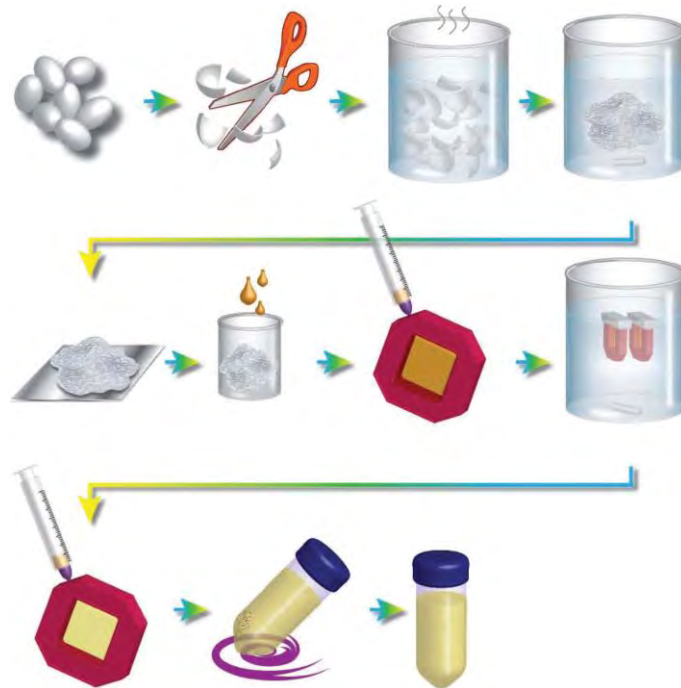


Figure 9: Protocole d'obtention d'une solution de soie régénérée à partir de cocons.

Vient ensuite un processus de solubilisation dans un solvant salin, ici Bromure de Lithium (LiBr) qui sera transféré dans une cassette de dialyse. Une fois sortie de la cassette, la solution de RSF de concentration 6-7% (w/v) sera centrifugée deux fois avant d'être stockée à 4°C. (Figure 9). Au lieu d'être dissoute dans un solvant salin, la fibroïne peut être dissoute dans un solvant organique, le 1,1,1,3,3,3-hexafluoro-2-propanol (HFIP) après lyophilisation.

La soie est alors prête pour un traitement pour obtenir un film, un maillage fibreux, des hydrogels ou des éponges. Elle peut être préalablement couplée à d'autres polymères pour créer un composite. Il est également possible d'apporter un traitement chimique pour entraîner une réticulation avec d'autres composés, une fonctionnalisation via l'apport de principes actifs ou un couplage de type bio-ingénierie pour l'obtention de protéines hybrides ou de revêtements actifs(62,63)

Une fois l'architecture choisie il ne reste plus qu'à induire la cristallisation des feuillets  $\beta$ . Celle-ci peut se faire par immersion dans un alcool comme l'éthanol ou le méthanol, par un séchage lent



ou par une nouvelle cuisson à la vapeur d'eau. La première méthode est plus rapide mais les chercheurs souhaitant éviter l'emploi d'alcool s'orientent sur la seconde qui dure plusieurs heures. En faisant varier la température de cette vapeur, il est cependant possible de moduler le taux de feuillets beta présents dans le film.(64)

### 1.6.1. Films

Les films de soie ouvrent une possibilité d'analyse de matériaux pour des tests tant in vitro qu'in vivo mais aussi une voie dans la libération prolongée en incorporant des molécules bioactives ou des cellules selon des schémas précis. Ces films sont obtenus en déposant de la solution de soie dans un récipient que l'on va lyophiliser toute la nuit. Il est possible d'incorporer des motifs au fond du récipient à l'image d'un moule pour les retrouver sur le film. Ces derniers sont ensuite séchés et recuits à la vapeur d'eau avant d'être immergés dans du PBS toute une nuit. L'épaisseur de ces films est paramétrable en variant la concentration de la solution de soie.



Figure 10: Schéma pour l'élaboration de films de soie à motifs ou lisses

### 1.6.2. Microtubes

Deux méthodes permettent l'obtention de tubes de soie. La première consiste à plonger un mandrin dans la solution de RSF et de la répartir homogènement en inclinant le tube en fonction des excès et des manques. Le mandrin enduit est ensuite plongé dans une solution de méthanol ou d'éthanol pour induire la cristallisation des feuillets  $\beta$ .

Une autre technique consiste en l'adjonction sur le mandrin en rotation de gel de fibroïne suivi d'une application de méthanol. Si des tubes poreux sont requis, l'ajout d'oxyde de poly-éthylène (PEO) à la solution de RSF sera indiqué.

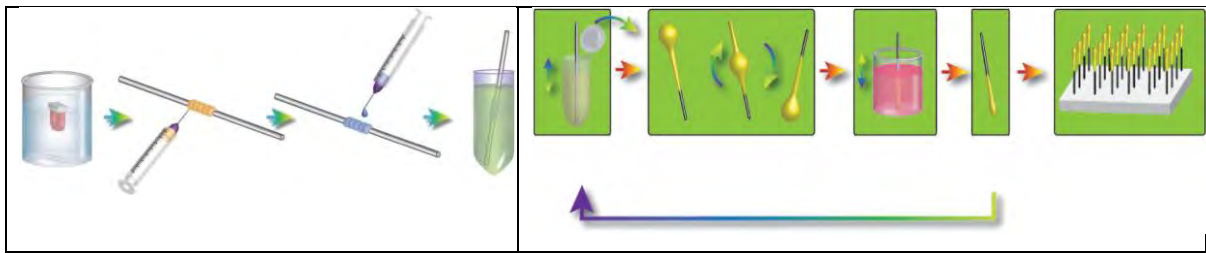


Figure 11: Présentation des deux méthodes pour l'élaboration de tubes de soie. A gauche la méthode par tissage d'un gel au travers d'une seringue, à droite la méthode de trempage.

### 1.6.3. Fibres artificielles & Eponges fibreuses

L'*electrospinning* ou électrofilage est un procédé permettant l'élaboration de fibres uniformes de très faibles diamètres (<800nm) avec possibilité d'y adjoindre des principes actifs. Il consiste en la solubilisation de la soie dans un solvant comme le polyéthylène glycol ou l'acide formique qui facilite un filage de diamètre réduit par l'appareillage (65)(Figure 12).

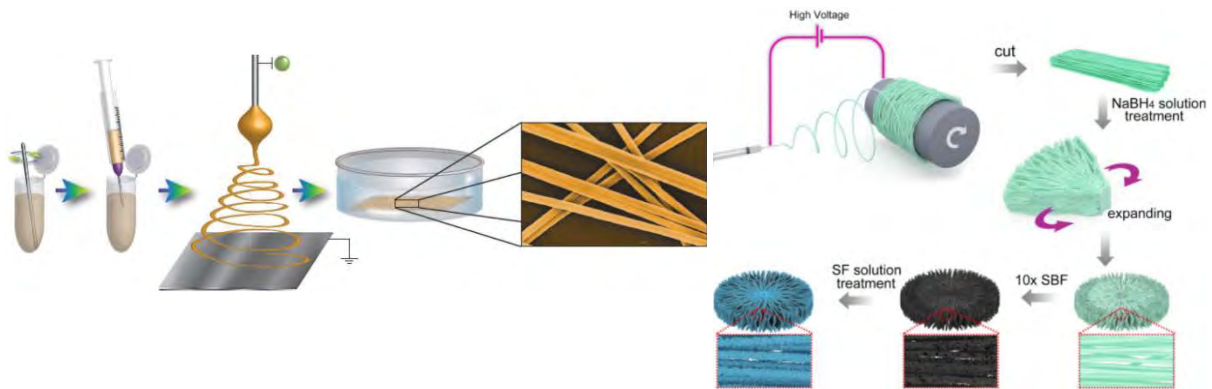


Figure 12: Schéma montrant le principe de l'électrofilage d'une solution de soie (gauche) et l'évolution du concept de fibres coaxiales pouvant subir d'autres transformations pour ordonner les fibres (droite)

La taille des fibres obtenues est paramétrable en faisant varier la concentration de la RSF, cette variation est également corrélée à la dégradation de l'échafaudage obtenu. Les échafaudages ayant des fibres de plus petits diamètres ont un meilleur impact sur la prolifération cellulaire que les échafaudages aux fibres de plus gros diamètre.(66) Un tressage des fibres obtenus permet d'augmenter d'autant plus la résistance mécanique des fibres. Les modules de Young et résistance à la tension de fibres hybrides PLA/Fibroïne sont alors multipliés par 2 et par 4 pour atteindre respectivement 417.65MPa et 180.36MPa.(67)

#### 1.6.4. Hydrogels

De nombreux mécanismes permettent l'obtention d'un hydrogel, les plus basiques peuvent être obtenus en quelques minutes. Parmi ces méthodes on retrouve l'émulsion/vortex, la sonication ou la modulation par le pH. Il est possible de mélanger la solution de soie avec d'autres matériaux naturels ou synthétiques avant élaboration et des cellules peuvent être insérées dans les gels après stérilisation (68).

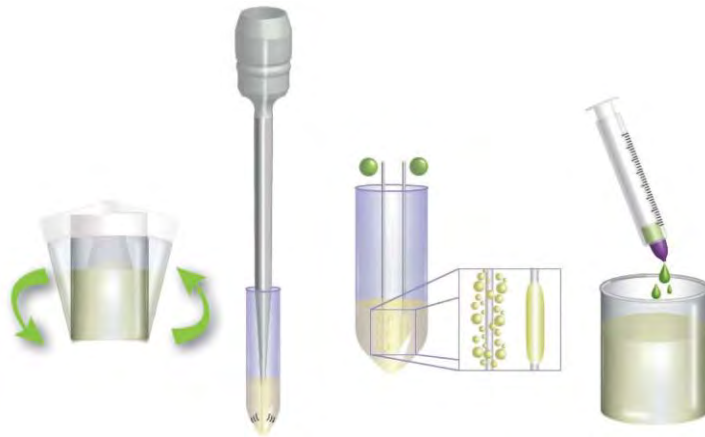


Figure 13 : Méthodes de fabrication d'hydrogels de soie par centrifugation, sonication, modulation du pH (de gauche à droite)

#### 1.6.5. Eponges ou Aéro-gel ou Mousse

Plusieurs méthodes de production sont possibles pour obtenir un échafaudage poreux. L'élaboration des pores peut être faite par l'utilisation de porogènes facilement éluables comme NaCl dont la granulométrie assure la régularité, par des gaz moussants comme le protoxyde d'azote(69) ou le dioxyde de carbone ou par lyophilisation. L'objectif étant de tendre vers un gel, les techniques utilisées pour la fabrication d'hydrogel sont cumulables.

La méthode par sédimentation de particules porogènes peut se faire avec une soie dissoute en solution aqueuse ou organique (Figure 12). Outre la taille des particules porogènes, la température est un autre facteur conditionnant la taille des pores finales. Celle-ci devrait être contrôlée à 30-35°C et non laissée au bon vouloir de la température ambiante. (70)

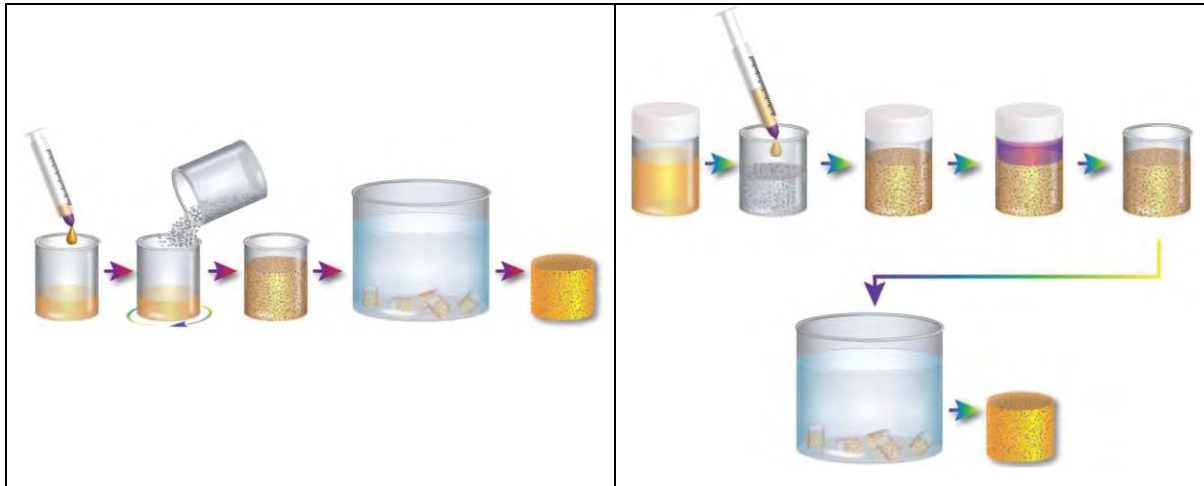


Figure 14: Représentation de la méthode d'élaboration de mousse par particules porogènes, en solution aqueuse (gauche) ou organique (droite)

La lyophilisation en condition frigorifique ou freeze-drying est une seconde méthode consistant à éliminer l'eau ou le solvant d'une solution congelée après émulsion ou après introduction de sels porogènes. Cette sublimation sous vide permet l'obtention d'échafaudages anhydre ou presque anhydre avec 90% de porosité avec des diamètres allant de 20 à 200 $\mu$ m. La taille des pores peut être diminuée en augmentant la concentration de la solution soie, en diminuant la température de la solution avant traitement, le pH ou la vitesse de congélation. (71,72)

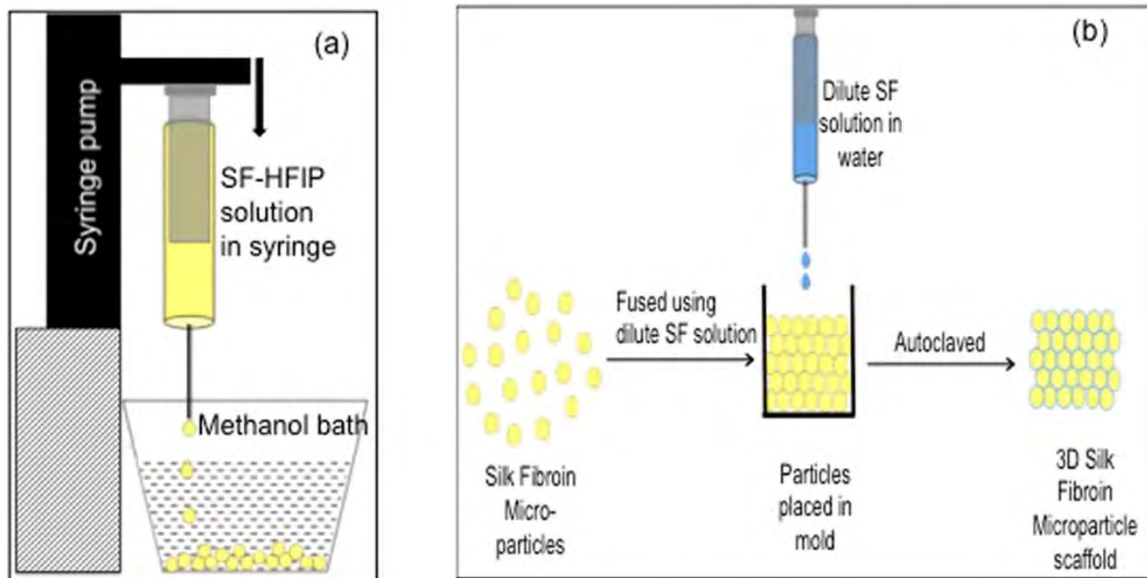
La littérature compare le lien entre la méthode d'élaboration du scaffold et ses propriétés. Les échafaudages obtenus par filtration de solvants obtiennent de bien meilleures propriétés mécaniques, loin devant les méthodes aqueuses puis lyophilisées, mais il semblerait qu'elles soient moins performantes sur le plan biologique. Ceci pourrait s'expliquer par la présence de solvants résiduels.(73) Des études in vivo de 8 semaines sur ostéocytes montrent que les scaffolds HFIP développent des zones nécrotiques quand les scaffolds de sédimentation aqueuse permettent une configuration trabéculaire de l'os néoformé.(74,75) Il apparait également une difficulté des organismes à dégrader les scaffolds issus de la sédimentation organique(76) qui peuvent mettre plus d'un an à se dégrader in vivo(77).

#### 1.6.6. Nanoparticules & Microsphères

Les micro- et nanosphères permettent de charger des facteurs de croissance ou de petites molécules thérapeutiques. Le premier protocole est d'utiliser des acides gras insaturés (1,2-dioleoyl-*sn*-glycero-3-Phosphocholine ou DOPC) pour encapsuler une solution aqueuse de soie dans laquelle est introduite la molécule d'intérêt. Les lipides sont alors retirés et les particules obtenues, d'un diamètre de 2 $\mu$ m peuvent être remise en suspension.

Le second protocole consiste en l'utilisation d'un polymère (alcool polyvinyle) pour réaliser une séparation de phase. Les particules obtenues ont un diamètre plus modulable (300nm-20 $\mu$ ), soit par la variation de la proportion SF/PVA, soit par sonication.

Une dernière stratégie consiste en la dilution de la fibroïne dans un solvant comme précédemment évoqué pour la placer dans une seringue qui laissera échapper un goutte à goutte de solution dans un bain de méthanol....(78)



### 1.6.7. Impression 3D

L'impression 3D est en plein expansion, ceci se ressent dans la diversité des protocoles. Elle peut se faire par addition via l'extrusion d'un hydrogel ou par photopolymérisation DLP. Il y aura nécessité d'additifs, comme respectivement le PEG ou des méthacrylates. A l'instar des autres polymères étudiés dans la littérature, la soie évolue à travers plusieurs procédés :

- La bio-impression par jet d'encre
- La bio-impression par extrusion : La trainée de soie se produit plus lentement que pour la technique en jet d'encre avec une résolution plus grossière et une viscosité obligatoirement plus élevée. Mais la densité cellulaire peut être bien plus élevée que dans les autres techniques.
- La bio-impression par photopolymérisation : Permettant une meilleure résolution que les autres techniques, elle comprend deux procédés : La Stéréolithographie (SLA) basé sur le laser et le Digital Light Processing (DLP) basé sur un écran numérique.

### 1.6.8. Elaboration de soie d'araignée

Le protocole de synthèse de soie d'araignée a une étape préalable de génie génétique lié à l'impossibilité d'avoir un élevage d'araignées.(79) Les soies recombinantes concernent le plus souvent les gènes de *Nephila Clavipes* et *Araneus diadematus*. Après définition de l'ADNc, il est possible de faire des adjonctions génétiques pour essayer d'augmenter sa bioactivité.

### 1.7. Application biomédicale & intérêt croissant de la recherche

La soie, principalement issue de Bombyx Mori, fait l'objet de nombreuses recherches pour ses applications biomédicales depuis le début du XIXe siècle(80). Les soies d'araignées, des autres vers à soie et les soies sub-aquatiques font l'objet d'études d'applications biomédicales plus rares alors que d'autres comme la soie d'abeille sont encore au stade observationnel (81). Elle est étudiée comme vecteur de molécules cytotoxiques à vocation oncologiques (82,63). Sa libération paramétrable permet d'établir des séquences de thérapie ciblée via l'adjonction d'anticorps mais aussi d'atteindre des cibles intracellulaires par l'adjonction d'une couche lipidique cationique (83).

Au vue des propriétés intéressantes de la soie, les applications de celle-ci dans la sphère dentaire et cranio faciale posent question(84).

On ne ressent à ce jour que peu de revues systématiques en lien avec la soie (85), celle-ci se spécifiant à l'utilisation de la soie issue de Bombyx Mori pour la régénération du cartilage par exemple. Cependant la régénération des tissus dentaires et parodontaux appelle à une diversité histologique intéressant les vaisseaux sanguins, les tissus osseux, ligamentaires et nerveux. Les études sur les tissus glandulaires ont été exclues de cette revue systématique, tout comme les muscles. Les propriétés adhésives des protéines de soie ont été également analysées pour s'intéresser à un potentiel de dentisterie adhésive.

Objectif : Faire une revue systématique de la soie comme échafaudage tissulaire des tissus impliqués dans l'organe dento-parodontal.

## 2. Matériel & Méthode

### 2.1. Sélection des études

Pour sélectionner les articles, une recherche ciblée par mots-clés présents dans les titres et les résumés d'articles sur PubMed a été élaborée. Celle-ci vise les articles sur les tissus dentaires, gingivaux, parodontaux, nerveux, vasculaires, osseux, ligamentaires et les matériaux adhésifs.

Les articles répondant aux critères d'inclusion ont été répertoriés avant de subir un premier tri basé sur leur titre, noms des auteurs et leur résumé. Après passage au travers des critères d'exclusion, ils ont été sélectionnés et classés dans un tableur sur plusieurs feuilles en fonction du type de tissu concerné par l'article : Dento-parodontal / Angio / Ostéo / Nerf / Ligament / Adhésif / Produits Finis / Mise en Forme & Autres.

Les feuilles Dento-Parodontal, Angio, Ostéo et Nerf constitueront les résultats de ce travail quand les feuilles Adhésifs et Produits finis alimenteront la discussion. Les articles sur la régénération ligamentaire n'ont pas été inclus dans le protocole de lecture puisque leur objectif était de voir si la soie pouvait servir de tuteur cellulaire pour les fibroblastes. La feuille « Mise en Forme et Biomatériaux » correspond aux articles dont la finalité n'a pas été clairement affiliée d'emblée à un type de tissus. Ces derniers ne sont pas exclus et constituent le premier groupe d'article qui aidera à la définition de grilles de lecture pour les articles de résultats. Ces articles compléteront l'argumentaire développé au cours de la rédaction de ce travail en fonction des matériaux étudiés.

#### 2.1.1. Critères d'inclusion

- Articles en français, anglais, russe
- Articles sur des études menées in vivo & in vitro
- Articles originaux sortis jusqu'à décembre (janvier) 2021 sur la base de données PubMed (Medline)
- Articles contenant les mots clés

((**silk**[Title/Abstract]) OR (**byssus**[Title/Abstract]) OR (**fibroin**[Title/Abstract]) OR (**barnacle**[Title/Abstract])) AND ((**dental**[Title/Abstract]) OR (**gingiva**[Title/Abstract]) OR (**osteo\***[Title/Abstract]) OR (**bony**[Title/Abstract]) OR (**saliv\***[Title/Abstract]) OR (**angio\***[Title/Abstract]) OR (**ligament\***[Title/Abstract]) OR (**glue**[Title/Abstract]))

### 2.1.2. Critères d'exclusion

- Articles ayant « silk road » en titre ou résumé, se référant à l'Histoire ou à l'anthropologie
- « Silk » comme Nom d'auteur
- « Silk » comme ligature ischémique, suture (rapports de cas) ou matériau d'interposition occlusale
- « Silk » scaffold pour tissus non présents dans la sphère buccale (cœur, cerveau, vessie...)
- Articles faisant référence aux animaux eux-mêmes et à leur évolution dans le monde
- Articles concernant les glandes (faux positifs concernant les glandes des vers à soie)

### 2.2. Extraction des données & Données relevées

Les données sont extraites selon une grille d'extraction de données préparée au préalable. Pour l'objectif principal, les articles sont donc classés par la nature du tissu étudié.

Par article sont relevés :

- Identification de l'article : Titre / Auteurs / Date / Journal de publication
- Analyse générale de l'article : Cible étudiées / *In vitro* ou *In vivo* (animal hôte) / Origine de la soie / mode de mise en forme/ mode de cristallisation en feuillets beta / Galénique de l'échafaudage / Additifs mesurés / Groupe contrôle / Résultats / Taille des pores / Porosité / Dégradabilité
- Analyse spécifique de l'article : Selon les tissus, des critères d'évaluation *in vivo* :
  - o Pour les tissus osseux : Volume du défaut créé, BV/TV (Bone Volume/Total Volume), BMD (Bone Mineral Density)
  - o Pour les tissus nerveux : Longueur du défaut, CMAP (Potentiel d'Action Musculaire Composé), SFI (Indice de Fonction Sciatique), Vitesse de conduction

### 2.3. Risque de biais

#### 2.3.1. Biais inhérent à chacune des études

Seuls les résultats appuyés par des données chiffrées ont été considérées dans cette étude. Les coupes de microscopie et les photographies n'ont pas été prises en compte.

#### 2.3.2. Biais transversal aux études

Les biais potentiels sur la comparaison des études résident notamment dans les protocoles de mise en forme. S'il n'y a pas de consensus sur le protocole d'élaboration des différents échafaudages, les différentes équipes ont leur approche respective (temps, température d'ébullition, post-traitement de cristallisation, concentration en fibroïne, part en feuillets beta...).



En résulte ainsi des échafaudages aux propriétés différentes. Le post traitement de cristallisation étant plus régulièrement rapporté que les autres paramètres, nous avons relevé ce facteur lors de l'analyse des données. La concentration en solution de soie obtenue après solubilisation des cocons est généralement de l'ordre de 8%. Elle n'a été analysée que lorsqu'elle faisait l'objet d'un comparatif entre plusieurs concentrations.

### 3. Résultats et discussion

Sur les 2664 études répondant aux critères d'inclusion, 1111 furent triés sur leur titre pour entrer dans les différentes feuilles du tableur.

Stades éliminations	Par titre	Par lecture	Finalement cités
Régénération Vasculaire	64	56	30
Régénération Osseuse	565	523	217
Régénération Ligamentaire	69	0	0
Régénération Nerveuse	186	176	72
Régénération Dento-Parodontale	32	29	13
Adhésifs	34	34	
Autres Articles	161	159	5
Total :	1111	784	337

Tableau 3 : Récapitulatif quantitatif de la revue systématique

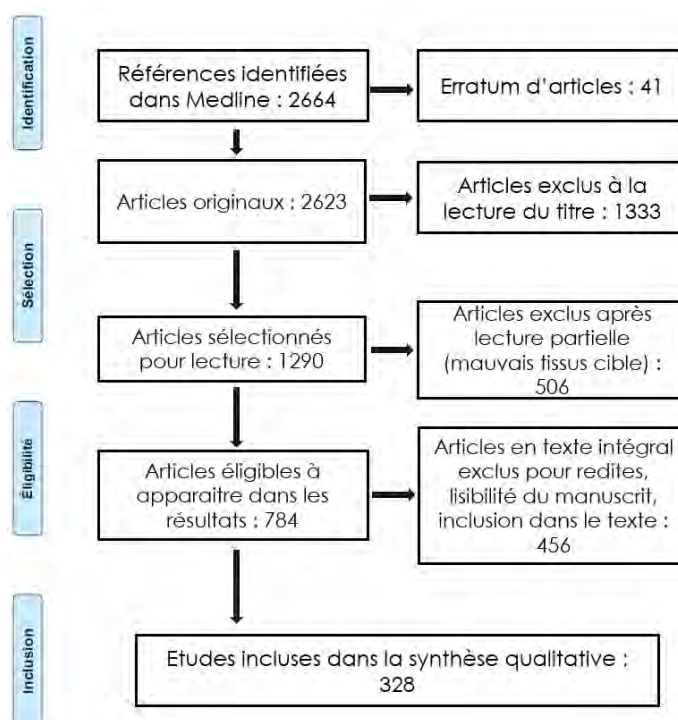


Figure 15 : Diagramme de flux de l'étude

### 3.1. Régénération du complexe pulpo-dentinaire

L'organe dentaire est un organe complexe constitué d'un paquet vasculo-nerveux, encapsulé dans une dentine, elle-même surmontée par l'émail dans sa portion coronaire et par un ensemble cémento-ligamentaire dans sa portion radiculaire. Cette pulpe délimitée par une barrière de cellules spécialisées, les odontoblastes, reçoit une irrigation terminale en provenance de l'apex radiculaire et possède un pouvoir de réparation limité.

La présence de films ou d'échafaudages de fibroïne soutient l'adhésion et la prolifération des hDPSC (86). Ce pouvoir régénératif peut être potentialisé par des facteurs de croissance conjonctifs (FGF) favorisant une bonne vascularisation et une apposition de matrice de type dentinaires. L'implantation sous-cutanée de sections dentaires transversales dont la lumière canalaire est garnie d'un scaffold pré-incubé avec des hDPSC entraînent une descendance cellulaire mélangeant des cellules transplantées et des cellules de l'hôte. (87)

### 3.2. Régénération parodontale

Un total de 7 articles a été retenu concernant la régénération parodontale, dont 3 avec expérimentation *in vivo*.

Dans une étude comparative d'hydrogel de soie versus de collagène, le taux de survie de l'ensemencement de fibroblastes est inférieur pour la fibroïne. Mais la dégradation de cette dernière (>3 mois) est bien supérieure à celle du collagène (2 semaines), ce dernier cédant rapidement à la réaction immunitaire déclenchée. Les propriétés mécaniques du scaffold après ensemencement sont significativement meilleures pour la soie (88).

### 3.3. Régénération vasculaire

Les vaisseaux sanguins sont dans l'ensemble constitués de trois couches cellulaires. L'intima est la couche épithélio-conjonctive (marqueur : CD31) interne qui ne varie pas selon le territoire vasculaire. Le grand axe des cellules épithéliales (endothélium) est longitudinal, déterminé par les forces de cisaillement de l'écoulement sanguin. La média est la couche de feuillets musculo-élastiques intermédiaire constituée de cellules musculaires lisses (CML) (marqueur  $\alpha$ -SMA) et lames élastiques dont le nombre est proportionnel au diamètre du vaisseau. Dans les artérioles on ne retrouve pas de lame élastique mais on retrouve une à deux couches de CML. Le tout est entouré par une couche collagénique, l'adventice. Le vasa vasorum est un réseau vasculaire

interne aux vaisseaux contenant plus de 29 feuillets et apporte nutriments et facteurs trophiques aux couches périphériques de l'adventice et de la média.

