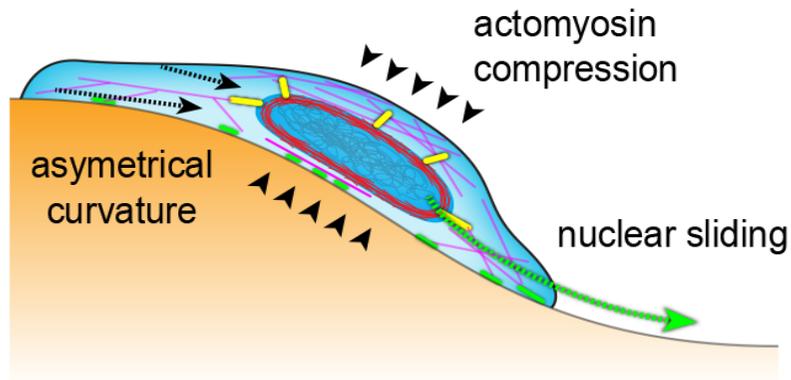
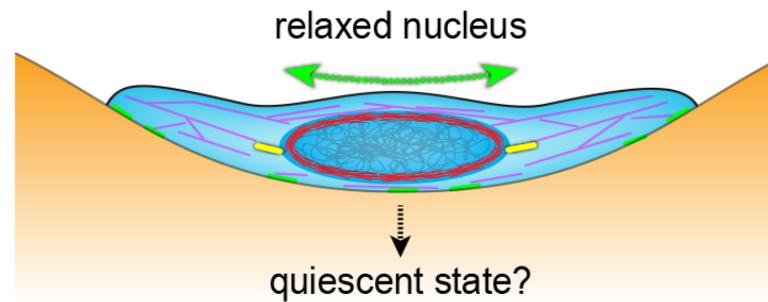


Quelques exemples

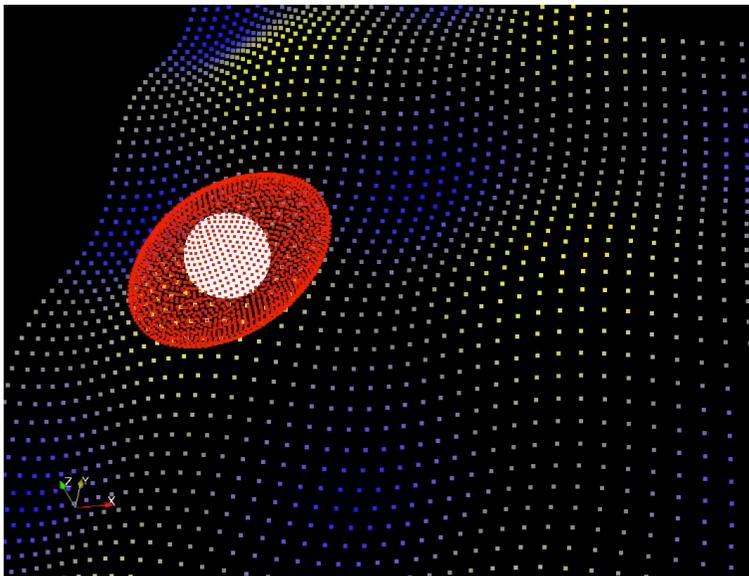
Rôle de la géométrie de surface sur le comportement cellulaire



The nucleus acts as a curvature sensor that guides the migrating cell towards concave curvatures



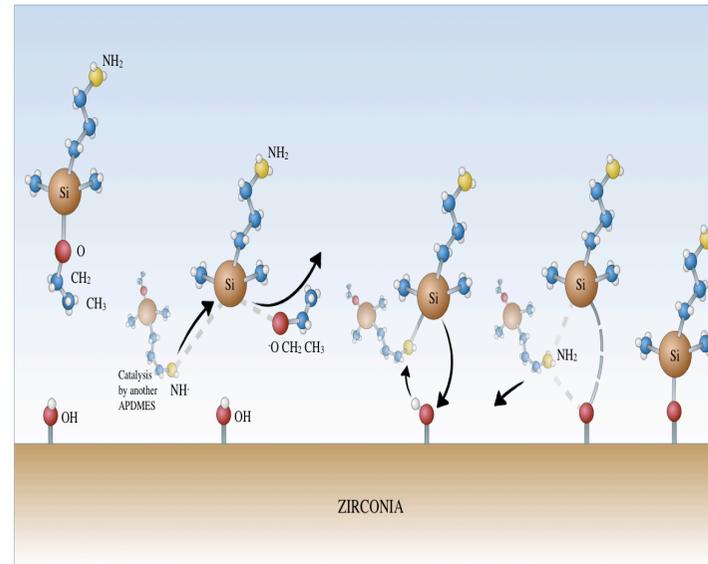
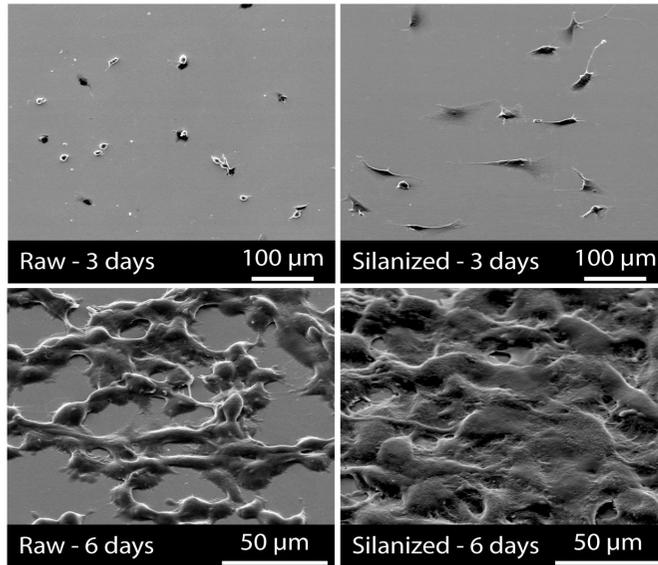
Cell-scale curvature affects nuclear shape, tension homeostasis and gene expression