La néo angiogenèse est une étape fondatrice de toute régénération tissulaire. Basée sur des facteurs de croissance comme le VEGF, l'angiopoïétine 1 (Ang-1) ou le PDGF, elle permet la croissance de nouveaux vaisseaux sanguins qui seront amenés à se lier au système circulatoire pour assurer la pérennité de la régénération.

### **3.3.1. Films poreux de soie et angiogénèse**

Les études réalisées sur des films poreux de soie ont permis de déterminer le processus de la néoangiogénèse imagé *Figure 16*. Ce phénomène commence avec une légère réaction inflammatoire induite par la soie in vivo avec recrutement et activation de macrophages puis formation de cellules géantes multi-nuclées à la surface de l'échafaudage. La réponse de l'hôte au traumatisme de la section de capillaire lors de l'introduction du matériau est l'hypoxie qui déclenche l'expression et l'activation de VEGF. En résulte un bourgeonnement de capillaires en surface manifestant la réaction inflammatoire immédiate. Il y a alors germination de pré-vaisseaux sanguins dans le scaffold de manière concomitante à l'infiltration de fibroblastes et de néovaisseaux depuis sa surface. La densité en artériole augmente alors par anastomose des pré-vaisseaux jusqu'à un pic à 1-3 semaines puis une stabilisation s'opère à la 3<sup>e</sup> semaine avec la maturation des néo-vaisseaux. La fibroïne qui avait commencé à être dégradée à J+10 disparaît à partir de J+24 en fonction de ses conditions de fabrications. Les capillaires matures sont retrouvés dès J+15 ou J+25 selon les études (89–93). L'ajout de cellules progénitrices endothéliales double voire quintuple ce nombre de jointures entre les bourgeonnements capillaires(94).

Une étude comparative avec des membranes collagéniques montre que la soie par son recrutement de cellules géantes accueille une réaction inflammatoire plus profonde que le collagène. Ainsi après 60 jours elle est la seule à se munir d'une vascularisation interne et non pas seulement de surface. (95)

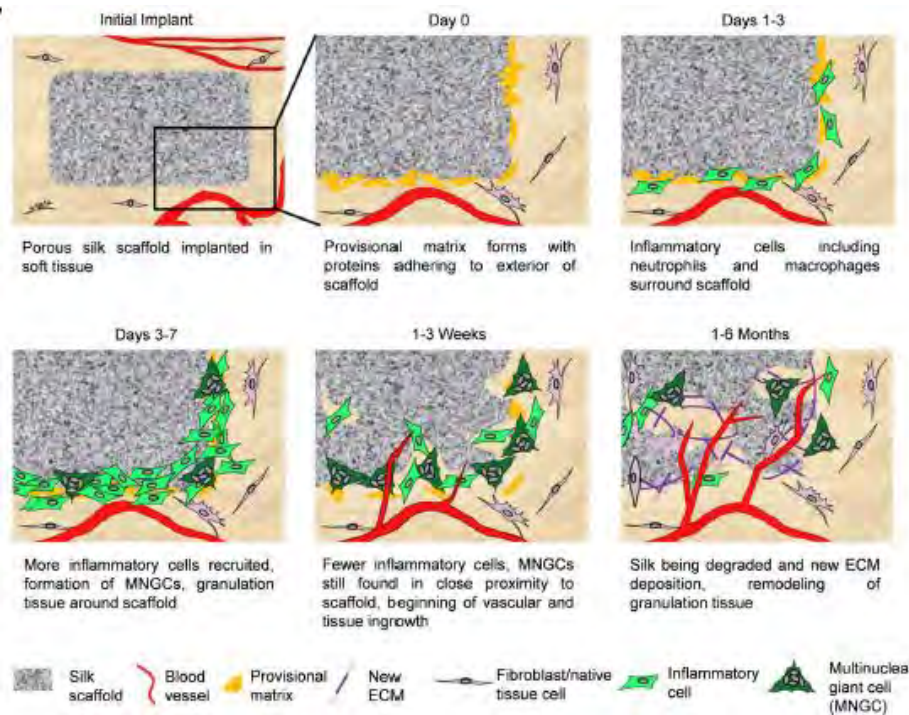


Figure 16: Mécanisme d'intégration et de colonisation vasculaire d'un échafaudage de soie. (92)

Les propriétés des échafaudages poreux, dépendant de leur conception, ont un impact sur leur bioactivité et leur dégradabilité. Le traitement au méthanol a la dégradabilité la plus lente (1/2 vie de 24 jours) et donne une biocompatibilité intermédiaire entre le traitement aux sels acides et l'absence de traitement. Les scaffolds de soie traités aux sels sont moins bioactifs mais se dégradent plus vite (1/2 vie de 10 jours) que les scaffolds non traités (2 jours)(96).

Une étude de la Chonbuk National University (Corée du Sud) a montré que les échafaudages de soie peuvent, contrairement à l'acide poly(lactique-co-glycolique), supporter la croissance de tous les types cellulaires composant les différentes couches des vaisseaux sanguins.

In vivo, on note une absence d'anévrisme, une apparition de l'endoderme au bout d'un mois de manière discontinue et une intégration homogène à trois mois. Si l'expression de CD31 est inférieure au taux retrouvé sur une greffe autologue, l'expression de VEGF augmente après l'implantation.

Des modifications structurales sont possibles au sein d'une éponge poreuse afin d'y faire figurer des micro-tube d'environ 500µm de diamètre. Il en résulte un échafaudage lyophilisé à la micro-architecture propre lui permettant de limiter l'apparition de cellules géantes multi-nucléées et ainsi de diviser par deux sa dégradabilité (97). Il est ainsi possible d'augmenter la pénétration vasculaire améliorant l'intégration des scaffold et de concevoir une banque de mégacaryocytes en mimant l'architecture de la moelle osseuse(98) (Figure 17).

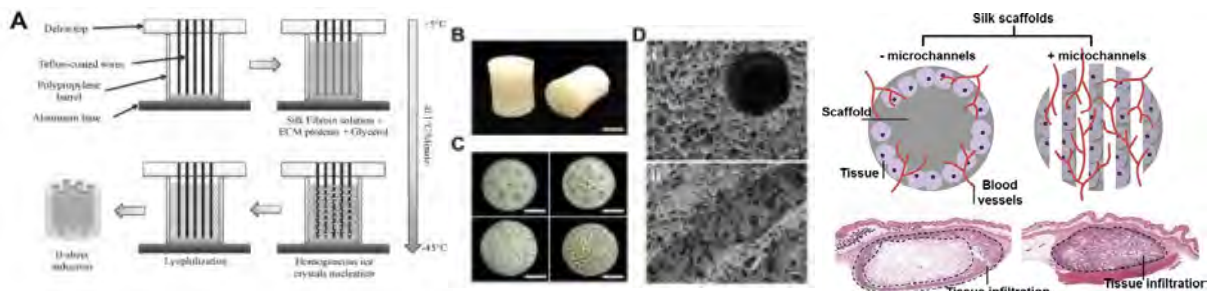


Figure 17 : A- Schéma de fabrication des éponges de soie. B- Photographie du scaffold sur différents points de vue. C- Photographie de différentes densités de canaux dans le scaffold. D-

### 3.3.2. Hydrogel de soie et angiogénèse

La conformation d'hydrogel n'a pas beaucoup été étudiée dans le seul objectif de la vascularisation. Si les hydrogels de séricine n'ont une demi-vie que de 24h dans un milieu enzymatique (99), on notera que l'ajout de nanofibres de soie dans l'hydrogel de fibroïne peut interagir avec les molécules chargées comme la desferrioxamine (DFO) et allonger le temps de relargage à 40 jours. La guérison d'une blessure dorsale de rat est alors significativement plus rapide avec le gel de libération prolongé de SF chargé en DFO (100).

### 3.3.3. Tubes de soie et angiogénèse

Sous une conformation de micro-tubes, les échafaudages fibreux de soie permettent une colonisation à la fois par la périphérie pour former une adventice et par la lumière pour régénérer un endothélium. Après 12 semaines, la présence d'un épithélium et de l'établissement des cellules musculaires lisses de la média sont marqués respectivement par CD31 et  $\alpha$ -SMA (Figure 18 A, B). A deux semaines, des fibroblastes et macrophages commencent à dégrader la périphérie (marqueur inflammatoire CD68) permettant un remplacement lent des protéines de SF par du collagène et l'édification du vasa-vasorum dans l'adventice, visible à la 48<sup>e</sup> semaine (Figure 18C). Comme pour les échafaudages poreux, les propriétés de ces micro-tubes dépendent également de leurs conditions de mise en forme, tant dans la stratégie de filage de la soie que dans leur post-traitement(101).

Lors de l'édification du tube, il est ainsi possible d'apporter différentes couches de soie en variant leurs propriétés comme la concentration en fibroïne, la teneur en différents principes actifs ou en modulant la vitesse et l'angle d'enroulement pour de l'électrofilage. (102). En comparaison avec la technique de *wet-spinning*, l'électrospinning permet une vascularisation plus large avec un plus grand nombre de bourgeonnements vasculaires qui sont cependant plus courts que ceux obtenus par *wet-spinning* (104).

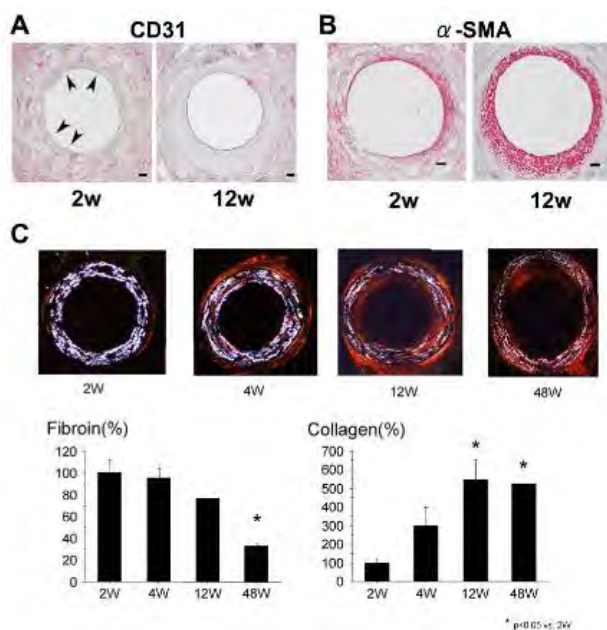


Figure 18 : Intégration progressive d'une greffe vasculaire tubulaire de soie. A : Marquage de CD31 caractérisant l'endothélium. B : Marquage de  $\alpha$ -SMA caractérisant les fibres musculaires lisses. C : Immunofluorescence et diagramme imageant la substitution de la soie par le collagène

### 3.3.4. Ajout de principes actifs

L'ajout de molécules actives impacte la qualité du scaffold. Ainsi l'ajout sur des films de soie de Perlecan (rDV), un protéoglycane permettant de faire la liaison de la lame basale épithéliale et composant essentiel de l'angiogenèse, permet de lier les intégrines sans retenir les plaquettes. Si l'ajout de rDV dans les scaffolds chez le rat augmente la vascularisation immédiate, l'action ne se ressent plus après six semaines (105). Il a été montré que la soie lie mieux le rDV quand son taux de cristallisation est bas mais les résultats sur la prolifération étaient non significatifs par rapport au groupe avec le scaffold seul. Ainsi réside l'hypothèse que l'optimisation de la néo-angiogenèse passe par une concentration en feuillet beta **moindre** (73).

L'ajout de VEGF augmente de 40% le pouvoir prolifératif de la soie (106) sans impacter l'adhésion cellulaire au scaffold (107) et son relargage peut se faire *in vivo* (lapin) pendant plus de 28 jours pour induire une substance ostéoïde en présence de phosphate de calcium (108). Cet effet est conservé lorsque VEGF et Ang-1 sont sous forme de vecteur adénoviraux pendant 4 semaines (109).

La présence d'héparine diminue l'infiltration vasculaire mais augmente le nombre de cellules inflammatoires en périphérie tandis que celle d'hydroxyapatite polarisée augmente de 50% la migration cellulaire (110) .

Nous venons de voir un ensemble de molécules pouvant améliorer la régénération vasculaire mais certaines comme le peptide SVVYGLR dérivé de l'ostéopontine n'augmentent que faiblement le recrutement cellulaire (111). Ainsi tout ajout de molécule active n'entraîne donc pas systématiquement d'effet significatif.

### 3.4. Régénération osseuse

Afin de permettre une prolifération cellulaire, une croissance vasculaire et la formation d'os minéralisé interne, une matrice se doit d'être constituée de pores d'un diamètre supérieur à 100-150µm voire 300µm.(112) Pour des diamètres inférieurs à 75µm, il en résultera une substance ostéoïde immature quand seuls des tissus fibreux pourront se développer avec des pores de l'ordre de 10-75µm.(113)

L'American Society for Bone and Mineral Research (ASBMR) définit une méthodologie à acronymes(114) pour suivre la qualité de l'os néoformé sur des micro-CT: le volume d'os trabéculaire (BV/TV), l'épaisseur trabéculaire (Tb.Th), le nombre de trabécules (Tb.N), le taux d'apposition minérale (MAR) et le taux de formation osseuse (BFR/B.Pm). Pour un os physiologique, on retrouve un BV/TV de l'ordre de 20 à 45% contre 10% pour un os ostéoporotique. Les travées osseuses ont une épaisseur moyenne de 185µm et sont séparées de 454µm avec un Tb.N de 1.77/mm(115) Ces analyses régulières par microCT pour réaliser un timelapse n'influent pas sur le bon développement osseux (116). Ces facteurs osseux ont servi pour évaluer l'efficacité in vivo des échafaudages en soie. Pour l'efficacité in vitro, celle-ci est basée sur la mesure de biomarqueurs présentés Figure 19.

Summary of osteogenic biomarkers.

Markers	Stage	Proliferation	Matrix deposition	Mineralization	Surface marker	Inhibition	References
Col-1	Early	×	×				[26]
MCAM/CD146	Early				×		[27]
MEPE/OF45	Early			×			[28]
Decorin	Early	×	×				[29]
Col-11	Early	×	×				[26]
Col 1A1	Early	×	×				[30]
ALP	Early to Mid	×	×				[31]
Chfa-1	Early to Mid	×	×				[32]
BRCA1 associated protein-1 (BAP1)	Mid	×					[33]
BAP31	Mid	×					
IGFBP-3	Mid	×					[34]
SCUBE3	Mid	×					
Bone Sialoprotein-2	Mid to Late		×	×			[35]
OPN	Mid to Late		×				[36]
OCN	Mid to Late			×			[35]
Podoplanin	Late				×		[37]
Osterix	Late	×	×				[38]
Sclerostin (SOST)	Late					×	[39]
Dentin matrix acidic phosphoprotein 1 (DMP-1)	Late		×				[40]
FGF-23	Late			×			[41]
Fibronectin	Late			×			[42]

× denotes the stage of cellular differentiation in which the marker is involved.

Figure 19 : Biomarqueurs de l'ostéogénèse

### 3.4.1. Films et revêtements de régénération osseuse

Les films permettent d'étudier facilement in vitro le comportement des cellules lors de leur contact avec de la soie. Ils doivent avoir une épaisseur minimale car une étude sur des calvarias de lapin montre de meilleurs résultats pour des films de 0.5mm que pour des films de 0.1mm.(117)

Chez l'animal ont été recensées 9 études : 3 sur des calvarias, 2 sur des tibias, 1 sur des fémurs, 1 sur des vertèbres et 2 ectopiques. Dans une comparaison de film de soie avec des membranes collagéniques Bio-Guide, le film de soie pure donne des résultats comparables au Bio-Guide et ne semblent pas avoir d'effet significatif avec un défaut sans scaffold (118,119). L'ajout de b-TCP semble permettre, à l'instar du Bio-Guide, une régénération améliorée par la présence de la membrane (mais avec une grande disparité des résultats). Une préincubation d'un film de soie avec des BMSC permettrait en revanche d'avoir un potentiel ostéogénique comparable à de l'os autologue. Le problème des films lisses traditionnels semble résider dans leur état de surface. (120) M Yang & al ont montré que des irrégularités limitaient le potentiel inflammatoire des films, permettant aux MSC de plus exprimer des facteurs ostéogéniques.

Concernant les coatings, une étude menée sur des implants dentaires chez la souris compare des dépôts d'hydroxyapatite pure, mélangée à du collagène ou à de la soie. Il apparaît que si in vitro l'activité de l'ALP est supérieure pour le mélange collagène/hydroxyapatite, un taux de formation osseuse et un contact implant/os significativement meilleurs sont obtenus in vivo avec le mélange soie/hydroxyapatite.(121) Une comparaison sur des tibias de lapin de l'effet du mode de dépôt de ce revêtement entre trempage, électrofilage et électroformage (122) montre que l'électroformage (123) semble être le plus biocompatible, apportant une continuité entre os néoformé et le fémur greffé. Une autre étude sur la minéralisation péri-implantaire à 4 semaines en contexte ostéoporotique montre que le revêtement de soie permet une ostéointégration comparable à celle d'un implant sans revêtement chez une souris saine. On y regrette quand même l'absence d'implantation sans revêtement sur souris ayant subi une ovariectomie.

In vitro, la soie apparaît comme un matériau permettant d'augmenter l'adhésion et le métabolisme cellulaire environnant. Cette observation est partagée tant pour l'acide polylactique(124), l'oxyde de graphène,(125) les substituts osseux comme les nanocristaux d'hydroxyapatite(126) ou des biocéramiques de synthèses(127,128). Cette promotion ostéogénique semblerait être conditionnée par une teneur élevée en feuillets beta(129,130) comme d'autres paramètres comme l'état de surface(129,131,132) qui se doit d'être rugueux.



L'ajout de nanofibres au sein d'un film de soie et d'hydroxyapatite permettrait d'orienter la prolifération cellulaire le long de celles-ci.(133,134) Ainsi une juxtaposition de couches orthogonales les unes aux autres aboutit à une organisation cellulaire comparable aux tissus osseux lamellaires(135) sans avoir d'incidence significative sur la prolifération ou le métabolisme cellulaire.(124)

Le potentiel ostéogénique de la soie peut être augmenté par la présence de 5% de Zinc(136), de nano particules de silice induisant l'activation de l'intégrine  $\alpha\text{V}\beta\text{3}$ (137) ou de phosphate de calcium(138). Ces derniers peuvent également discriminer une différenciation osseuse d'une différenciation musculaire.(139) D'autres études ont été menées sur l'adjonction d'enzymes ou de facteurs de croissance. Il apparaît ainsi que la PTH améliore la prolifération ostéogénique, notamment quand elle est associée au peptide insulino-trope glucose-dépendant au sein d'une coculture d'ostéoblastes et d'ostéoclastes.(140) Elle reste cependant moins efficace que la séquence RGD.(141) Coté facteurs de croissance, il apparaît que 4ng/ml de TGF- $\beta$  sont optimaux pour déclencher l'expression de  $\beta$ -caténine, médiatrice de la voie Wnt.(142) Les facteurs BMP2 et PDGF ont montré leur intérêt tout comme la double inclusion de l'ADNc du récepteur à l'hydroxyapatite appelé VTK(143), mais BMP6 a obtenu des résultats plus mitigés.(144)

Concernant le revêtement multiple de céramiques biphasiques macroporeux par trempage avant lyophilisation et cristallisation au méthanol, il semble que la soie obstrue les pores, adoptant ainsi un effet iatrogène.(145) Quand elle revêt une surface de Titane, une couche hybride de soie/chitosane semble montrer les meilleurs résultats biologiques(146), comme semble le confirmer une étude plus récente qui s'affranchit de ce support(147). La soie seule semble augmenter l'hydrophobie (angle de contact) de celui-ci après traitement d'anodisation.(144) La conformation du titane semble aussi avoir son importance avec une meilleure biocompatibilité de la forme polie que de la forme nanotube.(148) Enfin la soie peut permettre de potentialiser les implants de Magnésium, une alternative dégradable aux implants titanes, la soie permettant une prolifération des ostéoblastes.

Pour répondre à la problématique des infections nosocomiales, des études in vitro ayant vocation de limiter l'adhésion bactérienne ont été menées, notamment avec l'inclusion d'antibiotiques au sein des scaffolds. Ainsi la gentamycine(149) et la vancomycine(150) permettent de réduire la charge bactérienne sans impacter la croissance cellulaire. Zhou & al ont étudié l'ajout d'Argent à la gentamycine qui, contrairement à celle-ci isolée, entraîne une inhibition de la croissance cellulaire à la prévention bactérienne(151). Par une pellicule superficielle de chitosane, ces derniers ont assigné ce relargage à l'acidité signant la présence bactérienne à la surface du revêtement. Deux alternatives face à l'antibiorésistance ont été

explorées et elles permettent toutes les deux de soutenir la croissance des ostéoblastes. La première est l'inclusion de dispersine B, une glycoside hydrolase bactérienne empêchant l'agrégation d'une suspension de *S. aureus* en biofilm(152). La seconde, menée à l'Université de Hong-Kong, est le plasma d'oxygène qui permet une augmentation de l'énergie de surface et de l'hydrophilie aboutissant à un effet antibactérien sur les GRAM+ comme sur les GRAM- tout en améliorant la croissance des ostéoblastes.(153)

### 3.4.2. Hydrogels de régénération osseuse

Neuf études sur des rongeurs avec une galénique d'hydrogel ont été incluses : 4 sur des calvarias, 3 sur des fémurs, un sinus lift et une injection ectopique. La moitié de ces études évaluent l'impact de facteurs de croissance tissulaire ou d'adhésion cellulaire (BMP2, BMP9, VEGF, séquence RGD).

En comparant la fibroïne à de l'acide poly-lactique-glycoliques pour de la régénération de fémur, M. Fini & al ont trouvé des résultats satisfaisants avec des trabécules épaisses et resserrées. Une baisse du BV/TV a cependant été observée entre la 4<sup>e</sup> et la 12<sup>e</sup> semaine, passant de 63 à 48% à l'inverse du polymère synthétique. Les auteurs expliquent cette baisse par le remaniement ostéoclasique montrant une bonne intégration des scaffolds de soie dans l'hôte.(154). Une étude avec un ajout de séquence RGD et un renfort de nanofibres dans l'hydrogel a montré que la substance ostéoïde apparaissait après 2 semaines quand la formation osseuse arrivait à la 6<sup>e</sup> semaine.(155) Concernant le lien entre la proportion en feuillet- $\beta$  et l'appétence des cellules souches mésenchymateuses à y proliférer, une étude de l'Université de Sooshow de 2020 apporte une nuance, indiquant que la rigidité serait plus liée à la prolifération cellulaire que la proportion en feuillet- $\beta$ .(156) Ces résultats sont en accord avec plusieurs études montrant l'importance des propriétés mécaniques pour assurer une stabilité du scaffold nécessaire à l'édification régulière et pérenne d'os néoformé(156,157). Enfin une étude a montré l'impact majeur de l'ajout d'1% de Cuivre dans un scaffold constitué de mélange de fibroïne, de chitosane et de bioverre mésoporeux.

La libération prolongée de facteurs de croissance BMP2, BMP9 et VEGF a été étudiée. Une solution injectable pour sinus-lift chez le lapin permet une hausse de 50% supplémentaire passant de 8 à 12mm pour un BV/TV de 40%.(158) Il est alors possible de moduler le relargage des facteurs de croissance en variant la concentration en soie de l'hydrogel.(159) A noter que d'après l'étude menée par W. Cheng, BMP2 serait plus efficace quand directement lié à l'hydroxyapatite avant l'incorporation dans l'hydrogel. Il permet ainsi d'obtenir un BV/TV de l'ordre de 70% après 3 mois.(160)

In vitro les hydrogels de soie pure comme de soie modifiée par du cellulose(161), de la gomme gélatine(162), du PLGA(163) modulant leurs propriétés mécaniques ont tendance à relarguer la majorité de leur contenu en moins d'une semaine. Il y a alors un pic rapide mais fugace de phosphatase alcaline ou d'ostéopontine. Ces hydrogels peuvent être rapidement (J+8) infiltrés par les premiers vaisseaux sanguins sans entraîner une cascade inflammatoire et permettent de relarguer un principe actif sur un espace-temps défini.(163)

Chargés en biocéramiques comme l'hydroxyapatite, les hydrogels peuvent gagner en bioactivité, c'est notamment le cas pour les hydrogels obtenus par irradiation contenant 15% d'hydroxyapatite dont l'augmentation métabolique est significativement supérieure à celle des concentrations moindres.(164) Cette observation est partagée avec une étude de 2017 montrant un effet des nanoparticules d'hydroxyapatite dose dépendant, significativement plus efficace pour des concentrations supérieures à 60%. Il y a alors une baisse de la phosphatase alcaline à 3 semaines, avec un relai par l'ostéocalcine qui est suivi d'une migration cellulaire au 28<sup>e</sup> jour.(165)

Les conditions de fabrication comme la température, le pH ou le temps de minéralisation de la solution influencent la conformation et l'état de surface de l'hydrogel. Des cristaux de plus en plus gros avec le temps (500nm pour 4h à 20µm pour 48h) seront inclus dans un gel plutôt granuleux (5°C, pH = 6) à fibreux (pH≥7, 20-37°C). A noter que des cristaux de gros volume entraînent de meilleures propriétés mécaniques (module de compression 330kPa) et une création d'hydroxyapatite plus importante lors de l'exposition cellulaire.(166) Ainsi plusieurs approches semblent augmenter le pouvoir ostéogénique des hydrogels.

### 3.4.3. Mousses de régénération osseuse

Sur les 50 articles concernant des mousses ou aérogels de régénération osseuse dans des études sur l'animal, 29 études se réfèrent à des études sur des calvarias, 11 sur des os longs (fémur/tibia/radius), 2 sur des périostes, 3 sur des alvéoles dentaires post-avulsion, 1 sur des maxillaires et 1 sur une mandibule. Enfin 6 articles font mention d'une greffe ectopique, les derniers étudient la régénération bi-tissulaire ostéochondrale et ostéoligamentaire. Concernant le procédé de mise en forme, les solvants inorganiques semblent être néfastes avec formation de zones vides ou nécrotiques en comparaison aux méthodes dites « aqueuses » qui se démarquent par un BV/TV significativement plus élevé(74,75,167).

En l'absence d'ajouts inorganiques, la soie seule soutien la croissance cellulaire in vivo. Elle perdure plus longuement que le collagène, dissout à un mois(168). Une coculture préalable à l'implantation de l'échafaudage augmente significativement le potentiel régénératif de celui-ci, que ce soit pour les ASC(169), les MC3T3-E1 (170), les MSC sans entraîner de sur-

inflammation(171). Un couplage a des protéines comme le polypeptide *elastine-like* augmente sa mouillabilité. L'apport d'un scaffold ne va pas modifier la densité osseuse obtenue en son absence mais va contribuer à augmenter le volume final d'os néoformé pour un temps donné.(172)

In vitro, l'ajout de collagène aux éponges de soie ne montre le plus souvent (173) pas de différence significative par rapport à la soie seule lors des mises en culture et vice versa, tant sur la prolifération que sur le métabolisme cellulaire.(174,175) La soie sous sa forme amorphe représente alors un point d'ancrage de minéralisation par son caractère hydrophile et son électronégativité(176) dont le collagène diminue les propriétés mécaniques. Sa rapide dégradation est même vue comme un aspect limitant pour la régénération osseuse(177). Le chitosane, parfois évoqué comme favori dans la régénération osseuse abaisse les propriétés mécaniques du matériau lorsqu'il est adjoint en composite (178,179) mais permet d'accroître l'absorption hydrique(180) et la prolifération de cellules souches(181). Un mélange de ces trois protéines a été réalisé par Grabska-Zielińska & al et apporte des résultats plus prometteurs que lorsqu'ils sont en duo.(182)

L'architecture des scaffold est un autre point qui a été étudié in vitro. Uebersax & al avancent l'impact du protocole de fabrication d'une éponge sur l'orientation d'un scaffold vers différents types osseux. La disposition des pores n'a pas d'incidence significative quand des particules de magnétite les orientent de façon lamellaire.(180) En revanche, une organisation radiale d'un composite améliore significativement le BV/TV à 12 semaines par rapport à une organisation longitudinale.(183)

Ni la taille précise des pores entre 100 et 500µm ou leur forme ne semble avoir un impact après 5 ou 8 semaines(184,185). Les conditions de culture ont par contre un rôle en faveur d'une culture alimentée par un flux dynamique grâce aux contraintes de cisaillement produites(177,186). Etonnamment Correia & al prônent ainsi de d'abord soumettre les scaffolds à des milieux ostéogéniques avant de les plonger dans un bain de facteurs endothéliaux et ostéogéniques plutôt que de commencer par les facteurs endothéliaux ou par un cocktail d'emblée(187).

Ces observations restent à pondérer en fonction du type cellulaire étudié, Mauney & al ont en effet montré que les hASC avaient une appétence significativement plus grande pour les fibres de collagène contrairement aux MSC qui adhèrent sans distinction aux scaffolds de soie.(188) Ainsi dans le cadre de régénération osseuse est proposé lors de la préculture d'hASC de d'abord induire une ostéogénèse avant de promouvoir une vasculogénèse pour des résultats plus robustes.

### 3.4.3.1. Mousses composites par ajout de sels calciques

Les études ajoutant des composés minéraux comme des céramiques bioactives synthétiques portent le plus souvent sur des sels de calciums, notamment sur l'hydroxyapatite de synthèse monophasée.

L'ajout d'hydroxyapatite qui augmente la dégradabilité du scaffold(58), améliore significativement la densité osseuse, allant parfois jusqu'à avoisiner la greffe autologue à un an sur des mandibules de chien.(189) Koh KS & al montrent une colonisation ostéoblastique jusqu'au centre du scaffold à la 8<sup>e</sup> semaine et une réduction significative d'un défaut palatin à trois mois.(190)

Un meilleur métabolisme cellulaire se retrouve cependant quand la disposition cellulaire de l'HAP est à faible cristallinité, se dénommant alors nano-hydroxyapatite (nHAP)(191). On retrouve ainsi des résultats significatifs sur la préservation alvéolaire à 6 semaines(192) . Ces résultats sur le vivant sont en accord avec les expériences in vitro ou une dose de nHAP engendre plus d'effet ostéogénique qu'une dose deux fois supérieure de HAP.(193–195)

Lors d'une association avec le chitosane pour des greffes sur des radius de lapin, le composite SF/CS/nHAP semble s'intégrer parfaitement, sans frontière radiologique, après 16 semaines.(196)

Côté polymères synthétiques, une étude d'un composite avec du PCL monté au scCO<sub>2</sub> montre que celui-ci a tendance à réduire la taille des pores quand la soie les élargit. L'apport de nHAP augmente alors l'apport en calcium sans influencer sur la taille des pores.(197) Kweon & al nuancent cependant les effets de la fibroïne en obtenant des résultats significativement meilleurs à 8 semaines pour la nano-hydroxyapatite pure par rapport au composite SF/nHAP.(198)

Des études in vivo ont également été menées sur les autres sels de calcium qui ont obtenus des résultats plutôt encourageant in vitro(199,200) à l'exception du sulfate de calcium qui a tendance à se dissoudre rapidement, même dans du PBS(201). Les phosphates de calcium comme l'hydroxyapatite augmentent la dégradabilité de l'échafaudage et son taux de minéralisation même dans un contexte ostéoporotique(202). Le  $\beta$ -TCP ont des résultats plus prometteurs avec un BV/TV avoisinant les 75%, un volume osseux de 4.5mm<sup>3</sup> et une densité osseuse supérieure à 600mg/mm<sup>3</sup> pour des proportions SF/  $\beta$ -TCP de 75 :25.(203)

Parallèlement, des composites hybrides mélangeant la soie à de la céramique bi-phasée (BCP), mélangeant hydroxyapatites de synthèse et  $\beta$ -TCP, ont été créés.

#### 3.4.3.2. Mousses composites par ajout de bioverres

Le comportement d'une adjonction de bioverres dépend des propriétés de ces derniers. Les résultats sont significativement plus encourageants lorsque les bioverres sont mésoporeux.(204) Ces derniers déclenchent moins d'ostéoclasie même dans un contexte ostéoporotique(205).

#### 3.4.3.3. Mousses chargées en principes actifs ostéogènes

L'ajout de facteurs de croissance comme BMP2(171,206) ou BMP7(207) augmente le pouvoir régénératif des éponges de soie même en l'absence de minéraux, notamment quand il y a préincubation avant implantation. Le BMP2 permet d'augmenter significativement le BV/TV et le BMD.(208) L'association de BMP2 et VEGF induira lors de la préculture de meilleures angiogenèses et ostéogénèses.(209)

In vitro, BMP2 n'a pas d'impact sur les propriétés mécaniques ou physiques du scaffold. Il augmente le métabolisme ostéogénique mais reste inactif sur la prolifération.(210) Il se révèle significativement plus efficace sous la forme d'adénovirus que par simple incorporation au cours de l'élaboration du scaffold.(211) La matrice extra-cellulaire de la pulpe dentaire a également été sujette à une comparaison avec le collagène qu'elle surclasse significativement pour la prolifération cellulaire.(174)

D'autres principes actifs n'appartenant pas à la famille des facteurs de croissance ont été étudiés. Le dioxyde de Titane permet in vitro d'augmenter la prolifération cellulaire avec une proportion maximale de 15%.(212) Associé à de la nHAP celui augmente largement l'expression des facteurs ostéogéniques.(213)

#### 3.4.4. Membranes fibreuses de régénération osseuse

Les échafaudages fibreux issus de l'électro-filage sont régulièrement associés à un post-traitement cristallisant les fibres, on retrouve de l'éthanol, du méthanol ou un séchage à l'air libre. Les échafaudages tissés permettent une adhésion des BMSC (214), des hMSC(215) et ostéoblastes murins MC3T3-E1 (216). Cette adhésion est dose dépendante de la soie lorsqu'elle est présente comme additif du Poly-capro-lactone(217) avec de l'acide poly-lactique(218,219), du poly-uréthane(220), de l'alcool poly-vinyle(221) ou dans une base d'oxyde de poly-éthylène(214). Il ne faut cependant pas confondre les fibres filées en laboratoires et les fibres naturelles. De simple cocons directement implantés après stérilisation n'entraîne qu'une faible régénération des défauts de calvaria malgré l'activité supérieure du tiers médian de l'épaisseur des cocons.(222)

In vivo, 10 essais sur des calvarias de souris, 2 sur des fémurs de lapin et une implantation sous-cutanée ont été inclus. La soie a une meilleure efficacité dans l'adhésion cellulaire comparée à l'acide poly-lactique. Associée ou non à de la chitine, on n'observe pas de différence significative à 4 et 12 semaines par rapport à une membrane collagénique Bio-Guide qui perd un possible avantage significatif après 4 semaines, malgré de meilleures propriétés mécaniques pour la soie(223,224).

L'ajout de poly-dopamine, analogue de protéines retrouvées dans la partie adhérente du byssus de moule permet également une amélioration de l'adhésion cellulaire et de l'expression de la phosphatase alcaline.(225) L'ajout de polymères synthétiques comme le Poly(lactide-co-ε-caprolactone)(218) ou dans l'acide poly-lactique(226) nous montre des résultats plus encourageants lorsqu'on limite la proportion de ces derniers car ils semblent contre-productifs quand présents à haute dose. En revanche, son efficacité peut être potentialisée par l'ajout de bio-verre mésoporeux,(227) de nano-hydroxyapatite ou bien évidemment de BMP2(228,229) ou de son épitope actif E7(225). Enfin l'adjonction d'un anti-inflammatoire comme la dexaméthasone a montré des résultats prometteurs en comparaison avec celui de BMP2 mais les auteurs pensent à un sous dosage de cette dernière pour expliquer l'absence d'effet.(230)

Les expériences in vitro nous apportent des pistes de réflexion sur l'intérêt d'un léger ajout d'extrait d'ortie(231), le potentiel mélioratif (limité) de l'oxyde de graphène(124,232) ou des particules d'or liées à de la silice(233), ou l'effet néfaste de l'estradiol.(234)

Le rôle des facteurs de croissance fut étudié, essentiellement avec BMP2. Celui-ci n'augmente pas la prolifération des BMSC mais augmente significativement l'expression de la phosphatase alcaline, indépendamment de la concentration d'hydroxyapatite associée.(235,236) L'association de BMP2 avec de l'hydroxyapatite semble cependant nécessaire à la pertinence de l'emploi de celui-ci.(237) Sous ses épitopes E7 ou P24 et autres formes recombinantes, il y a amélioration de l'adhésion cellulaire(238) avec amélioration significative du potentiel ostéogénique(239), d'autant plus si combinaison avec TGFβ (240). Cet effet est conditionné par la concentration du scaffold en facteur de croissance.(241)

L'ajout de nanocristaux d'hydroxyapatite y améliore aussi les propriétés mécaniques(242) mais n'impacte pas la multiplication cellulaire mais a un impact sur leur expression de facteurs osseux (228,243,244), à l'instar de l'ajout de verres bioactifs mésoporeux(245) qui peuvent se retrouver combinés à l'hydroxyapatite.(215) Dans ce dernier cas on remarque à nouveau que l'amélioration de l'apposition d'hydroxyapatite n'est pas corrélée à la proportion en feuillet β. D'après des études *in vitro*, l'inclusion d'hydroxyapatite améliorerait de manière dose-dépendante les

propriétés mécaniques jusqu'à des concentrations de 20%(246) à 30% quand la soie est mélangée au chitosane(247). Ces cristaux peuvent être déposés à la surface des membranes selon l'alignement des fibres de fibroïne(248) et vont servir d'attache pour les ostéoblastes(249) y compris dans des reconstitutions complexes tridimensionnelles.(250) D'autres sels de calcium comme le phosphate de calcium améliorent l'expression de la phosphatase alcaline.(138)

Pour terminer, le traitement des fibres de soie au plasma a des effets variables selon le gaz utilisé. D'Argon il retardera la dégradation et donc prolongera la libération contre une mort cellulaire plus importante.(251) Avec un mordantage au plasma de dioxygène, on aboutit à une augmentation de l'hydrophilie combinée à une protection de l'adhésion bactérienne en lien avec une augmentation significative de l'énergie de surface.(153) Cependant, Unala & al ont montré que malgré son association à un meilleur dépôt calcique, ce dernier entraînait une toxicité cellulaire plus élevée. Ils ont donc proposé le plasma de diazote (N<sub>2</sub>) comme post-traitement.(252)

#### 3.4.5. Micro particules et ciments de régénération osseuse

Sur les 30 articles inclus traitant de la régénération osseuse par capsules de soie, 10 se réfèrent à des études in vivo.

En l'absence de particules minérales et sans adjonction de facteurs de croissance, la fibroïne de *Bombyx mori* ne semble pas apporter d'amélioration significative par rapport aux contrôles. Elle semble diminuer la réponse inflammatoire et améliorer la prolifération en comparaison avec d'autres protéines comme l'alginate.(253)

L'ajout d'éléments minéraux a un effet variable. Celui de carbonate de sodium se désagrègeant très vite ne semble améliorer la régénération contrairement à celui de nano-hydroxyapatite.(254,255) L'intérêt de l'incorporation des cristaux de nHAP dans la soie est d'empêcher leur agrégation en milieu hydrique, assurant ainsi leur stabilité et leur dispersibilité. Huang X & al rapportent ainsi les conditions pour optimiser les résultats.(256)

Parmi les principes actifs étudiés, le mélange de la fibroïne au PRF ne donne pas de différences significatives que ce soit à 6 ou à 12 semaines par rapport à la cicatrisation d'un défaut sans échafaudage.(257) En revanche, BMP2 semble encore une fois être le facteur de croissance apportant les meilleurs résultats. En augmentant l'expression de facteurs comme l'ostéocalcine ou Runx2, celui-ci est d'autant plus efficace lorsqu'il est inclus dans des microsphères de soie plutôt que directement en suspension.(258) In vitro, BMP2 confirme son rôle de facteur de différenciation ostéogénique.(259) Il apparaît que si le mélange HA/BMP a un effet sur la



prolifération des cellules et leur métabolisme osseux, leur incorporation dans des nanosphères amplifie significativement leur action.(260)

Parmi les autres principes actifs étudiés ne faisant pas parti des facteurs de croissance, la N-acétyl cystéine apporte une amélioration significative de la régénération et la résistance à la compression s'approche du tissu sain.(261)

In vitro l'ajout de minocycline et de strontium ont été étudiés et augmentent les facteurs ostéogéniques comme l'ALP, Runx2 ou l'ostéopontine(262,263). La minocycline qui augmente la dégradabilité de l'échafaudage ne fait cependant pas le poids face à l'hydroxyapatite à laquelle elle a été comparée.

Zhang Y & al ont conçu à partir de 2016 un échafaudage hybride mêlant un aérogel de fibroïne et nano hydroxyapatite incrusté de nanosphères de fibroïne liée à BMP2 (Figure 20). Si une association à SDF-1 en suspension a montré des résultats peu concluants par rapport à BMP2 seul(264), celle avec VEGF apporte la complexité de la libération duale. Celui-ci n'est qu'incorporé aux nanosphères quand BMP2 est chimiquement lié à la fibroïne les constituant. Il n'amène pas à la restauration osseuse de la calvaria à 12 semaines malgré des améliorations significatives des facteurs osseux in vitro. Il y a cependant significativement plus de vaisseaux que pour BMP2 seul mais significativement moins que pour VEGF seul. (62)

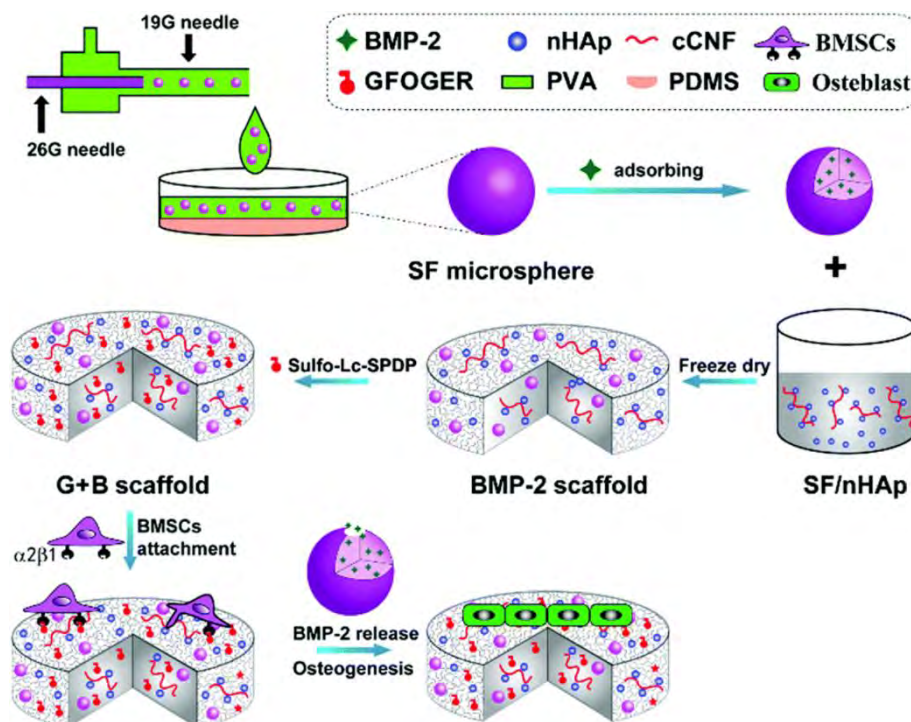


Figure 20 : Procédé de fabrication des scaffolds à distribution duale de principes actifs : Elaboration de microsphères par microfluidique puis incorporation de celles ci au sein des scaffolds poreux.

### 3.4.6. Variation de la protéine de soie dans la régénération osseuse

Les études sur la fibroïne de *Bombyx mori* sont largement majoritaire dans la littérature mais certains auteurs se sont penchés sur l'intérêt de la diversité des protéines de soie.

La séricine présente des charges négatives portées par Asp et Glu induisant un dépôt d'hydroxyapatite et une différenciation ostéoblastique des MSC quand celle-ci est sous forme d'hydrogel (265). En présence de Ca-Cl<sub>2</sub>, précurseur d'HAP, elle s'auto-assemble également par liaison hydrogène en réseau nano-fibreux avec cristallisation de l'HAP le long de son axe protéique contrairement à l'hydroxyapatite seule (266,267). Les BMSC mis en culture en voient leur prolifération et leur différenciation ostéogénique significativement plus élevée(265), tout comme les ostéoblastes qui voient leur durée de vie significativement allongée(267). La séricine de *Antheraea pernyi* réagirait de la même manière en présence de nHAP(268). En revêtement de titane en adjonction à de l'acide poly métacrylate P(MAA), elle permet une augmentation significative de l'adhésion, de la prolifération et du métabolisme cellulaire, tout en conservant les capacités antibactérienne de celui-ci(269). Enfin l'hybridation de la séricine par son domaine C-terminal avec PDGF-B ne perturbe pas la structure et les propriétés mécaniques de la séricine lorsqu'elle est agencée en hydrogel et conserve la fonction du facteur de croissance.(270)

L'impact de la séquence protéique de genre *Antheraea* pour la régénération osseuse semble réel. In vivo, les scaffold d'*Antheraea mylitta* engendrent une synthèse collagénique significativement supérieure à ceux de *Bombyx mori* et entraîne une réaction inflammatoire significativement moins élevée. Elle permet ainsi une régénération complète d'un défaut de calvaria de rat en 3 mois(271). Son efficacité sur le métabolisme osseux peut être améliorée par l'inclusion de microfibres et de verres bioactifs. In vitro, sa dégradabilité enzymatique semble moindre que celle de *Bombyx*. (271) Quand elle est adjointe à un échafaudage fibreux de PCL, les meilleurs résultats sont obtenus quand la fibroïne sert de revêtement des fibres synthétiques plutôt que quand elle est incluse avant électrofilage. (272) In vitro, les études confirment la meilleure affinité du genre *Antheraea* pour le métabolisme des ostéoblastes(273–276) et sa capacité à supporter la croissance et la différenciation des MSC en présence d'un milieu ostéogénique(277–279).

*Samia ricini*, évoqué pour être également pourvu de la du motif RGD dans sa séquence est tout aussi attractant pour les MSC.(280) Sa fibroïne bénéficie de la même plus-value quand imprégnée d'hydroxyapatite.(281)

Quand elle est présente comme additif à de la soie d'araignée ou de *Bombyx morii*, la séquence RGD améliorerait l'adhésion des ostéoblastes(282,283) et l'organisation intracellulaire(284). Cependant elle peut gêner l'expression de BMP2(285) le dépôt calcique(286).

La soie MaSp naturelle contient des sites de liaison à l'hydroxyapatite et peut orienter selon son axe la nucléation des cristaux d'hydroxy apatite avec un angle moyen de 72.9°(287). Très peu d'études ont été menées sur la soie d'araignée in vivo, et rares sont celles ayant apporté des résultats chiffrés. Celle-ci ne semble pas activer les lymphocytes T comparé à l'acide poly lactique-glycolique.

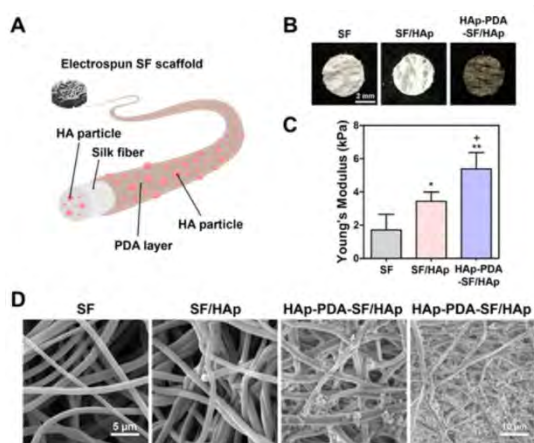


Figure 22: Présentation de la fibre composite SF/HAp-PDA/HAp

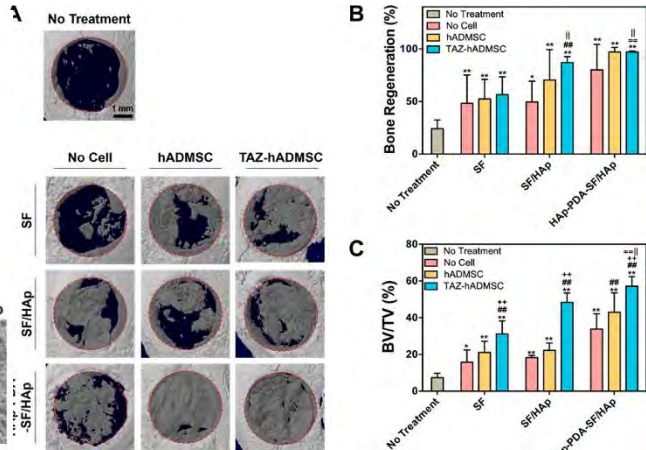


Figure 21: Résultats de la régénération d'une calvaria après 8 semaines. Comparatif d'une préincubation de cellules transfectées ou non à une cicatrisation sans cellule/scaffold

### 3.4.7. Régénération ostéocondrale

La régénération cartilagineuse à base de soie de Bombyx mori a déjà fait l'objet d'une revue systématique.(85) On retrouve ici des études in vitro et in vivo pour ce type de régénération avec des échafaudages de type poreux juxtaposant le plus souvent des couches axées sur la chondrogenèse et d'autres sur l'ostéogénèse.

Les études in vivo se font principalement chez le lapin mais aussi chez les murins. Une couche de soie sans adjonction de particule minérale servira à la régénération du cartilage emplies de glyco-amino-glycanes et de collagène II, quand ces dernières permettent une différenciation ostéogénique(288,289), comme pré-senti sur les études in vitro(290,291). La préincubation de cellules dans le scaffold augmente significativement les résultats de croissances cartilagineuse, moins pour la portion osseuse.(292) S'il est possible d'augmenter le potentiel régénératif par des facteurs de croissance(293) ou des aptamères,(294) l'utilisation de soie du genre Antheraea semble aussi contribuer à de meilleurs résultats aussi bien in vivo(295) qu'in vitro.(245,278) Il est également possible de modifier le scaffold dans son architecture avec un alignement vertical des pores qui semble faciliter la diffusion des cellules et des nutriments(296) voire même de manière radiale pour des résultats d'autant plus améliorés.(297)

In vitro, il est proposé de cultiver les différentes couches séparément pour enrayer la concurrence entre les différents types cellulaires dans un scaffold biphasique (298) mais il serait aussi possible

de faire un échafaudage en 3 couches pour les cultiver simultanément(299) ou d'isoler les compartiments par une septum de polycarbonate.(291) Les hMSC n'ont une affinité pour la différenciation osseuse que lorsqu'elles sont exposées précocement à des facteurs ostéogéniques sans autre exposition à des facteurs de croissance(290). En revanche, plusieurs études s'accordent pour pointer du doigt la faible qualité de la croissance cartilagineuse du tandem hMSC/soie (290,300,301) comparé à d'autres essais testant d'autres scaffold. La revue systématique étudiant la régénération cartilagineuse dans la soie de *Bombyx mori* rapporte des résultats *in vitro* et *in vivo* plus encourageants(85).

### 3.5. Régénération nerveuse

#### 3.5.1. Introduction à la régénération nerveuse

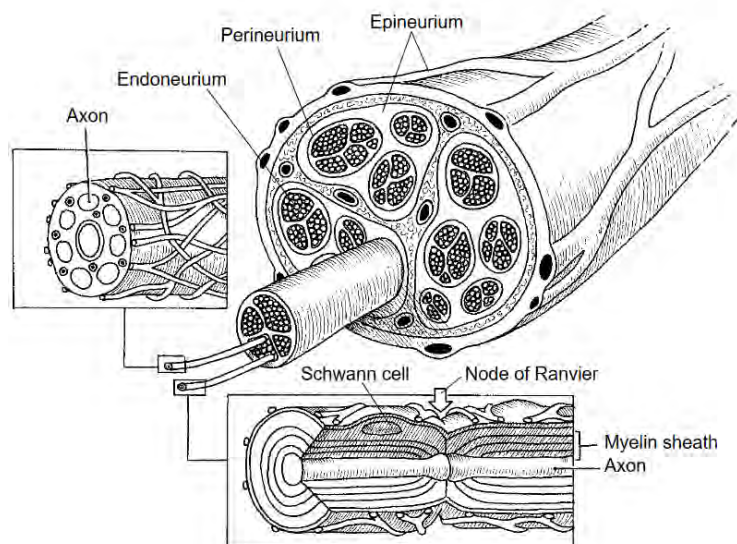


Figure 23 : Coupe transversale d'une structure nerveuse périphérique. Issu de Lundborg G: *Nerve Injury and Repair*. New York: Churchill Livingstone, 1988, p 33 (302)

On distingue deux niveaux d'organisation du système nerveux : Le Système Nerveux Central constitué du cortex cérébral et de la moelle épinière et les nerfs spinaux du Système Nerveux Périphérique auquel appartiennent les nerfs crâniens dont le trijumeau. Ce dernier est constitué de structures protectrices conjonctives imbriquées de manière centrifuge : l'endonèvre autour des fibres nerveuses myélinisées, le périnèvre englobant un réseau vasculaire et les endonèvres et l'épinèvre qui est la couche la plus périphérique. (Figure 23)

La classification de Sunderland(303) classe les lésions nerveuses selon leur intensité croissante :

- I - Neuropraxie est une légère atteinte sans impact structurel guérissant en quelques jours
- II à IV - Axonotmesis est une atteinte sévère avec de potentielles sections d'axones et démyélinisations sans perte d'intégrité conjonctive (II) ou avec atteinte de l'endonèvre (III), du périnèvre (IV) mais maintien de l'épinèvre.
- V - Neurotmesis est une section complète de la structure nerveuse et des tissus conjonctifs environnants nécessitant une intervention chirurgicale pour une récupération partielle.
- VI – Lésions combinées

Lors d'une lésion du système nerveux périphérique, une cicatrisation spontanée peut se faire quand l'intégrité des structures conjonctives est maintenue quelle que soit l'atteinte sous-jacente(304). A l'intérieur de l'épinèvre, les cellules de Schwann se métamorphosent de l'extrémité distale à la dernière unité myélinique (nœud de Ranvier) proximale pour amorcer la dégénérescence wallérienne (Figure 24B). Délaissant ainsi la myélinisation pour la réparation elles amorcent la sécrétion de facteurs neurotropes et neurotrophiques (diminution de MAG, MBP, PMP22 et P0 au profit de GDNF, LIF, CNTF et IL-6). L'endonèvre de l'axone est alors vidé, devenant alors un environnement propice à la régénération des axones rompus vers leur cible, sensitive ou motrice, depuis leur portion proximale. Cette régénération axonale est guidée par les cellules de Schwann qui édifient la bande de Büngner sous l'expression de NGF, BDNF, NT3 et NT4-5 (Figure 24C). Enfin l'axone croit via les cellules de Schwann vers l'organe cible, amorçant sur son sillage la myélinisation via une nouvelle production de MAG, MBP, PMP22 et P0 (Figure 24D).

Les études sur la régénération nerveuses visent à rendre une fonction intégrale lors d'une section complète de l'épinèvre et substitution d'une portion plus ou moins importante par un échafaudage d'ingénier tissulaire. L'objectif est alors d'aiguiller l'édification de la bande de Büngner de cellules de Schwann via un support physique. Dans un second temps la repousse axonale sous forme de simples projections du corps cellulaire ou « neurites » sera alors guidée. C'est la théorie du guidage par contact. Actuellement, le *Gold Standard* de la régénération d'une portion nerveuse est l'autogreffe de nerf qui permet de retrouver la complexité structurale initiale. Cette solution restante très invasive, des études sont menées pour joindre les extrémités résiduelles et promouvoir leur cicatrisation (Figure 24).

L'appréciation de la régénération nerveuse passe d'un point de vue fonctionnel par la mesure de la conduction nerveuse (en m/s), la définition de l'Indice Fonctionnel Sciatique de recouvrement sensoriel (SFI) sous la forme d'un pourcentage négatif de la perte de fonction et celle du Potentiel

d'Action Musculaire Composé (CMAP). D'un point de vue histologique, le nombre, la densité et la taille des cellules nerveuses myélinisées régénérées sont également un indicatif ainsi que l'épaisseur de leur gaine. Ces indices histologiques peuvent être mesurés en proximal comme en distal de la lésion.

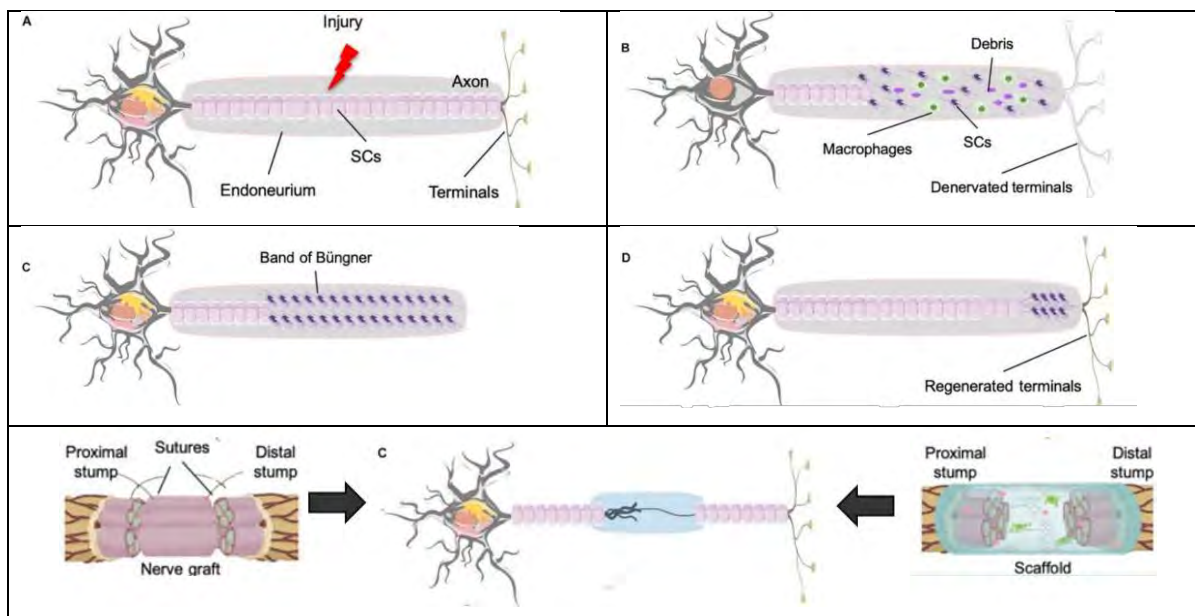


Figure 24 : Description du processus de la cicatrisation nerveuse depuis la lésion (A) en passant par la dégénérescence wallérienne (B), l'édification de la bande de Büngner (C) et la régénération axonale (D).

Sur les 158 articles inclus sur la régénération nerveuses depuis 1977, 65 font état d'études in vivo, essentiellement chez le rat (56/65) mais aussi chez le chien, le lapin, le mouton ou le singe. Ces études font généralement référence à une atteinte du nerfs sciatique (47/67). Les cellules les plus étudiées sont les cellules de Schwann (31 articles), mais le potentiel d'autres types cellulaires est aussi exploré (21 articles) (305–307).

Ainsi en considérant des lésions de 10mm sur un nerf sciatique de rat, 30 études obtiennent des résultats comparables. D'après 12 articles, le potentiel d'action musculaire composé (CMAP) est alors de l'ordre de 10mV, de l'ordre (85-90%) de ce qui peut être obtenu avec la greffe autologue. On reste cependant loin des données obtenues avec un nerfs ad integrum qui ont tendance à doubler ces valeurs pour des études de l'ordre de 12 semaines. Il en est de même pour la conduction nerveuse avoisinant les 30m/s après 3 mois d'expérience, toujours à 50% des capacités initiales. Deux études de 52 et 78 semaines menées par Das & al de l'Université de Gauhati montrent une amélioration notable de la conduction et du CMAP, allant jusqu'à plus de 80% des valeurs normales (308,309). Malheureusement les résultats sur l'Index Fonctionnel Sciatique (SFI) ne passent pas le palier des -40, contre -60 pour les résultats obtenus à 3 mois en l'absence de stimulation.



### 3.5.2. Microarchitecture des échafaudages

Mêlant la soie à divers polymères naturels ou synthétique, les auteurs ont regorgé d'imagination pour reproduire une architecture complexe biomimétique du SNP. La forme de tube électro-filé revient régulièrement depuis que Lovett et al du Tufts ont décrit la possibilité d'élaborer des structures en multicouches permettant un relargage séquencé de principes actifs ((102)). Plusieurs microarchitectures de ces tubes s'affrontent : Organisation uni ou poly-canaulaire, Canaux vides ou emplis d'un échafaudage secondaire ; parois fibreuses lisses ou à micro-motifs (Figure 25, gauche).

Plusieurs études ont mis en évidence l'intérêt de remplir la lumière des conduits, que ces derniers soient de fibroïne, de chitosane ou d'un mélange avec des polymères synthétiques, quels que soient les procédés de mise en forme (électrofilage, lyophilisation, fibres non régénérées) ou la présence de principes actifs. Les cellules semblent tout de même avoir une meilleure réaction quand cet insert se présente de manière ordonnée comme sous forme de fibres coaxiales de faible diamètre (310–314).

Toutes les cellules étudiées (PC12, Cellules de Schwann, ESC, cellules mésenchymateuses, cellules ganglionnaires) répondent à ce paramètre tant quantitativement que qualitativement(315–317). Cette recherche de complexité structurale se retrouve dans le choix entre un canal unique et le modèle poly-canaulaire mais si aucun article comparant l'impact de cette architecture avec une lumière pleine n'a été inclus, l'impact reste significatif lorsque celle-ci est vide(318). Après 12 mois, les résultats obtenus avec un tube creux de chitosane rempli de fibres de soie revêtu de matrice acellulaire sont très proches de ceux obtenus avec une greffe autologue.

En ce qui concerne la paroi du conduit, celle-ci peut être issue d'un électrofilage pouvant gagner en efficacité en étant coaxial ou d'un film enroulé pouvant abriter des motifs(319). Ce dernier modèle permet une coculture de cellules aux environnements différents qui s'agenceront en strate une fois le tube roulé. Huang et al ont ainsi obtenu une des juxtapositions de cultures neuronales et osseuses (Figure 25, droite)(320). La présence de pores au sein du conduit ne semble pas avoir d'impact favorable significatif semble au contraire faciliter l'infiltration des fibroblastes(311).

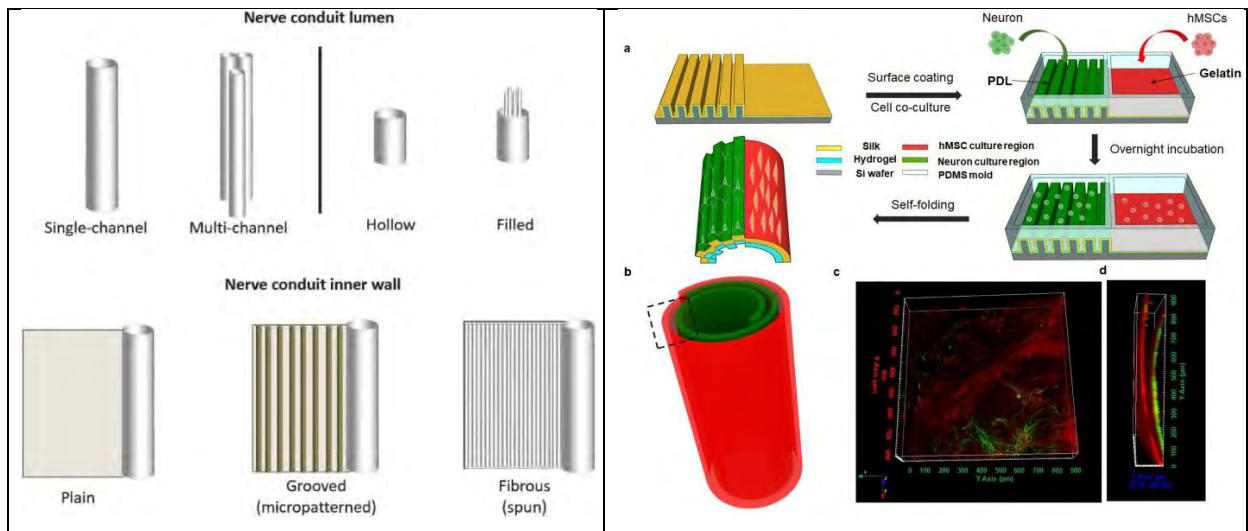


Figure 25 : Différentes microarchitectures des tubes régénération nerveuse (gauche). Elaboration de strates de coculture par enroulement d'un film (droite).

### 3.5.3. Composition des échafaudages

Si un échafaudage de soie, notamment quand il a été électrofilé, a des propriétés mécaniques comparables à un nerf spinal, d'autres composés naturels comme synthétiques ont été mélangés à la soie pour la régénération nerveuse, à l'instar des autres tissus(321).

On retrouve naturellement les différents composants de matrice extra-cellulaire. Celle-ci décellularisée montre chez le chien en complément de polymères naturels des résultats comparables à l'autogreffe à 12 mois(322). En 2013, Catrina et al ont montré que le collagène triplait le relargage de principe actif à 3 jours par sa dégradation rapide. Il a donc été proposé de faire des alternance de couches de différents ratios collagène/soie pour libérer des principes actifs tout en maintenant une intégrité structurale (323). Si in vitro le taux d'adhésion des cellules PC12 semble significativement supérieur pour le scaffold de soie(324), les résultats restent comparables quant aux axones obtenus, tant dans leur diamètre que dans leur nombre(325,326). Concernant un mélange avec l'acide hyaluronique, la capacité à soutenir la multiplication cellulaire en deviendrait significativement meilleure pour les cellules de Schwann, les MSC et hBMSC malgré des propriétés mécaniques affaiblies et une dégradation accrue par ce dernier(327–329). La gélatine quant à elle a été étudiée en association avec un facteur de croissance, le NT3, décrit plus loin.

Les autres polymères naturels se font à nouveau remarquer. L'alginate ralentirait la libération de principes actifs ayant ainsi une incidence sur la réhabilitation fonctionnelle (330,331). Le chitosane est également cité, rempli d'une mousse ou de fibres coaxiales de



soies(312,332,322,333,334). La soie permet de compenser sa demi-vie courte tout en permettant un bon support pour cellules neuronales comme gliales (335).

A l'instar des autres scaffold, une mise en culture préalable à l'implantation in vivo améliore les résultats obtenus, les rapprochant de ce qui peut être obtenu avec une greffe autologue tout en restant significativement en deçà des résultats obtenus sur un nerf intègre (332,336–339).

Les polymères synthétiques sont également présents. Le PCL augmente l'hydrophobie des scaffolds ainsi que ses propriétés mécaniques(340,341). Le PLGA es également cité pour ses interaction avec la soie comme avec le collagène qui permettent de diminuer le diamètre des fibres électrofilées (342,343).

D'un point de vue principes actifs, se distinguent des éléments conducteurs, des facteurs de croissances et des protéines d'adhésion.

Les facteurs de croissance récurrents que sont le NGF, le BDNF, le NT-3 et le GDNF interviennent à différentes étapes de la cicatrisation nerveuse ce qui explique leurs profils différents. Les résultats des expériences menées sur le GDNF rapportent des résultats significativement inférieurs aux greffes autologues et similaire à l'absence de facteurs de croissance(344,345).

Le NGF est lui décrit comme un promoteur significatif de la régénération axonale, permettant de guider les prolongement axonaux le long des fibres de soie (346). L'incorporation du NGF au sein d'un échafaudage de soie nature ou combinée améliore significativement son action par une libération prolongée. Celui-ci promeut la multiplicité des axones présents dans la portion néoformées mais pas nécessairement leur calibre (330,347–349).La vitesse de libération reste ajustable via la concentration en fibroïne dans la solution de départ (350). Celui-ci serait actif même encore lié au scaffold, état majoré par les interactions électriques entretenues avec la fibroïne ( $p_{\text{BDNF}}=4.3$  &  $p_{\text{SF}}=9.3$ ) (315). La mise en place d'un gradient de concentration en NGF pourrait permettre d'augmenter la vitesse d'édification des neurites par rapport à une concentration constante (351,333). Il est alors possible d'obtenir des concentrations en fibre myélinisées significativement supérieures à celles d'une autogreffe tant dans les portions proximales que distales, en dépit que les muscles associés soient significativement plus atrophiés (352). Moins étudié, le CNTF apparait comme un soutien trophique de la croissance axonale(353). Initialement libéré par les cellules gliales en cas de lésion, il agirait comme chimio-attractant sur les progéniteurs endogènes au cours de la migration des cellules de Schwann et de l'infiltration des monocytes(315). Enfin un autre facteur de croissance étudié lui pour la régénération de portions de moelle épinière de l'ordre de 3mm, le NT3 est décrit comme promoteur de la vitalité cellulaire et correcteur morphologique pour les cellules. Il augmente ainsi significativement la

réhabilitation fonctionnelle évaluée par le score BBB(354). En réponse à une compression chronique délabrant la gaine de myéline, son adjonction à un scaffold de chitosane et de séricine permet un recouvrement complet de la structure nerveuse (355).



*Figure 26: Enregistrement vidéo d'un chien ayant subi une hémisection de 4mm de moelle épinière substituée par un scaffold de soie/gélatine contenant (droite) ou pas (gauche) du NT-3. Issu de (354)*

Une des fonctions nerveuses étant la transmission de différences de potentiels, les auteurs se sont naturellement penchés sur les matériaux conducteurs pour optimiser le recouvrement fonctionnel. On retrouve alors des principes actifs discutés comme les Nanotubes de Carbone (CNT) qui favoriseraient significativement *in vitro* la longueur axonale, la différenciation neuronale (émission de bIII-tubuline, MAP2)(356–358). Leur toxicité est en revanche à évaluer sur le moyen et long cours tout comme celle du graphène dans sa forme brute comme oxydée (359–362). Ce dernier augmente les propriétés mécaniques et l'hydrophobie (hausse de l'angle de contact) mais son impact biologique à plus d'une semaine reste préoccupant(363,364,239,365,366). Enfin les études menées avec des nanoparticules d'or rapportent une meilleure adhésion des PC12 sans impacter leur vitalité *in vitro*. *In vivo* les résultats sont encourageant pour un CMAP et une conduction nerveuse rétablie et permettant un retour de la fonction à 18 mois avec persistance cependant d'un SFI de -40(308,367).

Mais l'application d'un champ électrique n'est pas conditionnée par l'utilisation de ces principes actifs à réputation de conducteurs pour avoir des effets significatifs. Zhang Y et al ont montré en 2015 que deux stimulations électriques quotidiennes de 0.6V pour 50Hz pendant 2h augmentent significativement le CMAP et la conduction nerveuse jusqu'à se rapprocher des capacités d'un nerf intègre(368). Ces derniers ne rapportent pas d'impact fonctionnel chiffré mais Zhao Y et al noteront en 2020 une amélioration significative du SFI corrélée avec une meilleure expression de facteurs de croissances (BDNF, NT4-5, NGF, ERK, MAPK, JNK)(369). Ces études *in vivo* ont en commun l'ajout de poly-pyrrolle, polymère biologique bioactif qui s'est également illustré *in vitro* comme complémentaire à une bonne conduction(370–372).

A noter que le travail sur animaux sous-estime le rôle d'une rééducation consciente via une activité physique adaptée menée par une équipe pluridisciplinaire. Les résultats fonctionnels ainsi obtenus semblent donc sous évalués. Virtuoso A et al complètent en suggérant une neurostimulation respectant la modalité sensorielle des neurones cibles(373). L'intérêt des recherches sur le sujet sont motivées à l'échelle générale pour des lésions traumatiques handicapantes. Leur application en réponse aux traumatismes, opérations de chirurgie orthognatiques, tumeurs nerveuses bénigne comme les neurofibromes, les schwanomes ou les tumeurs à cellules granuleuses nécessitant une exérèse peut trouver son intérêt en chirurgie orale.

#### 3.5.4. Impact des différents types de soie

En 2017, Varone et al ont comparé l'impact in vitro de la soie de *Antheraea pernyi* par rapport à celle de *Bombyx*. Ils y ont ajouté à chacune des séquence RGD. Il apparait que les cellules neuronales et gliales se développent significativement mieux dans la soie de A. Pernyi brute que si on lui adjoint des séquences RGD ou sur les différentes compositions de *Bombyx mori*(374). Aucune étude comparative n'a été relevée chez l'animal mais les résultats semblent comparables à ceux obtenus avec la soie de *Bombyx mori* avec un SFI légèrement inférieur aux résultats obtenus avec l'autogreffe sans que ce soit significatif(314).

A l'inverse, les études sur la séricine ne concernent que des études sur le rat. Si seule elle semble incapable d'obtenir de bons résultats fonctionnels, celle-ci se retrouve comme additif au silicone, au chitosane ou aux nanotubes de carbone. Elle améliore alors significativement l'épaisseur de la gaine de myéline, la conductivité nerveuse ou le CMAP pour égaler la greffe autologue mais ceci ne se ressent pas sur l'aspect fonctionnel avec des muscles significativement plus chétifs (375–377). En réponse à une compression nerveuse ayant perturbé la gaine de myéline, son efficacité est comparable à l'injection de NGF sans support(355). La mise en fonction du scaffold par pratique d'une activité physique a un impact prépondérant au recouvrement fonctionnel mais elle permet d'en potentialiser l'effet. De même en l'absence de pratique sportive elle améliore significativement la récupération(378).

Enfin, la soie d'araignée permet l'adhésion et la prolifération guidée des neurones, des ADSCs et des cellules de Schwann(379–382). Ces dernières reconstituent une gaine de myéline mimant celle d'origine avec ses nœuds de Ranvier. Sans développer de réaction inflammatoire disproportionnée, elle permet d'augmenter de 40% la vitesse de régénération axonale se positionnant à 93% de la vitesse obtenue par un greffon autologue(317,383). Pour finir, et al ont

comparé le comportement des cellules de Schwann face à des soies MaSp et TuSp de *Nephilia edulis* par rapport aux soies TuSp et Aggregate d'*Avicularia avicularia*. Ils rapportent que si la structure secondaire des trois premières est semblable en ce qui concerne la proportion en feuillets bêta, celle de la soie Aggregate a une proportion plus faible. La conséquence est une agrégation de la fibre de soie Aggregate engendrant une agrégation des cellules de Schwann quand les autres soies permettent un établissement linéaire de celles-ci(384).

### 3.6. Etudes complémentaires

#### 3.6.1. Fabrication d'adhésifs bio-inspirés

La soie intéresse les chercheurs pour ses propriétés adhésives. La difficulté de coller en milieu humide est un enjeu dont le monde dentaire est témoin. Les adhésifs actuels demandent une isolation stricte de la surface cible pour garantir une bonne adhésion. Parmi les différentes protéines de soie, la soie agreggate, la soie pyriforme et le byssus se démarquent pour leurs propriétés adhésives.

La soie agreggate est composée de deux protéines dont une faisant le lien, possède une séquence complémentaire à la chitine et l'autre permettra le lien avec la structure de la toile. La présence d'eau a un rôle variable dans la soie de chaque espèce avec des pics des propriétés allant d'une hygrométrie de 30% à 70% sur les espèces analysées. Le potentiel adhésif est déclenché au mouvement de retrait et dépend de la vitesse de retrait.

#### 3.6.2. Innovation de fabrications pour création de plaques, vis d'ostéosynthèse

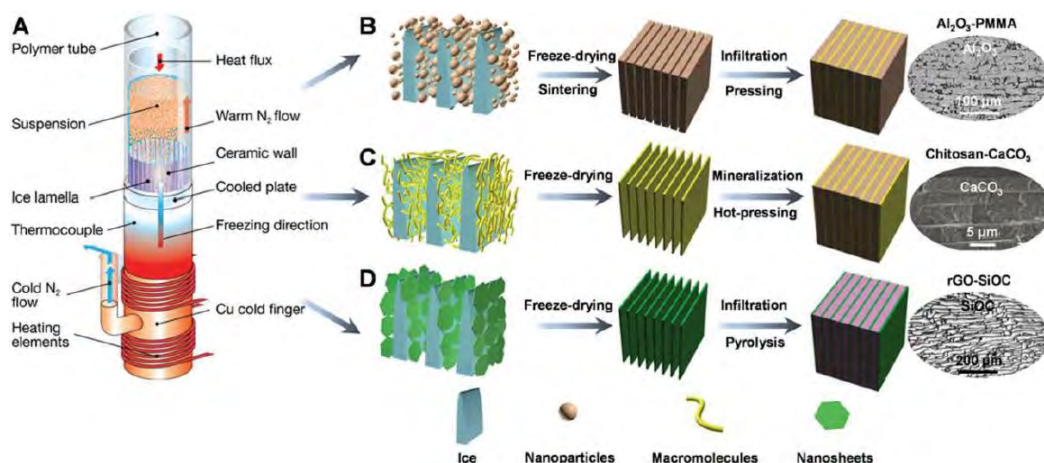
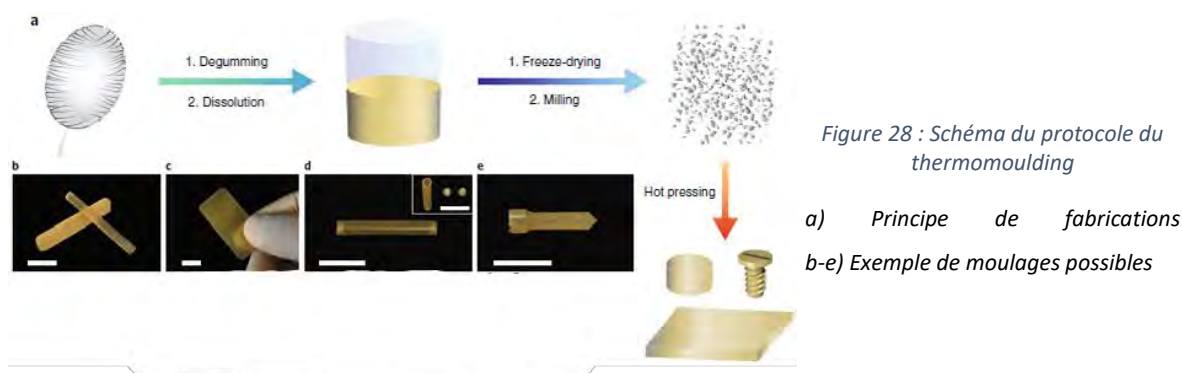


Figure 27: Schématisation des différentes formes de freeze casting (384)

D'autres techniques de mise en forme sont également développées :

- Le *freeze casting* ou compression à froid s'inspire de l'architecture du nacre. Il consiste en un séchage en condition frigorifique par compression progressive de la solution de soie sous la formation de palets de glace. Cette solution peut être aqueuse ou organique, ce qui aura un impact sur la forme des pores obtenues. Plusieurs variantes dans le protocole sont explorées, avec l'adjonction de polymères souples, de céramique ou de métaux(385).
- Le *thermomoulding* (Figure 28) s'inspire de la pétrochimie(386). Le procédé consiste ainsi en une injection de la solution de soie à 25-30% (wt/wt) et en une élimination de l'eau à haute pression pendant 4 jours à température comprise entre 45 et 145°C. Une exposition à haute température augmente les propriétés mécaniques du matériau obtenu. (387).



En 2014, Perrone et al ont conçu une vis d'ostéosynthèse dégradable en soie. Issue d'une déshydratation lente à 60°C avant usinage, la soie se veut alors remplaçante des actuelles vis en alliage de Titane. L'objectif est alors de ne pas réintervenir sur site pour déposer la plaque ou la vis, laissant le matériel subir un remaniement osseux physiologique(388). Des alternatives dégradables existent en PLGA mais sa dégradation occasionne des hiatus qui sont des failles biomécaniques de l'os sujet à la réparation. De nouveaux essais sont nécessaires pour valider que les vis de soie n'occasionnent pas de moins-value par rapport aux gold standard actuel qu'est le Titane(389). D'autant que la soie peut s'imbiber en milieu hydrique, perdant au fil du temps ses propriétés mécaniques et sa rétention. L'ajout de BMP2 dans la structure de la vis permet une meilleure organisation du collagène et une apposition de substance ostéoïde plus importante. Différents schémas existent pour limiter la mise en forme par l'opérateur(390).

### 3.6.3. Perspectives en chirurgie maxillo-faciale

Les applications de la soie en chirurgie maxillo-faciale ne sont à l'heure pas présentes dans la littérature. Mais les avancées dans le domaine, en lien avec les progrès en CAO et en Intelligence Artificielle, en font un des prochains domaines de développement de scaffolds dégradables

comme réservoirs cellulaires(391). Ainsi un nouveau gold standard pourrait suppléer à l'os autogène, approche très invasive nécessitant un site donneur. La soie a déjà montré sa capacité à supporter la prolifération et la différenciation de cellules souches et sa faculté à les différencier en différents tissus(392). A l'instar des autres candidats auxquels elle se retrouve régulièrement mélangée, elle pourrait rejoindre les nanotubes de titane qui sont d'excellent candidats pour l'édification d'endo-bioprothèses(393).

#### 3.6.4. Les protéines de soie encore au stade observationnel

- Soie d'abeille : Constituée majoritairement d'hélice alpha, Contrairement aux autres types de soies du règne animal, la soie d'abeille est bien conservée d'une espèce à l'autre dans le monde. Ses propriétés mécaniques sont indépendantes de la température(81).
- Soie de fourmis : La soie de fourmi, une fois purifiée et électrofilée apparaît comme une nouvelle protéine aux propriétés étonnantes. Le diamètre est plus important que celui de la fibroïne mais on retrouve une résistance de 4MPa avec 30% d'élongation et 59MPa de Module(394).
- La dent de ventouse de calmar géant (SRT) : *Dosidicus gigas* est parmi les plus gros encornets connus possédant plusieurs excroissances de tissus durs dont un anneau denté au niveau de chaque ventouse permettant à ses tentacules une meilleure accroche. La protéine clé est ici la suckerine. L'hybridation de cette protéine avec l'élastine amène une protéine hybride avec des propriétés proches de la soie naturelle. On note une résistance à la rupture de 630MPa et 8GPa de Module de Young(395).

### 3.7. Economie circulaire et ingénierie verte

Un intérêt croissant pour les biomatériaux d'origine naturelle s'opère depuis ces dernières années(396). Leur production industrielle connaît un renouveau par les récents progrès en biotechnologie. On peut notamment citer l'avènement du ciseau génétique CRISPR/Cas9 permettant la production de protéines via de nouveaux vecteurs comme *E. coli* ou *Pischia pastoris*(397).

La chimie verte, dont l'émergence date des années 1980, est au cœur des objectifs de développement durable (ODD) de « l'Agenda 2030 », évolution lors de la COP 21 (2015) de « l'Agenda 21 » issu du Sommet de la Terre de Rio (1992). Son développement qui est en lien avec 15 des 17 Objectifs de Développement Durable défini en 2015, a permis la mise au point de techniques de transformation de la soie moins polluantes que celles traditionnellement décrite (Figure 29). De Bari & al ont ainsi comparé les différentes méthodes pour son dégommeage, sa solubilisation et sa mise en forme selon plusieurs critères : Impact sur l'environnement et sur la

santé, bio-sourçage et soutenabilité, réduction de la consommation en matériaux, réutilisabilité et cout énergétique.

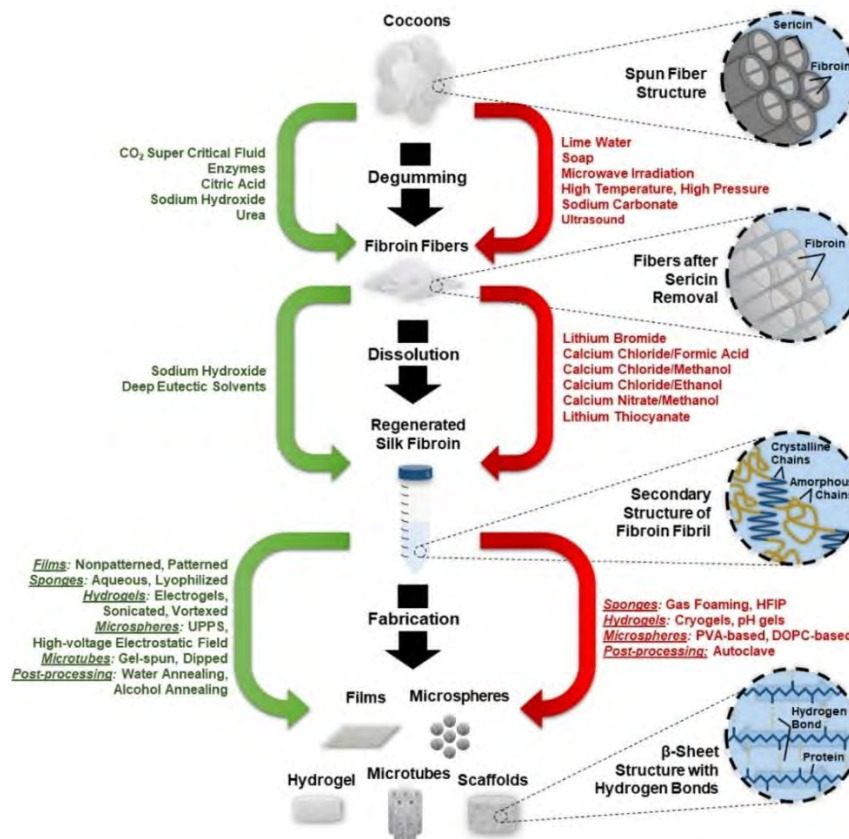


Figure 29 : Nouveaux protocoles de traitement de la soie

La problématique environnementale tend à détourner l'industrie d'une pétrochimie demandant l'extraction et le traitement de résidus de matière organique vieux de plusieurs millions d'années. A peine 8% des plastiques produits sont recyclés, en résultant l'accumulation de déchets dans les décharges et les océans. Ce modèle est donc coûteux tant sur le plan énergétique (notion d'énergie grise) qu'environnemental. La nature génère chaque année 180 milliards de tonnes de biomasse renouvelable(398).

L'avènement des biopolymères peut donc s'affilier à une révolution industrielle permettant la concrétisation du concept d'économie circulaire, un concept initié par Kenneth Boulding dans les années 1960(399) et récemment étudié par le Club de Rome suite au recul de la Commission Européenne de Juncker en 2014. Ce rapport pointe notamment la nécessité d'investissements massifs pour le développement des filières de production, de traitement de ces matériaux et le manque actuel d'appels d'offre. Il apporte aussi des propositions politiques comme la taxation de la ressource plutôt que celle du travail pour la transformer.(400)

Historiquement, le progrès est passé par des fers de lance que sont la médecine et la défense. La soie est déjà utilisée dans l'industrie militaire pour la fabrication de gilets pare-balles plus légers(401). Nous avons vu dans ce travail que parmi les nombreux organes candidats à la régénération tissulaire par la soie et autres matériaux bio-sourcés, les tissus de la sphère orofaciale y tenaient une place de choix. Le potentiel est immense dans les bioplastiques, les circuits électroniques, les adhésifs, les bio-encres (402)...

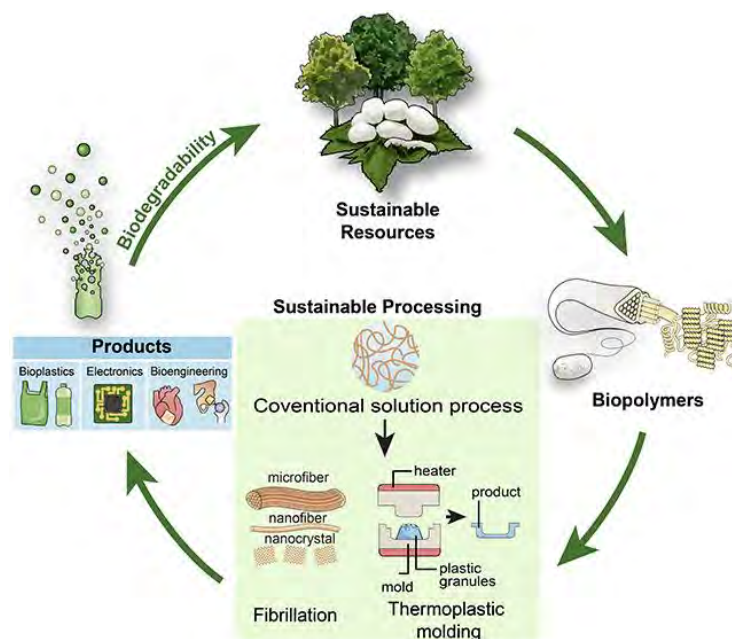


Figure 30 : Potentialisation de l'économie circulaire avec les matériaux bio-sourcés et biodégradables

### 3.8. Limites

#### 3.8.1. Méthodologique

La première limite de cette étude est dans l'acquisition des données des articles. Il aurait été intéressant d'inclure en paramètre la concentration de la solution de soie car certaines études in vitro la font varier exclusivement, ce qui peut avoir un impact sur les propriétés mécaniques et par conséquent sur la biocompatibilité des échafaudages, ou encore la notion de préincubation/insémination. Mais la prise en compte de l'ensemble des paramètres est trop complexe. Ils pourraient constituer des facteurs d'explicabilité d'hétérogénéité dans de futures méta-analyses.

Concernant les « Additif » à la soie, un amalgame a été fait entre les additifs à vocation structurale (chitosane, PCL...) et ceux au rôle de principe actif (facteurs de croissance). Un travail sur la sélection des additifs structuraux aiguillerait sur les ratios les plus pertinents pour correspondre aux propriétés mécaniques du tissu ciblé tout en se maintenant dans le temps pour correspondre au turn-over des cellules cibles.



A propos des critères de régénération osseuse, le taux de formation osseuse initialement choisi ne s'est pas retrouvé dans les articles et a été finalement remplacé par le nombre de Trabéculations par unité (Tb.N)

A propos des critères de régénération nerveuse, le SFI, l'intensité du CMAP, et la vitesse de conduction peuvent être complétés par des critères anatomiques comme l'épaisseur d'un nerf, de sa gaine de myéline ou de son axone ainsi que la caractérisation des muscles gastrocnémiens.

### 3.8.2. Intrinsèque aux résultats

De manière générale sur les études in vitro, la température à laquelle les cellules souches sont cultivées doit être contrôlée, de préférence autour de 37°C plutôt qu'à température ambiante. Il est ainsi rapporté que les hFOB se multiplie mieux à 39°C qu'à 33.5°C.(142).

## Conclusion

L'évolution des traitements en odontologie tend à se rallier aux 4 « P » de la médecine (Préventive, Prédicative, Personnalisée, Participative). Le patient occupe alors un rôle central dans sa prise en charge. L'évolution des politiques de préventions et l'arrivée des thérapies de préservation de la vitalité pulpaire ont pour vocation de ralentir le gradient thérapeutique. L'importance de la restauration de l'intégrité d'une dent gagne alors en importance. La soie, comme d'autres protéines du monde biologique a un intérêt en ingénierie biomédicale. Sa grande diversité passe notamment par la multitude d'espèce la produisant. Elle n'est cependant pas une réponse unique et son utilisation semble devoir se faire en addition d'autres composés. Si les coûts de recherche et développement peuvent sembler freiner le développement de ces nouvelles thérapeutiques, le potentiel industriel et politique relié à la capacité de faire rapidement chuter ces coûts de production.

Ce travail montre aussi l'intérêt de l'abord pluridisciplinaire de la recherche en biomatériaux et dans l'industrie bio-inspirée. Répondant à de nombreux enjeux auxquels fait face l'humanité, la chimie verte apparait comme une récompense tardive après des siècles de pollution exponentielle. La nature peut alors être vue comme une bibliothèque à préserver et à observer pour bâtir le développement. Reste à espérer que suffisamment de livres seront préservés pour entretenir notre soif de renouveau.

Le Président du Jury

Pr Florent DESTRUHAUT

A handwritten signature in black ink, consisting of several overlapping loops and a long horizontal stroke extending to the right.

Le Directeur de Thèse

Pr Paul MONSARRAT

A handwritten signature in black ink, featuring a large, sweeping loop followed by several smaller, more intricate strokes.

## Bibliographie

1. Kanemaru S ichi, Hirano S, Umeda H, Yamashita M, Suehiro A, Nakamura T, et al. A tissue-engineering approach for stenosis of the trachea and/or cricoid. *Acta Oto-Laryngol Suppl.* nov 2010;(563):79-83.
2. Ram-Liebig G, Barbagli G, Heidenreich A, Fahlenkamp D, Romano G, Rebmann U, et al. Results of Use of Tissue-Engineered Autologous Oral Mucosa Graft for Urethral Reconstruction: A Multicenter, Prospective, Observational Trial. *EBioMedicine.* sept 2017;23:185-92.
3. Lima Júnior EM, Moraes Filho MO de, Forte AJ, Costa BA, Fachine FV, Alves APNN, et al. Pediatric Burn Treatment Using Tilapia Skin as a Xenograft for Superficial Partial-Thickness Wounds: A Pilot Study. *J Burn Care Res Off Publ Am Burn Assoc.* 19 févr 2020;41(2):241-7.
4. El Zarif M, Alió JL, Alió Del Barrio JL, Abdul Jawad K, Palazón-Bru A, Abdul Jawad Z, et al. Corneal Stromal Regeneration Therapy for Advanced Keratoconus: Long-term Outcomes at 3 Years. *Cornea.* 1 juin 2021;40(6):741-54.
5. Réthoré, Gildas, Vinatier C, Weiss P. Ingénierie Tissulaire en Odontologie Partie 1 - Généralités. *Inf Dent.* 2017;2(2):14-23.
6. Omenetto FG, Kaplan DL. Snapshot: Silk biomaterials. *Biomaterials.* août 2010;31(23):6119-20.
7. Kiseleva AP, Kiselev GO, Nikolaeva VO, Seisenbaeva G, Kessler V, Krivoschapkin PV, et al. Hybrid Spider Silk with Inorganic Nanomaterials. *Nanomaterials.* 16 sept 2020;10(9):1853.
8. Gong Y, Li L, Gong D, Yin H, Zhang J. Biomolecular Evidence of Silk from 8,500 Years Ago. Zhou F, éditeur. *PLOS ONE.* 12 déc 2016;11(12):e0168042.
9. Ali FM, Al-Iryani G, Faridi M. Revisiting Oral and Maxillofacial Surgical Views as Practiced by Al-Zahrawi : A Review. *Int Arab J Dent.* déc 2017;8(3):94-8.
10. Dragovic M, Pejovic M, Stepic J, Colic S, Dozic B, Dragovic S, et al. Comparison of four different suture materials in respect to oral wound healing, microbial colonization, tissue reaction and clinical features—randomized clinical study. *Clin Oral Investig.* 1 avr 2020;24(4):1527-41.
11. Zhang T, Liu R, Luo Q, Qu D, Chen T, Yao O, et al. Expression and characterization of recombinant human VEGF165 in the middle silk gland of transgenic silkworms. *Transgenic Res.* 1 déc 2019;28(5):601-9.
12. Julien E, Coulon-Bublex M, Garel A, Royer C, Chavancy G, Prudhomme JC, et al. 2.11 - Silk Gland Development and Regulation of Silk Protein Genes. In: Gilbert LI, éditeur. *Comprehensive Molecular Insect Science [Internet].* Amsterdam: Elsevier; 2005 [cité 9 mai 2023]. p. 369-84. Disponible sur: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B0444519246000223>
13. Guo X, Dong Z, Zhang Y, Li Y, Liu H, Xia Q, et al. Proteins in the Cocoon of Silkworm Inhibit the Growth of *Beauveria bassiana*. Ling E, éditeur. *PLOS ONE.* 31 mars 2016;11(3):e0151764.

14. Naskar D, Sapru S, Ghosh AK, Reis RL, Dey T, Kundu SC. Nonmulberry silk proteins: multipurpose ingredient in bio-functional assembly. *Biomed Mater Bristol Engl*. 22 sept 2021;16(6).
15. Zhao K, Yining W, Jingjing X, Guangzhou S, Mengyao D, Huanrong Z, et al. An RGD-Containing Peptide Derived from Wild Silkworm Silk Fibroin Promotes Cell Adhesion and Spreading. *Polymers* [Internet]. 26 oct 2018 [cité 7 sept 2022];10(11). Disponible sur: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30961118/>
16. Kunz RI, Brancalhão RMC, Ribeiro L de FC, Natali MRM. Silkworm Sericin: Properties and Biomedical Applications. *BioMed Res Int*. 2016;2016:1-19.
17. Altman GH, Diaz F, Jakuba C, Calabro T, Horan RL, Chen J, et al. Silk-based biomaterials. *Biomaterials*. 1 févr 2003;24(3):401-16.
18. Siavashani AZ, Mohammadi J, Rottmar M, Senturk B, Nourmohammadi J, Sadeghi B, et al. Silk fibroin/sericin 3D sponges: The effect of sericin on structural and biological properties of fibroin. *Int J Biol Macromol*. juin 2020;153:317-26.
19. Cao Y, Wang B. Biodegradation of Silk Biomaterials. *Int J Mol Sci*. 31 mars 2009;10(4):1514-24.
20. Kobayashi. nv THE THIRD INTERNATIONAL CONFERENCE ON WILD SILK MOTHS-1998 ' RECENT ADVANCES IN GENE TECHNOLOGY OF SILK SPINNING INSECTS. In 2009 [cité 11 févr 2023]. Disponible sur: <https://www.semanticscholar.org/paper/nv-THE-THIRD-INTERNATIONAL-CONFERENCE-ON-WILD-SILK-Kobayashi/fb7a4799f36a1dadb1d4025899971405ae60df99>
21. Gloor D, Nentwig W, Blick T, Kropf C. *World Spider Catalog*. 2017 [cité 25 janv 2023]; Disponible sur: <http://wsc.nmbe.ch>
22. Kono N, Nakamura H, Mori M, Tomita M, Arakawa K. Spidroin profiling of cribellate spiders provides insight into the evolution of spider prey capture strategies. *Sci Rep* [Internet]. 24 sept 2020 [cité 31 mai 2021];10. Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7515903/>
23. Eisner T, Alsop R, Ettershank G. ADHESIVENESS OF SPIDER SILK. *Science*. 20 nov 1964;146(3647):1058-61.
24. Ko FK, Wan LY. Engineering properties of spider silk. In: *Handbook of Properties of Textile and Technical Fibres* [Internet]. Elsevier; 2018 [cité 21 déc 2019]. p. 185-220. Disponible sur: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780081012727000067>
25. Guehrs KH, Schlott B, Grosse F, Weisshart K. Environmental conditions impinge on dragline silk protein composition. *Insect Mol Biol*. sept 2008;17(5):553-64.
26. Simmons AH, Michal CA, Jelinski LW. Molecular Orientation and Two-Component Nature of the Crystalline Fraction of Spider Dragline Silk. *Science*. 5 janv 1996;271(5245):84-7.
27. dos Santos-Pinto JRA, Lamprecht G, Chen WQ, Heo S, Hardy JG, Priewalder H, et al. Structure and post-translational modifications of the web silk protein spidroin-1 from *Nephila* spiders. *J Proteomics*. juin 2014;105:174-85.

28. Townley MA, Tillinghast EK. Aggregate Silk Gland Secretions of Araneoid Spiders. In: Nentwig W, éditeur. Spider Ecophysiology [Internet]. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg; 2013 [cité 16 juin 2021]. p. 283-302. Disponible sur: [http://link.springer.com/10.1007/978-3-642-33989-9\\_21](http://link.springer.com/10.1007/978-3-642-33989-9_21)
29. Vasanthavada K, Hu X, Tuton-Blasingame T, Hsia Y, Sampath S, Pacheco R, et al. Spider Glue Proteins Have Distinct Architectures Compared with Traditional Spidroin Family Members. *J Biol Chem*. oct 2012;287(43):35986-99.
30. Stellwagen SD, Renberg RL. Towards Spider Glue: Long Read Scaffolding for Extreme Length and Repetitious Silk Family Genes AgSp1 and AgSp2 with Insights into Functional Adaptation. *G3amp58 GenesGenomesGenetics*. 11 avr 2019;g3.400065.2019.
31. Singla S, Amarpuri G, Dhopatkar N, Blackledge TA, Dhinojwala A. Hygroscopic compounds in spider aggregate glue remove interfacial water to maintain adhesion in humid conditions. *Nat Commun*. déc 2018;9(1):1890.
32. Jain D, Amarpuri G, Fitch J, Blackledge ToddA, Dhinojwala A. Role of Hygroscopic Low Molecular Mass Compounds in Humidity Responsive Adhesion of Spider's Capture Silk. *Biomacromolecules*. 9 juill 2018;19(7):3048-57.
33. Wang K, Wen R, Jia Q, Liu X, Xiao J, Meng Q. Analysis of the Full-Length Pyriform Spidroin Gene Sequence. *Genes* [Internet]. 3 juin 2019 [cité 15 juin 2021];10(6). Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6627382/>
34. Geurts P, Zhao L, Hsia Y, Gnesa E, Tang S, Jeffery F, et al. Synthetic Spider Silk Fibers Spun from Pyriform Spidroin 2, A Glue Silk Protein Discovered in Orb-Weaving Spider Attachment Discs. *Biomacromolecules*. 13 déc 2010;11(12):3495-503.
35. Andersson M, Johansson J, Rising A. Silk Spinning in Silkworms and Spiders. *Int J Mol Sci*. 2016;14.
36. Kovoov J, Zylberberg L. Fine structural aspects of silk secretion in a spider. II. Conduction in the pyriform glands. *Tissue Cell*. 1982;14(3):519-30.
37. Gosline JM. The mechanical design of spider silks. :9.
38. Eisoldt L, Thamm C, Scheibel T. The role of terminal domains during storage and assembly of spider silk proteins. *Biopolymers*. juin 2012;97(6):355-61.
39. Greving I, Terry AE, Holland C, Boulet-Audet M, Grillo I, Vollrath F, et al. Structural Diversity of Native Major Ampullate, Minor Ampullate, Cylindriform, and Flagelliform Silk Proteins in Solution. *Biomacromolecules*. 10 août 2020;21(8):3387-93.
40. C0915033. Schematic of the spiders spinning apparatus and structural hierarchy in silk assembling related to assembly into fibers. In: Wikipedia [Internet]. 2017 [cité 27 oct 2023]. Disponible sur: [https://en.wikipedia.org/w/index.php?title=Spider\\_silk&oldid=1181889254](https://en.wikipedia.org/w/index.php?title=Spider_silk&oldid=1181889254)
41. Carrington E. Along the silk road, spiders make way for mussels. *Trends Biotechnol*. févr 2008;26(2):55-7.
42. Li S, Xia Z, Chen Y, Gao Y, Zhan A. Byssus Structure and Protein Composition in the Highly Invasive Fouling Mussel *Limnoperna fortunei*. *Front Physiol*. 2018;9:418.

43. Miao Y, Zhang L, Sun Y, Jiao W, Li Y, Sun J, et al. Integration of Transcriptomic and Proteomic Approaches Provides a Core Set of Genes for Understanding of Scallop Attachment. *Mar Biotechnol N Y N.* oct 2015;17(5):523-32.
44. Liu C, Li S, Huang J, Liu Y, Jia G, Xie L, et al. Extensible byssus of *Pinctada fucata*: Ca(2+)-stabilized nanocavities and a thrombospondin-1 protein. *Sci Rep.* 8 oct 2015;5:15018.
45. Gantayet A, Rees DJ, Sone ED. Novel proteins identified in the insoluble byssal matrix of the freshwater zebra mussel. *Mar Biotechnol N Y N.* avr 2014;16(2):144-55.
46. Gil ES, Frankowski DJ, Bowman MK, Gozen AO, Hudson SM, Spontak RJ. Mixed protein blends composed of gelatin and *Bombyx mori* silk fibroin: effects of solvent-induced crystallization and composition. *Biomacromolecules.* mars 2006;7(3):728-35.
47. Zafar MS, Al-Samadani KH. Potential use of natural silk for bio-dental applications. *J Taibah Univ Med Sci.* sept 2014;9(3):171-7.
48. Tokareva O, Jacobsen M, Buehler M, Wong J, Kaplan DL. Structure-function-property-design interplay in biopolymers: spider silk. *Acta Biomater.* avr 2014;10(4):1612-26.
49. Shao Z, Vollrath F. Surprising strength of silkworm silk. *Nature.* août 2002;418(6899):741-741.
50. Mechanical Property scatter graph | Spider Silkome DB [Internet]. [cité 9 mai 2023]. Disponible sur: [https://spider-silkome.org/mechanical\\_properties/scatter\\_graph](https://spider-silkome.org/mechanical_properties/scatter_graph)
51. Teulé F, Miao YG, Sohn BH, Kim YS, Hull JJ, Fraser MJ, et al. Silkworms transformed with chimeric silkworm/spider silk genes spin composite silk fibers with improved mechanical properties. *Proc Natl Acad Sci.* 17 janv 2012;109(3):923-8.
52. Wolff JO, Michalik P, Ravelo AM, Herberstein ME, Ramírez MJ. Evolution of Silk Anchor Structure as the Joint Effect of Spinning Behavior and Spinneret Morphology. *Integr Comp Biol.* 14 oct 2021;61(4):1411-31.
53. Wegst UGK, Ashby MF. The mechanical efficiency of natural materials. *Philos Mag.* 21 juill 2004;84(21):2167-86.
54. Wegst UGK, Bai H, Saiz E, Tomsia AP, Ritchie RO. Bioinspired structural materials. *Nat Mater.* janv 2015;14(1):23-36.
55. Munch E, Launey ME, Alsem DH, Saiz E, Tomsia AP, Ritchie RO. Tough, Bio-Inspired Hybrid Materials. *Science.* 5 déc 2008;322(5907):1516-20.
56. Kundu B, Rajkhowa R, Kundu SC, Wang X. Silk fibroin biomaterials for tissue regenerations. *Adv Drug Deliv Rev.* avr 2013;65(4):457-70.
57. Sun W, Gregory DA, Tomeh MA, Zhao X. Silk Fibroin as a Functional Biomaterial for Tissue Engineering. *Int J Mol Sci.* 2 févr 2021;22(3):1499.
58. Wu Z, Meng Z, Wu Q, Zeng D, Guo Z, Yao J, et al. Biomimetic and osteogenic 3D silk fibroin composite scaffolds with nano MgO and mineralized hydroxyapatite for bone regeneration. *J Tissue Eng.* 2020;11:2041731420967791.

59. Seok H, Jo YY, Kweon H, Kim SG, Kim MK, Chae WS. Comparison of Bio-degradation for Ridge Preservation Using Silk Fibroin-based Grafts and a Collagen Plug. *Tissue Eng Regen Med.* 17 mai 2017;14(3):221-31.
60. Preda RC, Leisk G, Omenetto F, Kaplan DL. Bioengineered Silk Proteins to Control Cell and Tissue Functions. In: Gerrard JA, éditeur. *Protein Nanotechnology* [Internet]. Totowa, NJ: Humana Press; 2013 [cité 26 déc 2019]. p. 19-41. Disponible sur: [http://link.springer.com/10.1007/978-1-62703-354-1\\_2](http://link.springer.com/10.1007/978-1-62703-354-1_2)
61. McNamara SL, McCarthy EM, Schmidt DF, Johnston S, Kaplan DL. Rheological Characterization, Compression, and Injection Molding of Hydroxyapatite-Silk Fibroin Composites. *Biomaterials.* févr 2021;269:120643.
62. Wang Q, Zhang Y, Li B, Chen L. Controlled dual delivery of low doses of BMP-2 and VEGF in a silk fibroin–nanohydroxyapatite scaffold for vascularized bone regeneration. *J Mater Chem B.* 23 août 2017;5(33):6963-72.
63. Tomeh MA, Hadianamrei R, Zhao X. Silk Fibroin as a Functional Biomaterial for Drug and Gene Delivery. *Pharmaceutics.* 26 sept 2019;11(10):494.
64. Hu X, Shmelev K, Sun L, Gil ES, Park SH, Cebe P, et al. Regulation of silk material structure by temperature-controlled water vapor annealing. *Biomacromolecules.* 9 mai 2011;12(5):1686-96.
65. Zhu J, Luo J, Zhao X, Gao J, Xiong J. Electrospun homogeneous silk fibroin/poly ( $\epsilon$ -caprolactone) nanofibrous scaffolds by addition of acetic acid for tissue engineering. *J Biomater Appl.* sept 2016;31(3):421-37.
66. Luo J, Zhu J, Wang L, Kang J, Wang X, Xiong J. Co-electrospun nano-/microfibrous composite scaffolds with structural and chemical gradients for bone tissue engineering. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl.* févr 2021;119:111622.
67. Shao W, He J, Han Q, Sang F, Wang Q, Chen L, et al. A biomimetic multilayer nanofiber fabric fabricated by electrospinning and textile technology from polylactic acid and Tussah silk fibroin as a scaffold for bone tissue engineering. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl.* 1 oct 2016;67:599-610.
68. Kapoor S, Kundu SC. Silk protein-based hydrogels: Promising advanced materials for biomedical applications. *Acta Biomater.* févr 2016;31:17-32.
69. Maniglio D, Bonani W, Migliaresi C, Motta A. Silk fibroin porous scaffolds by N<sub>2</sub>O foaming. *J Biomater Sci Polym Ed.* 24 mars 2018;29(5):491-506.
70. Uebersax L, Hagenmüller H, Hofmann S, Gruenblatt E, Müller R, Vunjak-Novakovic G, et al. Effect of scaffold design on bone morphology in vitro. *Tissue Eng.* déc 2006;12(12):3417-29.
71. Nazarov R, Jin HJ, Kaplan DL. Porous 3-D Scaffolds from Regenerated Silk Fibroin. *Biomacromolecules.* mai 2004;5(3):718-26.
72. Mandal BB, Kundu SC. Osteogenic and adipogenic differentiation of rat bone marrow cells on non-mulberry and mulberry silk gland fibroin 3D scaffolds. *Biomaterials.* oct 2009;30(28):5019-30.

73. Yao D, Peng G, Qian Z, Niu Y, Liu H, Fan Y. Regulating Coupling Efficiency of REDV by Controlling Silk Fibroin Structure for Vascularization. *ACS Biomater Sci Eng.* 11 déc 2017;3(12):3515-24.
74. Uebersax L, Apfel T, Nuss KMR, Vogt R, Kim HY, Meinel L, et al. Biocompatibility and osteoconduction of macroporous silk fibroin implants in cortical defects in sheep. *Eur J Pharm Biopharm Off J Arbeitsgemeinschaft Pharm Verfahrenstechnik EV.* sept 2013;85(1):107-18.
75. Kuboyama N, Kiba H, Arai K, Uchida R, Tanimoto Y, Bhawal UK, et al. Silk fibroin-based scaffolds for bone regeneration. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater.* févr 2013;101(2):295-302.
76. Zhang W, Ahluwalia IP, Literman R, Kaplan DL, Yelick PC. Human dental pulp progenitor cell behavior on aqueous and hexafluoroisopropanol based silk scaffolds. *J Biomed Mater Res A.* 2011;97A(4):414-22.
77. Wang Y, Rudym DD, Walsh A, Abrahamsen L, Kim HJ, Kim HS, et al. In vivo degradation of three-dimensional silk fibroin scaffolds. *Biomaterials.* 2008;29(24-25):3415-28.
78. Nisal A, Sayyad R, Dhavale P, Khude B, Deshpande R, Mapare V, et al. Silk fibroin micro-particle scaffolds with superior compression modulus and slow bioresorption for effective bone regeneration. *Sci Rep.* 8 mai 2018;8(1):1-10.
79. Heidebrecht A, Scheibel T. Recombinant Production of Spider Silk Proteins. In: *Advances in Applied Microbiology* [Internet]. Elsevier; 2013 [cité 26 déc 2019]. p. 115-53. Disponible sur: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780124076792000041>
80. RAMSAY A. Observations on the Application of Oiled Silk or Oil-Skin, to the Surface of the Human Body. *Lond Med Phys J.* 1816;205(3):165-74.
81. Hepburn HR, Duangphakdee O, Pirk CWW. Physical properties of honeybee silk: a review. *Apidologie.* sept 2013;44(5):600-10.
82. Wenk E, Merkle HP, Meinel L. Silk fibroin as a vehicle for drug delivery applications. *J Control Release Off J Control Release Soc.* 10 mars 2011;150(2):128-41.
83. Kim WJ, Kim BS, Cho YD, Yoon WJ, Baek JH, Woo KM, et al. Fibroin particle-supported cationic lipid layers for highly efficient intracellular protein delivery. *Biomaterials.* 1 avr 2017;122:154-62.
84. Abbott RD, Kimmerling EP, Cairns DM, Kaplan DL. Silk as a Biomaterial to Support Long-Term Three-Dimensional Tissue Cultures. *ACS Appl Mater Interfaces.* 31 août 2016;8(34):21861-8.
85. Fazal N, Latief N. Bombyx mori derived scaffolds and their use in cartilage regeneration: a systematic review. *Osteoarthritis Cartilage.* déc 2018;26(12):1583-94.
86. Pecci-Lloret MP, Vera-Sánchez M, Aznar-Cervantes S, García-Bernal D, Sánchez RO, Pecci-Lloret MR, et al. Analysis of the Adherence of Dental Pulp Stem Cells on Two-Dimensional and Three-Dimensional Silk Fibroin-Based Biomaterials. *J Craniofac Surg.* juin 2017;28(4):939-43.
87. Yang JW, Zhang YF, Sun ZY, Song GT, Chen Z. Dental pulp tissue engineering with bFGF-incorporated silk fibroin scaffolds. *J Biomater Appl.* août 2015;30(2):221-9.



88. Etienne O, Schneider A, Kluge JA, Bellemin-Laponnaz C, Polidori C, Leisk GG, et al. Soft Tissue Augmentation Using Silk Gels: An In Vitro and In Vivo Study. *J Periodontol.* 2009;80(11):1852-8.
89. Sun Z, Bai L. Analysis of neovascularization after implanting porous silk fibroin films in rats. *Biomed Mater Eng.* 2011;21(4):259-70.
90. Bai L, Wang G, Tan X, Xu J. Exploring the Mechanism of Microarteriogenesis in Porous Silk Fibroin Film. *Int J Biomater.* 2012;2012:262890.
91. Bai L, Wu D, Xu J, Liu H, Xie M, Guan G, et al. On model of angiogenesis and the mechanism in porous silk fibroin films. *J Mater Sci Mater Med.* avr 2011;22(4):927-33.
92. Thurber AE, Omenetto FG, Kaplan DL. In vivo bioresponses to silk proteins. *Biomaterials.* 1 déc 2015;71:145-57.
93. Gupta P, Mandal BB. Silk biomaterials for vascular tissue engineering applications. *Acta Biomater.* 15 oct 2021;134:79-106.
94. Zhan K, Bai L, Xu J. Role of vascular endothelial progenitor cells in construction of new vascular loop. *Microvasc Res.* nov 2013;90:1-11.
95. Ghanaati S. Non-cross-linked porcine-based collagen I-III membranes do not require high vascularization rates for their integration within the implantation bed: a paradigm shift. *Acta Biomater.* août 2012;8(8):3061-72.
96. Han H, Ning H, Liu S, Lu Q, Fan Z, Lu H, et al. Silk Biomaterials with Vascularization Capacity. *Adv Funct Mater.* 20 janv 2016;26(3):421-36.
97. Tang F, Manz XD, Bongers A, Odell RA, Joukhdar H, Whitelock JM, et al. Microchannels Are an Architectural Cue That Promotes Integration and Vascularization of Silk Biomaterials in Vivo. *ACS Biomater Sci Eng.* 9 mars 2020;6(3):1476-86.
98. Multi-channel silk sponge mimicking bone marrow vascular niche for platelet production - PubMed [Internet]. [cité 24 févr 2022]. Disponible sur: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29920404/>
99. Vulpe R, Le Cerf D, Dulong V, Popa M, Peptu C, Verestiuc L, et al. Rheological study of in-situ crosslinkable hydrogels based on hyaluronan acid, collagen and sericin. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl.* 1 déc 2016;69:388-97.
100. Ding Z, Zhou M, Zhou Z, Zhang W, Jiang X, Lu X, et al. Injectable Silk Nanofiber Hydrogels for Sustained Release of Small-Molecule Drugs and Vascularization. *ACS Biomater Sci Eng.* 12 août 2019;5(8):4077-88.
101. Enomoto S, Sumi M, Kajimoto K, Nakazawa Y, Takahashi R, Takabayashi C, et al. Long-term patency of small-diameter vascular graft made from fibroin, a silk-based biodegradable material. *J Vasc Surg.* 1 janv 2010;51(1):155-64.
102. Lovett ML, Cannizzaro CM, Vunjak-Novakovic G, Kaplan DL. Gel spinning of silk tubes for tissue engineering. *Biomaterials.* 1 déc 2008;29(35):4650-7.
103. Mejía-Suaza ML, Moncada ME, Ossa-Orozco CP. Characterization of Electrospun Silk Fibroin Scaffolds for Bone Tissue Engineering: A Review. *Tecnológicas.* 2020;23(49):33-51.

104. Steiner D, Lang G, Fischer L, Winkler S, Fey T, Greil P, et al. Intrinsic Vascularization of Recombinant eADF4(C16) Spider Silk Matrices in the Arteriovenous Loop Model. *Tissue Eng Part A*. nov 2019;25(21-22):1504-13.
105. Lin X, Tang F, Jiang S, Khamis H, Bongers A, Whitelock JM, et al. A Biomimetic Approach toward Enhancing Angiogenesis: Recombinantly Expressed Domain V of Human Perlecan Is a Bioactive Molecule That Promotes Angiogenesis and Vascularization of Implanted Biomaterials. *Adv Sci Weinh Baden-Wurttemberg*. sept 2020;7(17):2000900.
106. Ai C, Sheng D, Chen J, Cai J, Wang S, Jiang J, et al. Surface modification of vascular endothelial growth factor-loaded silk fibroin to improve biological performance of ultra-high-molecular-weight polyethylene via promoting angiogenesis. *Int J Nanomedicine*. 2017;12:7737-50.
107. Tong S, Xu D peng, Liu Z mei, Du Y, Wang X kai. Synthesis of the New-Type Vascular Endothelial Growth Factor-Silk Fibroin-Chitosan Three-Dimensional Scaffolds for Bone Tissue Engineering and In Vitro Evaluation. *J Craniofac Surg*. mars 2016;27(2):509-15.
108. Farokhi M, Mottaghitalab F, Shokrgozar MA, Ai J, Hadjati J, Azami M. Bio-hybrid silk fibroin/calcium phosphate/PLGA nanocomposite scaffold to control the delivery of vascular endothelial growth factor. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*. 1 févr 2014;35:401-10.
109. Wang W, Yu Y, Jiang Y, Qu J, Niu L, Yang J, et al. Silk fibroin scaffolds loaded with angiogenic genes in adenovirus vectors for tissue regeneration. *J Tissue Eng Regen Med*. 2019;13(5):715-28.
110. Nakamura M, Soya T, Hiratai R, Nagai A, Hashimoto K, Morita I, et al. Endothelial cell migration and morphogenesis on silk fibroin scaffolds containing hydroxyapatite electret. *J Biomed Mater Res A*. avr 2012;100(4):969-77.
111. Shimada K, Honda T, Kato K, Hori R, Ujike N, Uemura A, et al. Silk fibroin-based vascular repairing sheet with angiogenic-promoting activity of SVVYGLR peptide regenerated the damaged vascular in rats. *J Biomater Appl*. 2 juin 2020;885328220928660.
112. Karageorgiou V, Kaplan D. Porosity of 3D biomaterial scaffolds and osteogenesis. *Biomaterials*. sept 2005;26(27):5474-91.
113. Hulbert SF, Young FA, Mathews RS, Klawitter JJ, Talbert CD, Stelling FH. Potential of ceramic materials as permanently implantable skeletal prostheses. *J Biomed Mater Res*. 1970;4(3):433-56.
114. Parfitt AM, Drezner MK, Glorieux FH, Kanis JA, Malluche H, Meunier PJ, et al. Bone histomorphometry: standardization of nomenclature, symbols, and units. Report of the ASBMR Histomorphometry Nomenclature Committee. *J Bone Miner Res Off J Am Soc Bone Miner Res*. déc 1987;2(6):595-610.
115. Chappard C. Méthodes d'évaluation de la microarchitecture de l'os trabéculaire humain. *médecine/sciences*. déc 2012;28(12):1111-5.
116. Hagenmüller H, Hofmann S, Kohler T, Merkle HP, Kaplan DL, Vunjak-Novakovic G, et al. Non-invasive time-lapsed monitoring and quantification of engineered bone-like tissue. *Ann Biomed Eng*. oct 2007;35(10):1657-67.

117. Seok H, Kim MK, Kim SG, Kweon H. Comparison of silkworm-cocoon-derived silk membranes of two different thicknesses for guided bone regeneration. *J Craniofac Surg.* nov 2014;25(6):2066-9.
118. Song JM, Shin SH, Kim YD, Lee JY, Baek YJ, Yoon SY, et al. Comparative study of chitosan/fibroin-hydroxyapatite and collagen membranes for guided bone regeneration in rat calvarial defects: micro-computed tomography analysis. *Int J Oral Sci.* juin 2014;6(2):87-93.
119. Kim JY, Yang BE, Ahn JH, Park SO, Shim HW. Comparable efficacy of silk fibroin with the collagen membranes for guided bone regeneration in rat calvarial defects. *J Adv Prosthodont.* déc 2014;6(6):539-46.
120. Gu Y, Chen L, Niu HY, Shen XF, Yang HL. Promoting spinal fusions by biomineralized silk fibroin films seeded with bone marrow stromal cells: An in vivo animal study. *J Biomater Appl.* mars 2016;30(8):1251-60.
121. Kweon H, Lee SW, Hahn BD, Lee YC, Kim SG. Hydroxyapatite and silk combination-coated dental implants result in superior bone formation in the peri-implant area compared with hydroxyapatite and collagen combination-coated implants. *J Oral Maxillofac Surg Off J Am Assoc Oral Maxillofac Surg.* oct 2014;72(10):1928-36.
122. Promita B, Tapas K M, Debasis B, Samit Kumar N. Effect of different mineralization processes on in vitro and in vivo bone regeneration and osteoblast-macrophage cross-talk in co-culture system using dual growth factor mediated non-mulberry silk fibroin grafted poly ( $\epsilon$ -caprolactone) nanofibrous scaffold. *Colloids Surf B Biointerfaces.* 1 août 2017;156:270-81.
123. Maniglio D, Bonani W, Bortoluzzi G, Servoli E, Motta A, Migliaresi C. Electrodeposition of Silk Fibroin on Metal Substrates. *J Bioact Compat Polym.* sept 2010;25(5):441-54.
124. Shao W, He J, Wang Q, Cui S, Ding B. Biomineralized Poly(l-lactic-co-glycolic acid)/Graphene Oxide/Tussah Silk Fibroin Nanofiber Scaffolds with Multiple Orthogonal Layers Enhance Osteoblastic Differentiation of Mesenchymal Stem Cells. *ACS Biomater Sci Eng.* 10 juill 2017;3(7):1370-80.
125. Shuai Y, Mao C, Yang M. Protein Nanofibril Assemblies Templated by Graphene Oxide Nanosheets Accelerate Early Cell Adhesion and Induce Osteogenic Differentiation of Human Mesenchymal Stem Cells. *ACS Appl Mater Interfaces.* 26 sept 2018;10(38):31988-97.
126. Lin L, Hao R, Xiong W, Zhong J. Quantitative analyses of the effect of silk fibroin/nano-hydroxyapatite composites on osteogenic differentiation of MG-63 human osteosarcoma cells. *J Biosci Bioeng.* mai 2015;119(5):591-5.
127. Li JJ, Roohani-Esfahani SI, Kim K, Kaplan DL, Zreiqat H. Silk coating on a bioactive ceramic scaffold for bone regeneration: effective enhancement of mechanical and in vitro osteogenic properties towards load-bearing applications. *J Tissue Eng Regen Med.* juin 2017;11(6):1741-53.
128. Mieszawska AJ, Fourligas N, Georgakoudi I, Ouhib NM, Belton DJ, Perry CC, et al. Osteoinductive silk-silica composite biomaterials for bone regeneration. *Biomaterials.* déc 2010;31(34):8902-10.

129. Midha S, Tripathi R, Geng H, Lee PD, Ghosh S. Elucidation of differential mineralisation on native and regenerated silk matrices. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl.* 1 nov 2016;68:663-74.
130. Yanlin L, Xian C, John A J, Sander G C L, Jing M, Fang Y, et al. The molecular conformation of silk fibroin regulates osteogenic cell behavior by modulating the stability of the adsorbed protein-material interface. *Bone Res [Internet].* 2 nov 2021 [cité 9 févr 2023];9(1). Disponible sur: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33574222/>
131. Yang M, Shuai Y, Sunderland KS, Mao C. Ice-Templated Protein Nanoridges Induce Bone Tissue Formation. *Adv Funct Mater.* 24 nov 2017;27(44):1703726.
132. Hu X, Park SH, Gil ES, Xia XX, Weiss AS, Kaplan DL. The influence of elasticity and surface roughness on myogenic and osteogenic-differentiation of cells on silk-elastin biomaterials. *Biomaterials.* déc 2011;32(34):8979-89.
133. Ferri ALM, Ceserani V, Greppi N, Tosetti V, Schiariti M, Alessandri G, et al. Osteogenic differentiation of adipose tissue-derived mesenchymal stem cells cultured on a scaffold made of silk fibroin and cord blood platelet gel. *Blood Transfus Trasfus Sanguie.* mai 2016;14(2):206-11.
134. Sayin E, Baran ET, Hasirci V. Osteogenic differentiation of adipose derived stem cells on high and low aspect ratio micropatterns. *J Biomater Sci Polym Ed.* 2015;26(18):1402-24.
135. Tien LW, Gil ES, Park SH, Mandal BB, Kaplan DL. Patterned silk film scaffolds for aligned lamellar bone tissue engineering. *Macromol Biosci.* déc 2012;12(12):1671-9.
136. Zhong Z, Ma J. Fabrication, characterization, and in vitro study of zinc substituted hydroxyapatite/silk fibroin composite coatings on titanium for biomedical applications. *J Biomater Appl.* sept 2017;32(3):399-409.
137. Martín-Moldes Z, Ebrahimi D, Plowright R, Dinjaski N, Perry CC, Buehler MJ, et al. Intracellular Pathways Involved in Bone Regeneration Triggered by Recombinant Silk-silica Chimeras. *Adv Funct Mater.* 4 juill 2018;28(27):1702570.
138. Türkkän S, Pazarçeviren AE, Keskin D, Machin NE, Duygulu Ö, Tezcaner A. Nanosized CaP-silk fibroin-PCL-PEG-PCL/PCL based bilayer membranes for guided bone regeneration. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl.* 1 nov 2017;80:484-93.
139. Patil S, Singh N. Spatially controlled functional group grafting of silk films to induce osteogenic and chondrogenic differentiation of human mesenchymal stem cells. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl.* 1 oct 2018;91:796-805.
140. Hayden RS, Fortin JP, Harwood B, Subramanian B, Quinn KP, Georgakoudi I, et al. Cell-tethered ligands modulate bone remodeling by osteoblasts and osteoclasts. *Adv Funct Mater.* 29 janv 2014;24(4):472-9.
141. Sofia S, McCarthy MB, Gronowicz G, Kaplan DL. Functionalized silk-based biomaterials for bone formation. *J Biomed Mater Res.* janv 2001;54(1):139-48.
142. Midha S, Chameettachal S, Dey E, Ghosh S. Nonmulberry Silk Braids Direct Terminal Osteocytic Differentiation through Activation of Wnt-Signaling. *ACS Biomater Sci Eng.* 12 juin 2017;3(6):1062-74.

143. Dinjaski N, Plowright R, Zhou S, Belton DJ, Perry CC, Kaplan DL. Osteoinductive recombinant silk fusion proteins for bone regeneration. *Acta Biomater.* févr 2017;49:127-39.
144. Keceli HG, Bayram C, Celik E, Ercan N, Demirbilek M, Nohutcu RM. Dual delivery of platelet-derived growth factor and bone morphogenetic factor-6 on titanium surface to enhance the early period of implant osseointegration. *J Periodontal Res.* oct 2020;55(5):694-704.
145. Li JJ, Gil ES, Hayden RS, Li C, Roohani-Esfahani SI, Kaplan DL, et al. Multiple silk coatings on biphasic calcium phosphate scaffolds: Effect on physical and mechanical properties, and in vitro osteogenic response of human mesenchymal stem cells. *Biomacromolecules.* 8 juill 2013;14(7):2179-88.
146. Cai K, Hu Y, Jandt KD. Surface engineering of titanium thin films with silk fibroin via layer-by-layer technique and its effects on osteoblast growth behavior. *J Biomed Mater Res A.* 15 sept 2007;82A(4):927-35.
147. Li DW, He J, He FL, Liu YL, Liu YY, Ye YJ, et al. Silk fibroin/chitosan thin film promotes osteogenic and adipogenic differentiation of rat bone marrow-derived mesenchymal stem cells. *J Biomater Appl.* avr 2018;32(9):1164-73.
148. Saha S, Pramanik K, Biswas A. Silk fibroin coated TiO<sub>2</sub> nanotubes for improved osteogenic property of Ti6Al4V bone implants. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl.* déc 2019;105:109982.
149. Han C, Yao Y, Cheng X, Luo J, Luo P, Wang Q, et al. Electrophoretic Deposition of Gentamicin-Loaded Silk Fibroin Coatings on 3D-Printed Porous Cobalt-Chromium-Molybdenum Bone Substitutes to Prevent Orthopedic Implant Infections. *Biomacromolecules.* 13 nov 2017;18(11):3776-87.
150. Gorgin Karaji Z, Jahanmard F, Mirzaei AH, van der Wal B, Amin Yavari S. A multifunctional silk coating on additively manufactured porous titanium to prevent implant-associated infection and stimulate bone regeneration. *Biomed Mater Bristol Engl.* 3 oct 2020;15(6):065016.
151. Zhou W, Jia Z, Xiong P, Yan J, Li Y, Li M, et al. Bioinspired and Biomimetic AgNPs/Gentamicin-Embedded Silk Fibroin Coatings for Robust Antibacterial and Osteogenetic Applications. *ACS Appl Mater Interfaces.* 9 août 2017;9(31):25830-46.
152. Nilebäck L, Widhe M, Seijsing J, Byssell H, Sharma PK, Hedhammar M. Bioactive Silk Coatings Reduce the Adhesion of *Staphylococcus aureus* while Supporting Growth of Osteoblast-like Cells. *ACS Appl Mater Interfaces.* 17 juill 2019;11(28):24999-5007.
153. Mehrjou B, Mo S, Dehghan-Baniani D, Wang G, Qasim AM, Chu PK. Antibacterial and Cytocompatible Nanoengineered Silk-Based Materials for Orthopedic Implants and Tissue Engineering. *ACS Appl Mater Interfaces.* 4 sept 2019;11(35):31605-14.
154. Fini M, Motta A, Torricelli P, Giavaresi G, Nicoli Aldini N, Tschon M, et al. The healing of confined critical size cancellous defects in the presence of silk fibroin hydrogel. *Biomaterials.* juin 2005;26(17):3527-36.
155. Yan Y, Cheng B, Chen K, Cui W, Qi J, Li X, et al. Enhanced Osteogenesis of Bone Marrow-Derived Mesenchymal Stem Cells by a Functionalized Silk Fibroin Hydrogel for Bone Defect Repair. *Adv Healthc Mater.* févr 2019;8(3):e1801043.

156. Ding Z, Lu G, Cheng W, Xu G, Zuo B, Lu Q, et al. Tough Anisotropic Silk Nanofiber Hydrogels with Osteoinductive Capacity. *ACS Biomater Sci Eng.* 13 avr 2020;6(4):2357-67.
157. Moses JC, Dey M, Devi KB, Roy M, Nandi SK, Mandal BB. Synergistic Effects of Silicon/Zinc Doped Brushite and Silk Scaffolding in Augmenting the Osteogenic and Angiogenic Potential of Composite Biomimetic Bone Grafts. *ACS Biomater Sci Eng.* 11 mars 2019;5(3):1462-75.
158. Zhang W, Wang X, Wang S, Zhao J, Xu L, Zhu C, et al. The use of injectable sonication-induced silk hydrogel for VEGF(165) and BMP-2 delivery for elevation of the maxillary sinus floor. *Biomaterials.* déc 2011;32(35):9415-24.
159. Diab T, Pritchard EM, Uhrig BA, Boerckel JD, Kaplan DL, Guldberg RE. A silk hydrogel-based delivery system of bone morphogenetic protein for the treatment of large bone defects. *J Mech Behav Biomed Mater.* juill 2012;11:123-31.
160. Cheng W, Ding Z, Zheng X, Lu Q, Kong X, Zhou X, et al. Injectable hydrogel systems with multiple biophysical and biochemical cues for bone regeneration. *Biomater Sci.* 6 mai 2020;8(9):2537-48.
161. Burger D, Beaumont M, Rosenau T, Tamada Y. Porous Silk Fibroin/Cellulose Hydrogels for Bone Tissue Engineering via a Novel Combined Process Based on Sequential Regeneration and Porogen Leaching. *Mol Basel Switz.* 3 nov 2020;25(21):5097.
162. Kundu B, Bastos ARF, Brancato V, Cerqueira MT, Oliveira JM, Correlo VM, et al. Mechanical Property of Hydrogels and the Presence of Adipose Stem Cells in Tumor Stroma Affect Spheroid Formation in the 3D Osteosarcoma Model. *ACS Appl Mater Interfaces.* 24 avr 2019;11(16):14548-59.
163. Ma D, An G, Liang M, Liu Y, Zhang B, Wang Y. A composited PEG-silk hydrogel combining with polymeric particles delivering rhBMP-2 for bone regeneration. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl.* 1 août 2016;65:221-31.
164. Ribeiro M, Fernandes MH, Beppu MM, Monteiro FJ, Ferraz MP. Silk fibroin/nanohydroxyapatite hydrogels for promoted bioactivity and osteoblastic proliferation and differentiation of human bone marrow stromal cells. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl.* 1 août 2018;89:336-45.
165. Ding Z, Han H, Fan Z, Lu H, Sang Y, Yao Y, et al. Nanoscale Silk-Hydroxyapatite Hydrogels for Injectable Bone Biomaterials. *ACS Appl Mater Interfaces.* 24 mai 2017;9(20):16913-21.
166. Jin Y, Kundu B, Cai Y, Kundu SC, Yao J. Bio-inspired mineralization of hydroxyapatite in 3D silk fibroin hydrogel for bone tissue engineering. *Colloids Surf B Biointerfaces.* 1 oct 2015;134:339-45.
167. Uchida R, Bhawal UK, Kiba H, Arai K, Tanimoto Y, Kuboyama N, et al. Effect of plasma-irradiated silk fibroin in bone regeneration. *J Biosci Bioeng.* sept 2014;118(3):333-40.
168. Maraldi T, Riccio M, Resca E, Pisciotta A, La Sala GB, Ferrari A, et al. Human amniotic fluid stem cells seeded in fibroin scaffold produce in vivo mineralized matrix. *Tissue Eng Part A.* nov 2011;17(21-22):2833-43.
169. Li Y, Liu Z, Tang Y, Fan Q, Feng W, Luo C, et al. Three-dimensional silk fibroin scaffolds enhance the bone formation and angiogenic differentiation of human amniotic

mesenchymal stem cells: a biocompatibility analysis. *Acta Biochim Biophys Sin.* 20 juin 2020;52(6):590-602.

170. Liu B, Gao X, Sun Z, Fang Q, Geng X, Zhang H, et al. Biomimetic porous silk fibroin/biphasic calcium phosphate scaffold for bone tissue regeneration. *J Mater Sci Mater Med.* 19 déc 2018;30(1):4.
171. Meinel L, Fajardo R, Hofmann S, Langer R, Chen J, Snyder B, et al. Silk implants for the healing of critical size bone defects. *Bone.* nov 2005;37(5):688-98.
172. Kim JH, Moon HJ, Kim TH, Jo JM, Yang SH, Naskar D, et al. A novel in vivo platform for studying alveolar bone regeneration in rat. *J Tissue Eng.* 2013;4:2041731413517705.
173. Hu K, Hu M, Xiao Y, Cui Y, Yan J, Yang G, et al. Preparation recombination human-like collagen/fibroin scaffold and promoting the cell compatibility with osteoblasts. *J Biomed Mater Res A.* mars 2021;109(3):346-53.
174. Sangkert S, Meesane J, Kamonmattayakul S, Chai WL. Modified silk fibroin scaffolds with collagen/decellularized pulp for bone tissue engineering in cleft palate: Morphological structures and biofunctionalities. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl.* 1 janv 2016;58:1138-49.
175. Lee H, Yang GH, Kim M, Lee J, Huh J, Kim G. Fabrication of micro/nanoporous collagen/dECM/silk-fibroin biocomposite scaffolds using a low temperature 3D printing process for bone tissue regeneration. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl.* 1 mars 2018;84:140-7.
176. Marelli B, Ghezzi CE, Alessandrino A, Barralet JE, Freddi G, Nazhat SN. Silk fibroin derived polypeptide-induced biomineralization of collagen. *Biomaterials.* janv 2012;33(1):102-8.
177. Meinel L, Karageorgiou V, Fajardo R, Snyder B, Shinde-Patil V, Zichner L, et al. Bone tissue engineering using human mesenchymal stem cells: effects of scaffold material and medium flow. *Ann Biomed Eng.* janv 2004;32(1):112-22.
178. Li J, Wang Q, Gu Y, Zhu Y, Chen L, Chen Y. Production of Composite Scaffold Containing Silk Fibroin, Chitosan, and Gelatin for 3D Cell Culture and Bone Tissue Regeneration. *Med Sci Monit Int Med J Exp Clin Res.* 8 nov 2017;23:5311-20.
179. Tong S, Xu DP, Liu ZM, Wang XK. Construction and in vitro characterization of three-dimensional silk fibroin-chitosan scaffolds. *Dent Mater J.* 2015;34(4):475-84.
180. Aliramaji S, Zamanian A, Mozafari M. Super-paramagnetic responsive silk fibroin/chitosan/magnetite scaffolds with tunable pore structures for bone tissue engineering applications. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl.* 1 janv 2017;70(Pt 1):736-44.
181. Xiao H, Huang W, Xiong K, Ruan S, Yuan C, Mo G, et al. Osteochondral repair using scaffolds with gradient pore sizes constructed with silk fibroin, chitosan, and nano-hydroxyapatite. *Int J Nanomedicine.* 2019;14:2011-27.
182. Grabska-Zielińska S, Sionkowska A, Carvalho Â, Monteiro FJ. Biomaterials with Potential Use in Bone Tissue Regeneration-Collagen/Chitosan/Silk Fibroin Scaffolds Cross-Linked by EDC/NHS. *Mater Basel Switz.* 26 févr 2021;14(5):1105.

183. Xiao L, Wu M, Yan F, Xie Y, Liu Z, Huang H, et al. A radial 3D polycaprolactone nanofiber scaffold modified by biomineralization and silk fibroin coating promote bone regeneration in vivo. *Int J Biol Macromol*. 1 mars 2021;172:19-29.
184. Hofmann S, Hagenmüller H, Koch AM, Müller R, Vunjak-Novakovic G, Kaplan DL, et al. Control of in vitro tissue-engineered bone-like structures using human mesenchymal stem cells and porous silk scaffolds. *Biomaterials*. févr 2007;28(6):1152-62.
185. Hofmann S, Hilbe M, Fajardo RJ, Hagenmüller H, Nuss K, Arras M, et al. Remodeling of tissue-engineered bone structures in vivo. *Eur J Pharm Biopharm Off J Arbeitsgemeinschaft Pharm Verfahrenstechnik EV*. sept 2013;85(1):119-29.
186. Di Buduo CA, Soprano PM, Tozzi L, Marconi S, Auricchio F, Kaplan DL, et al. Modular flow chamber for engineering bone marrow architecture and function. *Biomaterials*. nov 2017;146:60-71.
187. Correia C, Grayson W, Eton R, Gimble JM, Sousa RA, Reis RL, et al. Human adipose-derived cells can serve as a single-cell source for the in vitro cultivation of vascularized bone grafts. *J Tissue Eng Regen Med*. août 2014;8(8):629-39.
188. Mauney JR, Nguyen T, Gillen K, Kirker-Head C, Gimble JM, Kaplan DL. Engineering Adipose-like Tissue in vitro and in vivo Utilizing Human Bone Marrow and Adipose-derived Mesenchymal Stem Cells with Silk Fibroin 3D Scaffolds. *Biomaterials*. déc 2007;28(35):5280-90.
189. Zhao J, Zhang Z, Wang S, Sun X, Zhang X, Chen J, et al. Apatite-coated silk fibroin scaffolds to healing mandibular border defects in canines. *Bone*. sept 2009;45(3):517-27.
190. Koh KS, Choi JW, Park EJ, Oh TS. Bone Regeneration using Silk Hydroxyapatite Hybrid Composite in a Rat Alveolar Defect Model. *Int J Med Sci*. 2018;15(1):59-68.
191. Shi P, Teh TKH, Toh SL, Goh JCH. Variation of the effect of calcium phosphate enhancement of implanted silk fibroin ligament bone integration. *Biomaterials*. août 2013;34(24):5947-57.
192. Nie L, Zhang H, Ren A, Li Y, Fu G, Cannon RD, et al. Nano-hydroxyapatite mineralized silk fibroin porous scaffold for tooth extraction site preservation. *Dent Mater Off Publ Acad Dent Mater*. oct 2019;35(10):1397-407.
193. Bhumiratana S, Grayson WL, Castaneda A, Rockwood DN, Gil ES, Kaplan DL, et al. Nucleation and growth of mineralized bone matrix on silk-hydroxyapatite composite scaffolds. *Biomaterials*. avr 2011;32(11):2812-20.
194. Agapov II, Moisenovich MM, Druzhinina TV, Kamenchuk YA, Trofimov KV, Vasilyeva TV, et al. Biocomposite scaffolds containing regenerated silk fibroin and nanohydroxyapatite for bone tissue regeneration. *Dokl Biochem Biophys*. 2011;440:228-30.
195. Kim MH, Kim BS, Lee J, Cho D, Kwon OH, Park WH. Silk fibroin/hydroxyapatite composite hydrogel induced by gamma-ray irradiation for bone tissue engineering. *Biomater Res*. 2017;21:12.
196. Ye P, Yu B, Deng J, She RF, Huang WL. Application of silk fibroin/chitosan/nano-hydroxyapatite composite scaffold in the repair of rabbit radial bone defect. *Exp Ther Med*. déc 2017;14(6):5547-53.



197. Diaz-Gomez L, García-González CA, Wang J, Yang F, Aznar-Cervantes S, Cenis JL, et al. Biodegradable PCL/fibroin/hydroxyapatite porous scaffolds prepared by supercritical foaming for bone regeneration. *Int J Pharm.* 15 juill 2017;527(1-2):115-25.
198. Kweon H, Lee KG, Chae CH, Balázi C, Min SK, Kim JY, et al. Development of nano-hydroxyapatite graft with silk fibroin scaffold as a new bone substitute. *J Oral Maxillofac Surg Off J Am Assoc Oral Maxillofac Surg.* juin 2011;69(6):1578-86.
199. Yan LP, Silva-Correia J, Correia C, Caridade SG, Fernandes EM, Sousa RA, et al. Bioactive macro/micro porous silk fibroin/nano-sized calcium phosphate scaffolds with potential for bone-tissue-engineering applications. *Nanomed.* mars 2013;8(3):359-78.
200. Goncharenko AV, Malyuchenko NV, Moisenovich AM, Kotlyarova MS, Arkhipova AY, Kon'kov AS, et al. Changes in morphology of actin filaments and expression of alkaline phosphatase at 3D cultivation of MG-63 osteoblast-like cells on mineralized fibroin scaffolds. *Dokl Biochem Biophys.* sept 2016;470(1):368-70.
201. Zhang F, Zhu H, Wang G, Xie J, Tao Y, Xia W, et al. Preparation and characterization of a silk fibroin/calcium sulfate bone cement. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater.* févr 2018;106(2):512-9.
202. Cheng N, Dai J, Cheng X, Li S, Miron RJ, Wu T, et al. Porous CaP/silk composite scaffolds to repair femur defects in an osteoporotic model. *J Mater Sci Mater Med.* août 2013;24(8):1963-75.
203. Lee DH, Tripathy N, Shin JH, Song JE, Cha JG, Min KD, et al. Enhanced osteogenesis of  $\beta$ -tricalcium phosphate reinforced silk fibroin scaffold for bone tissue biofabrication. *Int J Biol Macromol.* févr 2017;95:14-23.
204. Chengtie W, Yufeng Z, Yinghong Z, Wei F, Yin X. A comparative study of mesoporous glass/silk and non-mesoporous glass/silk scaffolds: Physiochemistry and in vivo osteogenesis. *Acta Biomater.* 1 mai 2011;7(5):2229-36.
205. Cheng N, Wang Y, Zhang Y, Shi B. The osteogenic potential of mesoporous bioglasses/silk and non-mesoporous bioglasses/silk scaffolds in ovariectomized rats: in vitro and in vivo evaluation. *PLoS One.* 2013;8(11):e81014.
206. Karageorgiou V, Tomkins M, Fajardo R, Meinel L, Snyder B, Wade K, et al. Porous silk fibroin 3-D scaffolds for delivery of bone morphogenetic protein-2 in vitro and in vivo. *J Biomed Mater Res A.* août 2006;78(2):324-34.
207. Zhang Y, Fan W, Ma Z, Wu C, Fang W, Liu G, et al. The effects of pore architecture in silk fibroin scaffolds on the growth and differentiation of mesenchymal stem cells expressing BMP7. *Acta Biomater.* août 2010;6(8):3021-8.
208. Jiang X, Zhao J, Wang S, Sun X, Zhang X, Chen J, et al. Mandibular repair in rats with premineralized silk scaffolds and BMP-2-modified bMSCs. *Biomaterials.* sept 2009;30(27):4522-32.
209. Zhang W, Zhu C, Ye D, Xu L, Zhang X, Wu Q, et al. Porous Silk Scaffolds for Delivery of Growth Factors and Stem Cells to Enhance Bone Regeneration. *PLoS ONE.* 22 juill 2014;9(7):e102371.

210. Kim HJ, Kim UJ, Kim HS, Li C, Wada M, Leisk GG, et al. Bone tissue engineering with premineralized silk scaffolds. *Bone*. juin 2008;42(6):1226-34.
211. Meinel L, Hofmann S, Betz O, Fajardo R, Merkle HP, Langer R, et al. Osteogenesis by human mesenchymal stem cells cultured on silk biomaterials: comparison of adenovirus mediated gene transfer and protein delivery of BMP-2. *Biomaterials*. oct 2006;27(28):4993-5002.
212. Johari N, Madaah Hosseini HR, Samadikuchaksaraei A. Novel fluoridated silk fibroin/ TiO<sub>2</sub> nanocomposite scaffolds for bone tissue engineering. *Mater Sci Eng C*. 1 janv 2018;82:265-76.
213. Kim JH, Kim DK, Lee OJ, Ju HW, Lee JM, Moon BM, et al. Osteoinductive silk fibroin/titanium dioxide/hydroxyapatite hybrid scaffold for bone tissue engineering. *Int J Biol Macromol*. janv 2016;82:160-7.
214. Jin HJ, Chen J, Karageorgiou V, Altman GH, Kaplan DL. Human bone marrow stromal cell responses on electrospun silk fibroin mats. *Biomaterials*. mars 2004;25(6):1039-47.
215. Liu T, Chen Y, Lai D, Zhang L, Pan X, Chen J, et al. Biomimetic fabrication of new bioceramics-introduced fibrous scaffolds: From physicochemical characteristics to in vitro biological properties. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*. 1 janv 2019;94:547-57.
216. Ki CS, Park SY, Kim HJ, Jung HM, Woo KM, Lee JW, et al. Development of 3-D nanofibrous fibroin scaffold with high porosity by electrospinning: implications for bone regeneration. *Biotechnol Lett*. mars 2008;30(3):405-10.
217. Bhattacharjee P, Kundu B, Naskar D, Kim HW, Bhattacharya D, Maiti TK, et al. Potential of inherent RGD containing silk fibroin-poly ( $\epsilon$ -caprolactone) nanofibrous matrix for bone tissue engineering. *Cell Tissue Res*. févr 2016;363(2):525-40.
218. Wang Z, Lin M, Xie Q, Sun H, Huang Y, Zhang D, et al. Electrospun silk fibroin/poly(lactide-co- $\epsilon$ -caprolactone) nanofibrous scaffolds for bone regeneration. *Int J Nanomedicine*. 2016;11:1483-500.
219. Sujana A, Venugopal JR, Velmurugan B, Góra A, Salla M, Ramakrishna S. Hydroxyapatite-intertwined hybrid nanofibres for the mineralization of osteoblasts. *J Tissue Eng Regen Med*. juin 2017;11(6):1853-64.
220. Watcharajittanont N, Putson C, Pripatnanont P, Meesane J. Layer-by-layer electrospun membranes of polyurethane/silk fibroin based on mimicking of oral soft tissue for guided bone regeneration. *Biomed Mater Bristol Engl*. 23 août 2019;14(5):055011.
221. Bhattacharjee P, Kundu B, Naskar D, Maiti TK, Bhattacharya D, Kundu SC. Nanofibrous nonmulberry silk/PVA scaffold for osteoinduction and osseointegration. *Biopolymers*. mai 2015;103(5):271-84.
222. Kim SG, Kim MK, Kweon H, Jo YY, Lee KG, Lee JK. Comparison of unprocessed silk cocoon and silk cocoon middle layer membranes for guided bone regeneration. *Maxillofac Plast Reconstr Surg*. 29 févr 2016;38(1):11.
223. Lu S, Wang P, Zhang F, Zhou X, Zuo B, You X, et al. A novel silk fibroin nanofibrous membrane for guided bone regeneration: a study in rat calvarial defects. *Am J Transl Res*. 2015;7(11):2244-53.

224. Baek YJ, Kim JH, Song JM, Yoon SY, Kim HS, Shin SH. Chitin-fibroin-hydroxyapatite membrane for guided bone regeneration: micro-computed tomography evaluation in a rat model. *Maxillofac Plast Reconstr Surg.* déc 2016;38(1):14.
225. Wu J, Cao L, Liu Y, Zheng A, Jiao D, Zeng D, et al. Functionalization of Silk Fibroin Electrospun Scaffolds via BMSC Affinity Peptide Grafting through Oxidative Self-Polymerization of Dopamine for Bone Regeneration. *ACS Appl Mater Interfaces.* 6 mars 2019;11(9):8878-95.
226. Park SY, Ki CS, Park YH, Jung HM, Woo KM, Kim HJ. Electrospun silk fibroin scaffolds with macropores for bone regeneration: an in vitro and in vivo study. *Tissue Eng Part A.* avr 2010;16(4):1271-9.
227. Liu T, Ding X, Lai D, Chen Y, Zhang R, Chen J, et al. Enhancing in vitro bioactivity and in vivo osteogenesis of organic-inorganic nanofibrous biocomposites with novel bioceramics. *J Mater Chem B.* 7 oct 2014;2(37):6293-305.
228. Shalumon KT, Lai GJ, Chen CH, Chen JP. Modulation of Bone-Specific Tissue Regeneration by Incorporating Bone Morphogenetic Protein and Controlling the Shell Thickness of Silk Fibroin/Chitosan/Nanohydroxyapatite Core-Shell Nanofibrous Membranes. *ACS Appl Mater Interfaces.* 30 sept 2015;7(38):21170-81.
229. Tao C, Zhang Y, Li B, Chen L. Hierarchical micro/submicrometer-scale structured scaffolds prepared via coaxial electrospinning for bone regeneration. *J Mater Chem B.* 14 déc 2017;5(46):9219-28.
230. Yao J, Liu Z, Ma W, Dong W, Wang Y, Zhang H, et al. Three-Dimensional Coating of SF/PLGA Coaxial Nanofiber Membranes on Surfaces of Calcium Phosphate Cement for Enhanced Bone Regeneration. *ACS Biomater Sci Eng.* 11 mai 2020;6(5):2970-84.
231. Zadegan S, Nourmohammadi J, Vahidi B, Haghighipour N. An investigation into osteogenic differentiation effects of silk fibroin-nettle (*Urtica dioica* L.) nanofibers. *Int J Biol Macromol.* 15 juill 2019;133:795-803.
232. Shao W, He J, Sang F, Wang Q, Chen L, Cui S, et al. Enhanced bone formation in electrospun poly(L-lactic-co-glycolic acid)-tussah silk fibroin ultrafine nanofiber scaffolds incorporated with graphene oxide. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl.* mai 2016;62:823-34.
233. Gandhimathi C, Quek YJ, Ezhilarasu H, Ramakrishna S, Bay BH, Srinivasan DK. Osteogenic Differentiation of Mesenchymal Stem Cells with Silica-Coated Gold Nanoparticles for Bone Tissue Engineering. *Int J Mol Sci.* 16 oct 2019;20(20):5135.
234. Steffi C, Wang D, Kong CH, Wang Z, Lim PN, Shi Z, et al. Estradiol-Loaded Poly( $\epsilon$ -caprolactone)/Silk Fibroin Electrospun Microfibers Decrease Osteoclast Activity and Retain Osteoblast Function. *ACS Appl Mater Interfaces.* 28 mars 2018;10(12):9988-98.
235. Niu B, Li B, Gu Y, Shen X, Liu Y, Chen L. In vitro evaluation of electrospun silk fibroin/nanohydroxyapatite/BMP-2 scaffolds for bone regeneration. *J Biomater Sci Polym Ed.* févr 2017;28(3):257-70.
236. Yang SY, Hwang TH, Che L, Oh JS, Ha Y, Ryu W. Membrane-reinforced three-dimensional electrospun silk fibroin scaffolds for bone tissue engineering. *Biomed Mater.* 24 juin 2015;10(3):035011.

237. Li C, Vepari C, Jin HJ, Kim HJ, Kaplan DL. Electrospun silk-BMP-2 scaffolds for bone tissue engineering. *Biomaterials*. juin 2006;27(16):3115-24.
238. Luo J, Zhang H, Zhu J, Cui X, Gao J, Wang X, et al. 3-D mineralized silk fibroin/polycaprolactone composite scaffold modified with polyglutamate conjugated with BMP-2 peptide for bone tissue engineering. *Colloids Surf B Biointerfaces*. 1 mars 2018;163:369-78.
239. Wu J, Zheng A, Liu Y, Jiao D, Zeng D, Wang X, et al. Enhanced bone regeneration of the silk fibroin electrospun scaffolds through the modification of the graphene oxide functionalized by BMP-2 peptide. *Int J Nanomedicine*. 2019;14:733-51.
240. Bhattacharjee P, Naskar D, Maiti TK, Bhattacharya D, Kundu SC. Non-mulberry silk fibroin grafted poly ( $\epsilon$ -caprolactone)/nano hydroxyapatite nanofibrous scaffold for dual growth factor delivery to promote bone regeneration. *J Colloid Interface Sci*. 15 juin 2016;472:16-33.
241. Du GY, He SW, Sun CX, Mi LD. Bone Morphogenic Protein-2 (rhBMP2)-Loaded Silk Fibroin Scaffolds to Enhance the Osteoinductivity in Bone Tissue Engineering. *Nanoscale Res Lett*. 25 oct 2017;12(1):573.
242. Shao W, He J, Sang F, Ding B, Chen L, Cui S, et al. Coaxial electrospun aligned tussah silk fibroin nanostructured fiber scaffolds embedded with hydroxyapatite-tussah silk fibroin nanoparticles for bone tissue engineering. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*. 1 janv 2016;58:342-51.
243. Wei K, Li Y, Kim KO, Nakagawa Y, Kim BS, Abe K, et al. Fabrication of nano-hydroxyapatite on electrospun silk fibroin nanofiber and their effects in osteoblastic behavior. *J Biomed Mater Res A*. 1 juin 2011;97(3):272-80.
244. Ding X, Wu C, Ha T, Wang L, Huang Y, Kang H, et al. Hydroxyapatite-containing silk fibroin nanofibrous scaffolds for tissue-engineered periosteum. *RSC Adv*. 15 févr 2016;6(23):19463-74.
245. Christakiran M J, Reardon PJT, Konwarh R, Knowles JC, Mandal BB. Mimicking Hierarchical Complexity of the Osteochondral Interface Using Electrospun Silk-Bioactive Glass Composites. *ACS Appl Mater Interfaces*. 8 mars 2017;9(9):8000-13.
246. Kim H, Che L, Ha Y, Ryu W. Mechanically-reinforced electrospun composite silk fibroin nanofibers containing hydroxyapatite nanoparticles. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*. 1 juill 2014;40:324-35.
247. Lai GJ, Shalumon KT, Chen JP. Response of human mesenchymal stem cells to intrafibrillar nanohydroxyapatite content and extrafibrillar nanohydroxyapatite in biomimetic chitosan/silk fibroin/nanohydroxyapatite nanofibrous membrane scaffolds. *Int J Nanomedicine*. 2015;10:567-84.
248. Wang J, Zhou W, Hu W, Zhou L, Wang S, Zhang S. Collagen/silk fibroin bi-template induced biomimetic bone-like substitutes. *J Biomed Mater Res A*. 2011;99A(3):327-34.
249. Paşcu EI, Stokes J, McGuinness GB. Electrospun composites of PHBV, silk fibroin and nano-hydroxyapatite for bone tissue engineering. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*. 1 déc 2013;33(8):4905-16.

250. Gao Y, Shao W, Qian W, He J, Zhou Y, Qi K, et al. Biomaterialized poly (l-lactic-co-glycolic acid)-tussah silk fibroin nanofiber fabric with hierarchical architecture as a scaffold for bone tissue engineering. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*. 1 mars 2018;84:195-207.
251. Kalani MM, Nourmohammadi J, Negahdari B. Osteogenic potential of Rosuvastatin immobilized on silk fibroin nanofibers using argon plasma treatment. *Biomed Mater Bristol Engl*. 7 déc 2018;14(2):025002.
252. Unalan I, Colpankan O, Albayrak AZ, Gorgun C, Urkmez AS. Biocompatibility of plasma-treated poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) nanofiber mats modified by silk fibroin for bone tissue regeneration. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*. 1 nov 2016;68:842-50.
253. Jo YY, Kim SG, Kwon KJ, Kweon H, Chae WS, Yang WG, et al. Silk Fibroin-Alginate-Hydroxyapatite Composite Particles in Bone Tissue Engineering Applications In Vivo. *Int J Mol Sci*. 18 avr 2017;18(4):858.
254. Zhong Q, Li W, Su X, Li G, Zhou Y, Kundu SC, et al. Degradation pattern of porous CaCO<sub>3</sub> and hydroxyapatite microspheres in vitro and in vivo for potential application in bone tissue engineering. *Colloids Surf B Biointerfaces*. 1 juill 2016;143:56-63.
255. Shi P, Abbah SA, Chuah YJ, Li J, Zhang Y, He P, et al. Yolk shell nanocomposite particles as bioactive bone fillers and growth factor carriers. *Nanoscale*. 5 oct 2017;9(38):14520-32.
256. Huang X, Liu X, Liu S, Zhang A, Lu Q, Kaplan DL, et al. Biomaterialization regulation by nano-sized features in silk fibroin proteins: synthesis of water-dispersible nano-hydroxyapatite. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*. nov 2014;102(8):1720-9.
257. Lee EH, Kim JY, Kweon HY, Jo YY, Min SK, Park YW, et al. A combination graft of low-molecular-weight silk fibroin with Choukroun platelet-rich fibrin for rabbit calvarial defect. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. mai 2010;109(5):e33-38.
258. Bessa PC, Balmayor ER, Hartinger J, Zanoni G, Dopler D, Meinel A, et al. Silk fibroin microparticles as carriers for delivery of human recombinant bone morphogenetic protein-2: in vitro and in vivo bioactivity. *Tissue Eng Part C Methods*. oct 2010;16(5):937-45.
259. Shi P, Abbah SA, Saran K, Zhang Y, Li J, Wong HK, et al. Silk fibroin-based complex particles with bioactive encrustation for bone morphogenetic protein 2 delivery. *Biomacromolecules*. 9 déc 2013;14(12):4465-74.
260. Ding ZZ, Fan ZH, Huang XW, Bai SM, Song DW, Lu Q, et al. Bioactive Natural Protein-Hydroxyapatite Nanocarriers for Optimizing Osteogenic Differentiation of Mesenchymal Stem Cells. *J Mater Chem B*. 28 mai 2016;4(20):3555-61.
261. Feng T, Niu J, Pi B, Lu Y, Wang J, Zhang W, et al. Osteogenesis enhancement of silk fibroin/  $\alpha$ -TCP cement by N-acetyl cysteine through Wnt/ $\beta$ -catenin signaling pathway in vivo and vitro. *J Mech Behav Biomed Mater*. janv 2020;101:103451.
262. Tham AY, Gandhimathi C, Praveena J, Venugopal JR, Ramakrishna S, Kumar SD. Minocycline Loaded Hybrid Composites Nanoparticles for Mesenchymal Stem Cells Differentiation into Osteogenesis. *Int J Mol Sci*. 28 juill 2016;17(8):1222.
263. Wang L, Pathak JL, Liang D, Zhong N, Guan H, Wan M, et al. Fabrication and characterization of strontium-hydroxyapatite/silk fibroin biocomposite nanospheres for bone-tissue engineering applications. *Int J Biol Macromol*. 1 janv 2020;142:366-75.

264. Shen X, Zhang Y, Gu Y, Xu Y, Liu Y, Li B, et al. Sequential and sustained release of SDF-1 and BMP-2 from silk fibroin-nanohydroxyapatite scaffold for the enhancement of bone regeneration. *Biomaterials*. 1 nov 2016;106:205-16.
265. Griffanti G, Jiang W, Nazhat SN. Bioinspired mineralization of a functionalized injectable dense collagen hydrogel through silk sericin incorporation. *Biomater Sci*. 26 févr 2019;7(3):1064-77.
266. Takeuchi A, Ohtsuki C, Miyazaki T, Tanaka H, Yamazaki M, Tanihara M. Deposition of bone-like apatite on silk fiber in a solution that mimics extracellular fluid. *J Biomed Mater Res A*. 1 mai 2003;65(2):283-9.
267. Yang M, Zhou G, Shuai Y, Wang J, Zhu L, Mao C. Ca<sup>2+</sup>-induced self-assembly of Bombyx mori silk sericin into a nanofibrous network-like protein matrix for directing controlled nucleation of hydroxylapatite nano-needles. *J Mater Chem B*. 28 mars 2015;3(12):2455-62.
268. Yang M, Shuai Y, Zhang C, Chen Y, Zhu L, Mao C, et al. Biomimetic nucleation of hydroxyapatite crystals mediated by Antheraea pernyi silk sericin promotes osteogenic differentiation of human bone marrow derived mesenchymal stem cells. *Biomacromolecules*. 14 avr 2014;15(4):1185-93.
269. Zhang F, Zhang Z, Zhu X, Kang ET, Neoh KG. Silk-functionalized titanium surfaces for enhancing osteoblast functions and reducing bacterial adhesion. *Biomaterials*. déc 2008;29(36):4751-9.
270. Wang F, Hou K, Chen W, Wang Y, Wang R, Tian C, et al. Transgenic PDGF-BB/sericin hydrogel supports for cell proliferation and osteogenic differentiation. *Biomater Sci*. 21 janv 2020;8(2):657-72.
271. Sahu N, Baligar P, Midha S, Kundu B, Bhattacharjee M, Mukherjee S, et al. Nonmulberry Silk Fibroin Scaffold Shows Superior Osteoconductivity Than Mulberry Silk Fibroin in Calvarial Bone Regeneration. *Adv Healthc Mater*. août 2015;4(11):1709-21.
272. Bhattacharjee P, Naskar D, Maiti TK, Bhattacharya D, Das P, Nandi SK, et al. Potential of non-mulberry silk protein fibroin blended and grafted poly( $\epsilon$ -caprolactone) nanofibrous matrices for in vivo bone regeneration. *Colloids Surf B Biointerfaces*. 1 juill 2016;143:431-9.
273. Acharya C, Kumary TV, Ghosh SK, Kundu SC. Characterization of fibroin and PEG-blended fibroin matrices for in vitro adhesion and proliferation of osteoblasts. *J Biomater Sci Polym Ed*. 2009;20(5-6):543-65.
274. Naskar D, Nayak S, Dey T, Kundu SC. Non-mulberry silk fibroin influence osteogenesis and osteoblast-macrophage cross talk on titanium based surface. *Sci Rep*. 22 avr 2014;4:4745.
275. Gupta P, Adhikary M, M JC, Kumar M, Bhardwaj N, Mandal BB. Biomimetic, Osteoconductive Non-mulberry Silk Fiber Reinforced Tricomposite Scaffolds for Bone Tissue Engineering. *ACS Appl Mater Interfaces*. 16 nov 2016;8(45):30797-810.
276. Jiang P, Ran J, Yan P, Zheng L, Shen X, Tong H. Rational design of a high-strength bone scaffold platform based on in situ hybridization of bacterial cellulose/nano-hydroxyapatite framework and silk fibroin reinforcing phase. *J Biomater Sci Polym Ed*. 22 janv 2018;29(2):107-24.

277. Luan XY, Wang Y, Duan X, Duan QY, Li MZ, Lu SZ, et al. Attachment and growth of human bone marrow derived mesenchymal stem cells on regenerated antheraea pernyi silk fibroin films. *Biomed Mater Bristol Engl*. déc 2006;1(4):181-7.
278. Panda NN, Biswas A, Pramanik K, Jonnalagadda S. Enhanced osteogenic potential of human mesenchymal stem cells on electrospun nanofibrous scaffolds prepared from eri-tasar silk fibroin. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*. juill 2015;103(5):971-82.
279. Mandal BB, Kundu SC. Non-mulberry silk gland fibroin protein 3-D scaffold for enhanced differentiation of human mesenchymal stem cells into osteocytes. *Acta Biomater*. sept 2009;5(7):2579-90.
280. Panda N, Bissoyi A, Pramanik K, Biswas A. Directing osteogenesis of stem cells with hydroxyapatite precipitated electrospun eri-tasar silk fibroin nanofibrous scaffold. *J Biomater Sci Polym Ed*. 2014;25(13):1440-57.
281. Andiappan M, Sundaramoorthy S, Panda N, Meiyazhaban G, Winfred SB, Venkataraman G, et al. Electrospun eri silk fibroin scaffold coated with hydroxyapatite for bone tissue engineering applications. *Prog Biomater*. 8 mars 2013;2:6.
282. Morgan AW, Roskov KE, Lin-Gibson S, Kaplan DL, Becker ML, Simon CG. Characterization and optimization of RGD-containing silk blends to support osteoblastic differentiation. *Biomaterials*. juin 2008;29(16):2556-63.
283. Wang C, Wang S, Yang Y, Jiang Z, Deng Y, Song S, et al. Bioinspired, biocompatible and peptide-decorated silk fibroin coatings for enhanced osteogenesis of bioinert implant. *J Biomater Sci Polym Ed*. sept 2018;29(13):1595-611.
284. Mandal BB, Das S, Choudhury K, Kundu SC. Implication of silk film RGD availability and surface roughness on cytoskeletal organization and proliferation of primary rat bone marrow cells. *Tissue Eng Part A*. juill 2010;16(7):2391-403.
285. Meinel L, Karageorgiou V, Hofmann S, Fajardo R, Snyder B, Li C, et al. Engineering bone-like tissue in vitro using human bone marrow stem cells and silk scaffolds. *J Biomed Mater Res A*. 1 oct 2004;71(1):25-34.
286. Bini E, Foo CWP, Huang J, Karageorgiou V, Kitchel B, Kaplan DL. RGD-functionalized bioengineered spider dragline silk biomaterial. *Biomacromolecules*. nov 2006;7(11):3139-45.
287. Cao B, Mao C. Oriented nucleation of hydroxylapatite crystals on spider dragline silks. *Langmuir ACS J Surf Colloids*. 9 oct 2007;23(21):10701-5.
288. Yan LP, Silva-Correia J, Oliveira MB, Vilela C, Pereira H, Sousa RA, et al. Bilayered silk/silk-nanoCaP scaffolds for osteochondral tissue engineering: In vitro and in vivo assessment of biological performance. *Acta Biomater*. janv 2015;12:227-41.
289. Hirakata E, Tomita N, Tamada Y, Suguro T, Nakajima M, Kambe Y, et al. Early tissue formation on whole-area osteochondral defect of rabbit patella by covering with fibroin sponge. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*. oct 2016;104(7):1474-82.
290. Augst A, Marolt D, Freed LE, Vepari C, Meinel L, Farley M, et al. Effects of chondrogenic and osteogenic regulatory factors on composite constructs grown using human mesenchymal stem cells, silk scaffolds and bioreactors. *J R Soc Interface*. 6 août 2008;5(25):929-39.

291. Chen K, Ng KS, Ravi S, Goh JCH, Toh SL. In vitro generation of whole osteochondral constructs using rabbit bone marrow stromal cells, employing a two-chambered co-culture well design. *J Tissue Eng Regen Med.* avr 2016;10(4):294-304.
292. Shang L, Ma B, Wang F, Li J, Shen S, Li X, et al. Nanotextured silk fibroin/hydroxyapatite biomimetic bilayer tough structure regulated osteogenic/chondrogenic differentiation of mesenchymal stem cells for osteochondral repair. *Cell Prolif.* nov 2020;53(11):e12917.
293. Saha S, Kundu B, Kirkham J, Wood D, Kundu SC, Yang XB. Osteochondral tissue engineering in vivo: a comparative study using layered silk fibroin scaffolds from mulberry and nonmulberry silkworms. *PLoS One.* 2013;8(11):e80004.
294. Wang X, Song X, Li T, Chen J, Cheng G, Yang L, et al. Aptamer-Functionalized Bioscaffold Enhances Cartilage Repair by Improving Stem Cell Recruitment in Osteochondral Defects of Rabbit Knees. *Am J Sports Med.* août 2019;47(10):2316-26.
295. Singh YP, Moses JC, Bhunia BK, Nandi SK, Mandal BB. Hierarchically structured seamless silk scaffolds for osteochondral interface tissue engineering. *J Mater Chem B.* 28 sept 2018;6(36):5671-88.
296. Zhang W, Ling C, Li X, Sheng R, Liu H, Zhang A, et al. Cell-Free Biomimetic Scaffold with Cartilage Extracellular Matrix-Like Architectures for In Situ Inductive Regeneration of Osteochondral Defects. *ACS Biomater Sci Eng.* 14 déc 2020;6(12):6917-25.
297. Feng X, Xu P, Shen T, Zhang Y, Ye J, Gao C. Influence of pore architectures of silk fibroin/collagen composite scaffolds on the regeneration of osteochondral defects in vivo. *J Mater Chem B.* 22 janv 2020;8(3):391-405.
298. Li JJ, Kim K, Roohani-Esfahani SI, Guo J, Kaplan DL, Zreiqat H. A biphasic scaffold based on silk and bioactive ceramic with stratified properties for osteochondral tissue regeneration. *J Mater Chem B.* 14 juill 2015;3(26):5361-76.
299. Ding X, Zhu M, Xu B, Zhang J, Zhao Y, Ji S, et al. Integrated trilayered silk fibroin scaffold for osteochondral differentiation of adipose-derived stem cells. *ACS Appl Mater Interfaces.* 8 oct 2014;6(19):16696-705.
300. Marolt D, Augst A, Freed LE, Vepari C, Fajardo R, Patel N, et al. Bone and cartilage tissue constructs grown using human bone marrow stromal cells, silk scaffolds and rotating bioreactors. *Biomaterials.* déc 2006;27(36):6138-49.
301. Meinel L, Hofmann S, Karageorgiou V, Zichner L, Langer R, Kaplan D, et al. Engineering cartilage-like tissue using human mesenchymal stem cells and silk protein scaffolds. *Biotechnol Bioeng.* 5 nov 2004;88(3):379-91.
302. Lee SK, Wolfe SW. Peripheral Nerve Injury and Repair. *JAAOS - J Am Acad Orthop Surg.* août 2000;8(4):243.
303. Sunderland S. A classification of peripheral nerve injuries producing loss of function. *Brain J Neurol.* déc 1951;74(4):491-516.
304. Sonabend AM, Smith P, Huang JH, Winfree C. Peripheral Nerve Injury. In: *Schmidek and Sweet Operative Neurosurgical Techniques [Internet]. Elsevier, Inc.; 2012 [cité 8 nov 2023].* p. 225-38. Disponible sur: <http://www.scopus.com/inward/record.url?scp=84902028394&partnerID=8YFLogxK>



305. Liu Y, Zhang Z, Qin Y, Wu H, Lv Q, Chen X, et al. A new method for Schwann-like cell differentiation of adipose derived stem cells. *Neurosci Lett.* 13 sept 2013;551:79-83.
306. Cai S, Tsui YP, Tam KW, Shea GKH, Chang RSK, Ao Q, et al. Directed Differentiation of Human Bone Marrow Stromal Cells to Fate-Committed Schwann Cells. *Stem Cell Rep.* 10 oct 2017;9(4):1097-108.
307. Haertinger M, Weiss T, Mann A, Tabi A, Brandel V, Radtke C. Adipose Stem Cell-Derived Extracellular Vesicles Induce Proliferation of Schwann Cells via Internalization. *Cells.* 9 janv 2020;9(1):163.
308. Das S, Sharma M, Saharia D, Sarma KK, Sarma MG, Borthakur BB, et al. In vivo studies of silk based gold nano-composite conduits for functional peripheral nerve regeneration. *Biomaterials.* sept 2015;62:66-75.
309. Das S, Sharma M, Saharia D, Sarma KK, Muir EM, Bora U. Electrospun silk-polyaniline conduits for functional nerve regeneration in rat sciatic nerve injury model. *Biomed Mater Bristol Engl.* 17 août 2017;12(4):045025.
310. Sun B, Zhou Z, Wu T, Chen W, Li D, Zheng H, et al. Development of Nanofiber Sponges-Containing Nerve Guidance Conduit for Peripheral Nerve Regeneration in Vivo. *ACS Appl Mater Interfaces.* 16 août 2017;9(32):26684-96.
311. Zhou C, Liu B, Huang Y, Zeng X, You H, Li J, et al. The effect of four types of artificial nerve graft structures on the repair of 10-mm rat sciatic nerve gap. *J Biomed Mater Res A.* 2017;105(11):3077-85.
312. Rao F, Yuan Z, Li M, Yu F, Fang X, Jiang B, et al. Expanded 3D nanofibre sponge scaffolds by gas-foaming technique enhance peripheral nerve regeneration. *Artif Cells Nanomedicine Biotechnol.* déc 2019;47(1):491-500.
313. Alessandrino A, Fregnan F, Biagiotti M, Muratori L, Bassani GA, Ronchi G, et al. SilkBridge™: a novel biomimetic and biocompatible silk-based nerve conduit. *Biomater Sci.* 1 oct 2019;7(10):4112-30.
314. Wang J, Cheng Y, Wang H, Wang Y, Zhang K, Fan C, et al. Biomimetic and hierarchical nerve conduits from multifunctional nanofibers for guided peripheral nerve regeneration. *Acta Biomater.* nov 2020;117:180-91.
315. Dinis TM, Vidal G, Jose RR, Vigneron P, Bresson D, Fitzpatrick V, et al. Complementary effects of two growth factors in multifunctionalized silk nanofibers for nerve reconstruction. *PLoS One.* 2014;9(10):e109770.
316. Magaz A, Faroni A, Gough JE, Reid AJ, Li X, Blaker JJ. Bioactive Silk-Based Nerve Guidance Conduits for Augmenting Peripheral Nerve Repair. *Adv Healthc Mater.* déc 2018;7(23):e1800308.
317. Baklaushev VP, Bogush VG, Kalsin VA, Sovetnikov NN, SamoiloVA EM, Revkova VA, et al. Tissue Engineered Neural Constructs Composed of Neural Precursor Cells, Recombinant Spidroin and PRP for Neural Tissue Regeneration. *Sci Rep.* déc 2019;9(1):3161.
318. You R, Zhang Q, Li X, Yan S, Luo Z, Qu J, et al. Multichannel Bioactive Silk Nanofiber Conduits Direct and Enhance Axonal Regeneration after Spinal Cord Injury. *ACS Biomater Sci Eng.* 10 août 2020;6(8):4677-86.

319. Madduri S, Papaloïzos M, Gander B. Trophically and topographically functionalized silk fibroin nerve conduits for guided peripheral nerve regeneration. *Biomaterials*. mars 2010;31(8):2323-34.
320. Huang Y, Fitzpatrick V, Zheng N, Cheng R, Huang H, Ghezzi C, et al. Self-Folding 3D Silk Biomaterial Rolls to Facilitate Axon and Bone Regeneration. *Adv Healthc Mater*. 2020;9(18):2000530.
321. Dinis TM, Elia R, Vidal G, Dermigny Q, Denoëud C, Kaplan DL, et al. 3D multi-channel bi-functionalized silk electrospun conduits for peripheral nerve regeneration. *J Mech Behav Biomed Mater*. janv 2015;41:43-55.
322. Xue C, Ren H, Zhu H, Gu X, Guo Q, Zhou Y, et al. Bone marrow mesenchymal stem cell-derived acellular matrix-coated chitosan/silk scaffolds for neural tissue regeneration. *J Mater Chem B*. 14 févr 2017;5(6):1246-57.
323. Catrina S, Gander B, Madduri S. Nerve conduit scaffolds for discrete delivery of two neurotrophic factors. *Eur J Pharm Biopharm Off J Arbeitsgemeinschaft Pharm Verfahrenstechnik EV*. sept 2013;85(1):139-42.
324. Nayak S, Dey T, Naskar D, Kundu SC. The promotion of osseointegration of titanium surfaces by coating with silk protein sericin. *Biomaterials*. avr 2013;34(12):2855-64.
325. Ghaznavi AM, Kokai LE, Lovett ML, Kaplan DL, Marra KG. Silk fibroin conduits: a cellular and functional assessment of peripheral nerve repair. *Ann Plast Surg*. mars 2011;66(3):273-9.
326. Wei GJ, Yao M, Wang YS, Zhou CW, Wan DY, Lei PZ, et al. Promotion of peripheral nerve regeneration of a peptide compound hydrogel scaffold. *Int J Nanomedicine*. 2013;8:3217-25.
327. Garcia-Fuentes M, Meinel AJ, Hilbe M, Meinel L, Merkle HP. Silk fibroin/hyaluronan scaffolds for human mesenchymal stem cell culture in tissue engineering. *Biomaterials*. 1 oct 2009;30(28):5068-76.
328. Yu LM, Liu T, Ma YL, Zhang F, Huang YC, Fan ZH. Fabrication of Silk-Hyaluronan Composite as a Potential Scaffold for Tissue Repair. *Front Bioeng Biotechnol*. 2020;8:578988.
329. Gisbert Roca F, Lozano Picazo P, Pérez-Rigueiro J, Guinea Tortuero GV, Monleón Pradas M, Martínez-Ramos C. Conduits based on the combination of hyaluronic acid and silk fibroin: Characterization, in vitro studies and in vivo biocompatibility. *Int J Biol Macromol*. 1 avr 2020;148:378-90.
330. Jiao G, Pan Y, Wang C, Li Z, Li Z, Guo R. A bridging SF/Alg composite scaffold loaded NGF for spinal cord injury repair. *Mater Sci Eng C*. 1 juill 2017;76:81-7.
331. Patil S, Singh N. Silk fibroin-alginate based beads for human mesenchymal stem cell differentiation in 3D. *Biomater Sci*. 1 nov 2019;7(11):4687-97.
332. Shi H, Li X, Yang J, Zhao Y, Xue C, Wang Y, et al. Bone marrow-derived neural crest precursors improve nerve defect repair partially through secreted trophic factors. *Stem Cell Res Ther*. 18 déc 2019;10(1):397.

333. Wu H, Fang Q, Liu J, Yu X, Xu Y, Wan Y, et al. Multi-tubule conduit-filler constructs loaded with gradient-distributed growth factors for neural tissue engineering applications. *J Mech Behav Biomed Mater.* janv 2018;77:671-82.
334. Aigner TB, Haynl C, Salehi S, O'Connor A, Scheibel T. Nerve guidance conduit design based on self-rolling tubes. *Mater Today Bio.* janv 2020;5:100042.
335. Wu H, Zhang J, Luo Y, Wan Y, Sun S. Mechanical properties and permeability of porous chitosan-poly(p-dioxanone)/silk fibroin conduits used for peripheral nerve repair. *J Mech Behav Biomed Mater.* oct 2015;50:192-205.
336. Yang Y, Yuan X, Ding F, Yao D, Gu Y, Liu J, et al. Repair of rat sciatic nerve gap by a silk fibroin-based scaffold added with bone marrow mesenchymal stem cells. *Tissue Eng Part A.* sept 2011;17(17-18):2231-44.
337. Zhu C, Huang J, Xue C, Wang Y, Wang S, Bao S, et al. Skin derived precursor Schwann cell-generated acellular matrix modified chitosan/silk scaffolds for bridging rat sciatic nerve gap. *Neurosci Res.* oct 2018;135:21-31.
338. Gu Y, Li Z, Huang J, Wang H, Gu X, Gu J. Application of marrow mesenchymal stem cell-derived extracellular matrix in peripheral nerve tissue engineering. *J Tissue Eng Regen Med.* août 2017;11(8):2250-60.
339. Yao M, Zhou Y, Xue C, Ren H, Wang S, Zhu H, et al. Repair of Rat Sciatic Nerve Defects by Using Allogeneic Bone Marrow Mononuclear Cells Combined With Chitosan/Silk Fibroin Scaffold. *Cell Transplant.* 2016;25(5):983-93.
340. Vyas C, Zhang J, Øvrebø Ø, Huang B, Roberts I, Setty M, et al. 3D printing of silk microparticle reinforced polycaprolactone scaffolds for tissue engineering applications. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl.* janv 2021;118:111433.
341. Saremi J, Khanmohammadi M, Azami M, Ai J, Yousefi-Ahmadipour A, Ebrahimi-Barough S. Tissue-engineered nerve graft using silk-fibroin/polycaprolactone fibrous mats decorated with bioactive cerium oxide nanoparticles. *J Biomed Mater Res A.* sept 2021;109(9):1588-99.
342. Wang G, Hu X, Lin W, Dong C, Wu H. Electrospun PLGA-silk fibroin-collagen nanofibrous scaffolds for nerve tissue engineering. *In Vitro Cell Dev Biol Anim.* mars 2011;47(3):234-40.
343. Li S, Wu H, Hu XD, Tu CQ, Pei FX, Wang GL, et al. Preparation of electrospun PLGA-silk fibroin nanofibers-based nerve conduits and evaluation in vivo. *Artif Cells Blood Substit Immobil Biotechnol.* févr 2012;40(1-2):171-8.
344. Lin YC, Ramadan M, Hronik-Tupaj M, Kaplan DL, Philips BJ, Sivak W, et al. Spatially controlled delivery of neurotrophic factors in silk fibroin-based nerve conduits for peripheral nerve repair. *Ann Plast Surg.* août 2011;67(2):147-55.
345. Carvalho CR, Chang W, Silva-Correia J, Reis RL, Oliveira JM, Kohn J. Engineering Silk Fibroin-Based Nerve Conduit with Neurotrophic Factors for Proximal Protection after Peripheral Nerve Injury. *Adv Healthc Mater.* janv 2021;10(2):e2000753.
346. Dinis T, Vidal G, Marin F, Kaplan D, Eglès C. Silk nerve: bioactive implant for peripheral nerve regeneration. *Comput Methods Biomech Biomed Engin.* 2013;16 Suppl 1:253-4.

347. Zhang J, Qiu K, Sun B, Fang J, Zhang K, Ei-Hamshary H, et al. The aligned core-sheath nanofibers with electrical conductivity for neural tissue engineering. *J Mater Chem B*. 7 déc 2014;2(45):7945-54.
348. Sun B, Wu T, He L, Zhang J, Yuan Y, Huang X, et al. Development of Dual Neurotrophins-Encapsulated Electrospun Nanofibrous Scaffolds for Peripheral Nerve Regeneration. *J Biomed Nanotechnol*. nov 2016;12(11):1987-2000.
349. Kuihua Z, Chunyang W, Cunyi F, Xiumei M. Aligned SF/P(LLA-CL)-blended nanofibers encapsulating nerve growth factor for peripheral nerve regeneration. *J Biomed Mater Res A*. août 2014;102(8):2680-91.
350. Han X, Liu H, Kuang X, Wang Z, Wang X. Silk Fibroin Improves the Release of Nerve Growth Factor from Hydroxyapatite Particles Maintaining its Bioactivity. *Curr Drug Deliv*. 2018;15(6):879-86.
351. Dinis TM, Elia R, Vidal G, Auffret A, Kaplan DL, Egles C. Method to form a fiber/growth factor dual-gradient along electrospun silk for nerve regeneration. *ACS Appl Mater Interfaces*. 8 oct 2014;6(19):16817-26.
352. Tang S, Zhu J, Xu Y, Xiang AP, Jiang MH, Quan D. The effects of gradients of nerve growth factor immobilized PCLA scaffolds on neurite outgrowth in vitro and peripheral nerve regeneration in rats. *Biomaterials*. sept 2013;34(29):7086-96.
353. Wittmer CR, Claudepierre T, Reber M, Wiedemann P, Garlick JA, Kaplan D, et al. Multifunctionalized electrospun silk fibers promote axon regeneration in central nervous system. *Adv Funct Mater*. 22 nov 2011;21(22):4202.
354. Li G, Che MT, Zhang K, Qin LN, Zhang YT, Chen RQ, et al. Graft of the NT-3 persistent delivery gelatin sponge scaffold promotes axon regeneration, attenuates inflammation, and induces cell migration in rat and canine with spinal cord injury. *Biomaterials*. 1 mars 2016;83:233-48.
355. Zhang L, Yang W, Tao K, Song Y, Xie H, Wang J, et al. Sustained Local Release of NGF from a Chitosan-Sericin Composite Scaffold for Treating Chronic Nerve Compression. *ACS Appl Mater Interfaces*. 1 févr 2017;9(4):3432-44.
356. Chen CS, Soni S, Le C, Biasca M, Farr E, Chen EYT, et al. Human stem cell neuronal differentiation on silk-carbon nanotube composite. *Nanoscale Res Lett*. 14 févr 2012;7(1):126.
357. Shrestha S, Shrestha BK, Lee J, Joong OK, Kim BS, Park CH, et al. A conducting neural interface of polyurethane/silk-functionalized multiwall carbon nanotubes with enhanced mechanical strength for neuroregeneration. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*. sept 2019;102:511-23.
358. Pillai MM, Kumar GS, Houshyar S, Padhye R, Bhattacharyya A. Effect of nanocomposite coating and biomolecule functionalization on silk fibroin based conducting 3D braided scaffolds for peripheral nerve tissue engineering. *Nanomedicine Nanotechnol Biol Med*. févr 2020;24:102131.
359. Mottaghitlab F, Farokhi M, Zaminy A, Kokabi M, Soleimani M, Mirahmadi F, et al. A biosynthetic nerve guide conduit based on silk/SWNT/fibronectin nanocomposite for peripheral nerve regeneration. *PloS One*. 2013;8(9):e74417.

360. Francis AP, Devasena T. Toxicity of carbon nanotubes: A review. *Toxicol Ind Health*. mars 2018;34(3):200-10.
361. Yadav S, Singh Raman AP, Meena H, Goswami AG, Bhawna null, Kumar V, et al. An Update on Graphene Oxide: Applications and Toxicity. *ACS Omega*. 11 oct 2022;7(40):35387-445.
362. Lin CC, Chang JJ, Yung MC, Huang WC, Chen SY. Spontaneously Micropatterned Silk/Gelatin Scaffolds with Topographical, Biological, and Electrical Stimuli for Neuronal Regulation. *ACS Biomater Sci Eng*. 10 févr 2020;6(2):1144-53.
363. Zhao Y, Gong J, Niu C, Wei Z, Shi J, Li G, et al. A new electrospun graphene-silk fibroin composite scaffolds for guiding Schwann cells. *J Biomater Sci Polym Ed*. déc 2017;28(18):2171-85.
364. Niu Y, Chen X, Yao D, Peng G, Liu H, Fan Y. Enhancing neural differentiation of induced pluripotent stem cells by conductive graphene/silk fibroin films. *J Biomed Mater Res A*. nov 2018;106(11):2973-83.
365. Magaz A, Li X, Gough JE, Blaker JJ. Graphene oxide and electroactive reduced graphene oxide-based composite fibrous scaffolds for engineering excitable nerve tissue. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*. févr 2021;119:111632.
366. Jafari A, Emami A, Ashtari B. PC12 cells proliferation and morphological aspects: Inquiry into raffinose-grafted graphene oxide in silk fibroin-based scaffold. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*. févr 2021;121:111810.
367. Afjeh-Dana E, Naserzadeh P, Nazari H, Mottaghitalab F, Shabani R, Aminii N, et al. Gold nanorods reinforced silk fibroin nanocomposite for peripheral nerve tissue engineering applications. *Int J Biol Macromol*. 15 mai 2019;129:1034-9.
368. Zhang H, Wang K, Xing Y, Yu Q. Lysine-doped polypyrrole/spider silk protein/poly(l-lactic) acid containing nerve growth factor composite fibers for neural application. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*. 1 nov 2015;56:564-73.
369. Zhao Y, Liang Y, Ding S, Zhang K, Mao HQ, Yang Y. Application of conductive PPy/SF composite scaffold and electrical stimulation for neural tissue engineering. *Biomaterials*. oct 2020;255:120164.
370. Sun B, Wu T, Wang J, Li D, Wang J, Gao Q, et al. Polypyrrole-coated poly(l-lactic acid-co-ε-caprolactone)/silk fibroin nanofibrous membranes promoting neural cell proliferation and differentiation with electrical stimulation. *J Mater Chem B*. 7 nov 2016;4(41):6670-9.
371. Zhao YH, Niu CM, Shi JQ, Wang YY, Yang YM, Wang HB. Novel conductive polypyrrole/silk fibroin scaffold for neural tissue repair. *Neural Regen Res*. août 2018;13(8):1455-64.
372. Sun B, Zhou Z, Li D, Wu T, Zheng H, Liu J, et al. Polypyrrole-coated poly(l-lactic acid-co-ε-caprolactone)/silk fibroin nanofibrous nerve guidance conduit induced nerve regeneration in rat. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*. 1 janv 2019;94:190-9.
373. Virtuoso A, Herrera-Rincon C, Papa M, Panetsos F. Dependence of Neuroprosthetic Stimulation on the Sensory Modality of the Trigeminal Neurons Following Nerve Injury. Implications in the Design of Future Sensory Neuroprostheses for Correct Perception and Modulation of Neuropathic Pain. *Front Neurosci*. 2019;13:389.

374. Varone A, Knight D, Lesage S, Vollrath F, Rajnicek AM, Huang W. The potential of *Antheraea pernyi* silk for spinal cord repair. *Sci Rep.* 23 oct 2017;7(1):13790.
375. Xie H, Yang W, Chen J, Zhang J, Lu X, Zhao X, et al. A silk sericin/silicone nerve guidance conduit promotes regeneration of a transected sciatic nerve. *Adv Healthc Mater.* 28 oct 2015;4(15):2195-205.
376. Rao J, Cheng Y, Liu Y, Ye Z, Zhan B, Quan D, et al. A multi-walled silk fibroin/silk sericin nerve conduit coated with poly(lactic-co-glycolic acid) sheath for peripheral nerve regeneration. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl.* 1 avr 2017;73:319-32.
377. Li X, Yang W, Xie H, Wang J, Zhang L, Wang Z, et al. CNT/Sericin Conductive Nerve Guidance Conduit Promotes Functional Recovery of Transected Peripheral Nerve Injury in a Rat Model. *ACS Appl Mater Interfaces.* 19 août 2020;12(33):36860-72.
378. Debastiani JC, Santana AJ, Ribeiro L de FC, Brancalhão RMC, Bertolini GRF. Sericin silk protein in peripheral nervous repair associated with the physical exercise of swimming in Wistar rats. *Neurol Res.* avr 2019;41(4):326-34.
379. Allmeling C, Jokuszies A, Reimers K, Kall S, Vogt PM. Use of spider silk fibres as an innovative material in a biocompatible artificial nerve conduit. *J Cell Mol Med.* 2006;10(3):770-7.
380. Roloff F, Strauß S, Vogt PM, Bicker G, Radtke C. Spider silk as guiding biomaterial for human model neurons. *BioMed Res Int.* 2014;2014:906819.
381. Resch A, Wolf S, Mann A, Weiss T, Stetco AL, Radtke C. Co-Culturing Human Adipose Derived Stem Cells and Schwann Cells on Spider Silk—A New Approach as Prerequisite for Enhanced Nerve Regeneration. *Int J Mol Sci.* 24 déc 2018;20(1):71.
382. Millesi F, Weiss T, Mann A, Haertinger M, Semmler L, Supper P, et al. Defining the regenerative effects of native spider silk fibers on primary Schwann cells, sensory neurons, and nerve-associated fibroblasts. *FASEB J Off Publ Fed Am Soc Exp Biol.* févr 2021;35(2):e21196.
383. Kornfeld T, Nessler J, Helmer C, Hannemann R, Waldmann KH, Peck CT, et al. Spider silk nerve graft promotes axonal regeneration on long distance nerve defect in a sheep model. *Biomaterials.* avr 2021;271:120692.
384. Naghilou A, Pöttschacher L, Millesi F, Mann A, Supper P, Semmler L, et al. Correlating the secondary protein structure of natural spider silk with its guiding properties for Schwann cells. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl.* nov 2020;116:111219.
385. Cheng Q, Huang C, Tomsia AP. Freeze Casting for Assembling Bioinspired Structural Materials. *Adv Mater.* déc 2017;29(45):1703155.
386. Li C, Hotz B, Ling S, Guo J, Haas DS, Marelli B, et al. Regenerated silk materials for functionalized silk orthopedic devices by mimicking natural processing. *Biomaterials.* 1 déc 2016;110:24-33.
387. Guo C, Li C, Vu HV, Hanna P, Lechtig A, Qiu Y, et al. Thermoplastic moulding of regenerated silk. *Nat Mater.* janv 2020;19(1):102-8.
388. Perrone GS, Leisk GG, Lo TJ, Moreau JE, Haas DS, Papenburg BJ, et al. The use of silk-based devices for fracture fixation. *Nat Commun.* 4 mars 2014;5:3385.

389. Aspenberg P. Bone: Silk, metal and bone: why take implants out? *Nat Rev Rheumatol.* juill 2014;10(7):386-7.
390. Kim DK, Lee JM, Jeong JY, Park HJ, Lee OJ, Chao J, et al. New fabrication method of silk fibroin plate and screw based on a centrifugal casting technique. *J Tissue Eng Regen Med.* nov 2018;12(11):2221-9.
391. Huang MF, Alfi D, Alfi J, Huang AT. The Use of Patient-Specific Implants in Oral and Maxillofacial Surgery. *Oral Maxillofac Surg Clin N Am.* nov 2019;31(4):593-600.
392. Vunjak-Novakovic G, Meinel L, Altman G, Kaplan D. Bioreactor cultivation of osteochondral grafts. *Orthod Craniofac Res.* août 2005;8(3):209-18.
393. Thaik N, Sangkert S, Meesane J, Kooptarnond K, Khangkhamano M. Bioactive surface-modified Ti with titania nanotube arrays to design endoprosthesis for maxillofacial surgery: structural formation, morphology, physical properties and osseointegration. *Biomed Mater.* 28 avr 2020;15(3):035018.
394. Reddy N, Xu H, Yang Y. Unique natural-protein hollow-nanofiber membranes produced by weaver ants for medical applications. *Biotechnol Bioeng.* juill 2011;108(7):1726-33.
395. Li Y, Li J, Sun J, He H, Li B, Ma C, et al. Bioinspired and Mechanically Strong Fibers Based on Engineered Non-Spider Chimeric Proteins. *Angew Chem Int Ed.* 18 mai 2020;59(21):8148-52.
396. Zhang G. Biomimicry in biomedical research. *Organogenesis.* oct 2012;8(4):101-2.
397. Rabert C, Weinacker D, Pessoa Jr A, Farías JG. Recombinants proteins for industrial uses: utilization of *Pichia pastoris* expression system. *Braz J Microbiol.* 2013;44(2):351-6.
398. Ncube A, Mtetwa S, Bukhari M, Fiorentino G, Passaro R. Circular Economy and Green Chemistry: The Need for Radical Innovative Approaches in the Design for New Products. *Energies.* 9 févr 2023;16(4):1752.
399. Ntsondé J, Aggeri F. L'économie circulaire comme utopie rationnelle. *Rev Francaise Gest.* 1 juill 2022;304(3):43-63.
400. Wikjman A, Skånberg K, Berglund M. The Circular Economy and Benefits for Society [Internet]. The Club of Rome; 2017 [cité 7 juill 2023] p. 1-62. Disponible sur: <https://www.clubofrome.org/wp-content/uploads/2020/03/The-Circular-Economy-and-Benefits-for-Society.pdf>
401. Admin. Kraig Biocraft Laboratories Announces Contract with U.S. Army to Deliver Dragon Silk - Kraig Biocraft Laboratories [Internet]. 2016 [cité 9 mai 2023]. Disponible sur: <https://www.kraiglabs.com/kraig-biocraft-laboratories-announces-contract-with-u-s-army-to-deliver-ballistic-shoot-packs/>
402. Li C, Wu J, Shi H, Xia Z, Sahoo JK, Yeo J, et al. Fiber-Based Biopolymer Processing as a Route Towards Sustainability. *Adv Mater Deerfield Beach Fla.* janv 2022;34(1):e2105196.

## Annexe 1 : Abréviations

Agg	Spidroïne de la glande Agg
APSC(h)	Cellules Souches Pluripotentes Adultes (humaines)
ASC	Cellules Souches Adipeuses
$\alpha$ -SMA	Actine de Muscles Lisses – $\alpha$
BCP	Phosphate Bi-Calcique
BDNF	Facteur Neurotrophique Dérivé du Cerveau
BMP-2	Protéine de Morphogénie Osseuse 2
BMSC	Cellules Souches Mésoenchymateuses Osseuses
BV/TV	Part de pixels osseux sur un CBCT
CMAP	Potentiel d'Action Musculaire Composé
CNTF	Facteur Neurotrophique Ciliaire
DFPC	Cellules Souches Parodontales
DMP-1	Protéine Matricielle de la Dentine 1
DSCP	Cellules Souches Pulpaire
DSP	Dentin SialoProtein
Flag	Spidroïne de la glande Flageliforme
GDNF	Facteur Neurotrophe dérivé de la Glie
GSC	Cellules Souches Gingivales
HAP	Hydroxyapatite
IL-1 $\beta$	Interleukine 1 $\beta$
IPSc	Cellules Souches Pluripotentes Induites
MAG	Glycoprotéine Associée à la Myéline
MaSp	Spidroïne de glande ampulacée MAjeure
MBP	Protéine Basique de la Myéline
MC3T3-E1	Cellules Progénitrices Ostéoblastiques Murines
Mfp	Mussel Foot Protein
MiSp	Spidroïne de la glande ampulacée Mineure
NGF	Facteur de Croissance Nerveux
NT-	Neurotrophine
OCN	Ostéocalcine
Osx	Osterix (facteur transcription osseux SP7)

P0	Protéine zéro de la myéline (aussi MPZ)
PBS	Solution de Tempon Phosphate Salin
PC12	Cellules dérivées d'un phéochromocytome murin
PCL	Poly-Capro-Lactone
PDLSC	Cellules Souches Desmodontales
PEG	Poly Ethylène Glycol
PLA	Acide Poly-Lactique
PLGA	Acide Poly-Lactique Glycolique
PMP	Protéine Périphérique de la Myéline
PRF	Plasma Riche en Fibrine
RGD	Séquence d'acide aminée « Arginine-Glycine-Asparagine »
RSF	Fibroïne de Soie Régénérée
Runx2	Facteur de Transcription relié à Runt 2
SATB2	Protéine de Liaison aux Séquences spéciales AT-riches
SCAP	Cellules Souches de la Papille Apicale
scCO2	Dioxyde de Carbone à l'état super-critique
Score BBB	Score locomoteur de Basso, Beattie et Bresnahan
SFI	Indice Fonctionnel Sciatique
SHED	Cellules Souches de Dents Exfolliées
Tb.N	Epaisseur des Travées Osseuse
TCP	Phosphate Tri-Calcique
TGF $\beta$	Facteur de Croissance de Différenciation beta
TNF-a	Facteur Nécrose Tumorale
VEGF	Facteur Croissance Endothélio-vasculaire
YAP	Yes Associated Protein associée à TAZ
YIGSR & IKVAV	Peptides dérivés de la laminine



	Type de fibre	Diam ( $\mu\text{m}$ )	Masse moléculaire (kDa)	Densité ( $\text{g}/\text{cm}^3$ )	Dureté Knoop ( $\text{kg}/\text{mm}^2$ )	Module d'élasticité de Young (GPa)	Résistance traction (MPa)	Extensibilité (%)	Résistance compression (MPa)	Résistance cisaillement (MPa)
<i>Bombyx Mori</i>	<i>Fibroïne + Séricine</i>	10-25				5-12	500-740	19-20		
	<i>Fibroïne</i>		350 / 26 / 30 (glande) 325 / 25 (cocoon)			15-17	610-690	4-16		
	<i>Séricine</i>		Glande : 5 polypep 80 → 310 Cocoon : 24-150-250-150-24							
<i>A mylita</i>	<i>Fibroïn</i>		395 / 197							
<i>Araneomorphae</i>	<i>Soie Majeure :</i>	2-6	250-320	1,3	0,014	8,2-13	875-1290	17-31		
	<i>Soie Mineure</i>		250-320	1,3		8,5	342	54		
	<i>Soie Flagelliform</i>			1,3		0,003	500	270		
	<i>Soie</i>					9,1	390	40		
	<i>Tubuliforme</i>									
	<i>Soie Aciniform</i>					9,6	687	86		
	<i>Soie Pyriforme</i>									
<i>Tissus natifs</i>	<i>Collagène</i>					0,0018-0,046	0,9-7,4	24-68		
	<i>Os</i>					20	160	3		
	<i>Dentine</i>					18	98,7		297	138
	<i>Email</i>					84	10 ,3		384	90
	<i>Kevlar 49</i>	49x13,8			0,215	130	3600	2,7		
	<i>Acide Polylactique</i>					0,001	50	850		

Annexe 2 :

Propriétés  
des  
différente  
s soie

## LA SOIE COMME BIOMATERIAU D'INGENIERIE TISSULAIRE DENTAIRE ET MAXILLO-FACIALE : UNE REVUE SYSTEMATIQUE

---

Cette revue systématique de la littérature reprend les études *in vivo* et *in vitro* de régénération tissulaire menées sur les tissus dentaire, parodontaux et ceux dont l'histologie s'en rapproche (vasculaire, osseux, nerveux) sur des échafaudages contenant de la soie. Reconnue pour sa biocompatibilité et ses propriétés mécaniques, elle permet à un échafaudage de diminuer sa dégradabilité sans exacerber la réponse inflammatoire. Ses propriétés étant paramétrables selon l'espèce source de la soie et le protocole d'élaboration de l'échafaudage, des bio-composite très diversifiés sont conçus par l'adjonctions de principes actifs. Elle permet ainsi de répondre aux impératifs biologiques des différents tissus étudiés.

---

TITRE ANGLAIS : SILK AS BIOMATERIAL FOR DENTAL AND MAXILLOFACIAL  
TISSUE ENGINEERING : A SYSTEMATIC REVIEW

---

DISCIPLINE ADMINISTRATIVE : Chirurgie dentaire

---

MOTS CLES : Soie, Fibroïne, Ingénierie Tissulaire, Dentisterie Régénérative, Médecine Régénérative, Régénération Osseuse, Régénération Nerveuse, Biomimétisme, Échafaudage, Byssus, Bombyx, Antheraea, Soie d'araignée.

---

INTITULE ET ADRESSE DE L'UFR OU DU LABORATOIRE :  
Université Toulouse III-Paul Sabatier  
Faculté de santé – Département d'Odontologie 3 chemin des Maraîchers 31062  
Toulouse Cedex 09

---

Directeur de thèse : Pr Paul MONSARRAT