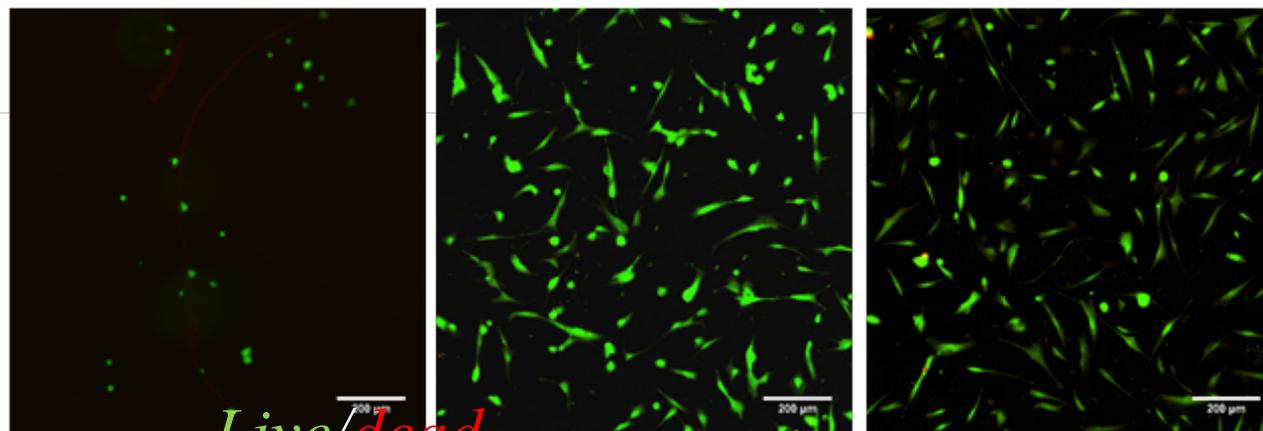
Credit : Karine Anselme
Institut de Science des Matériaux de Mulhouse

Quelques exemples

Rôle de la chimie de surface sur le comportement cellulaire



*Greffage
de groupements 'Silane'
sur une céramique*



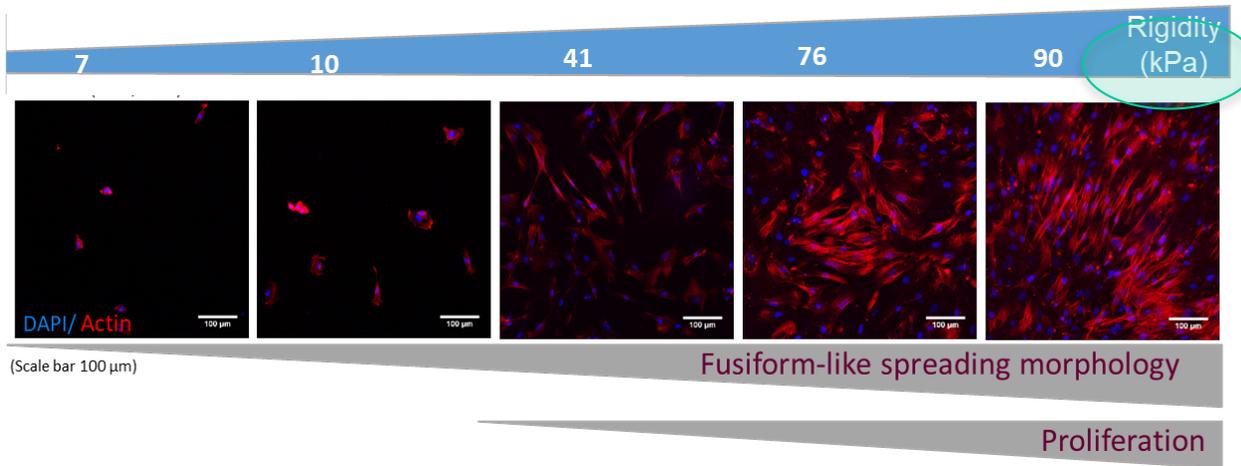
*Importance de
groupements 'amine'
Sur l'adhésion de fibroblastes
(PEG-based hydrogel)*

*Crédit Jérôme Sohier,
CNRS, Uni.Lyon*

Amines

Quelques exemples

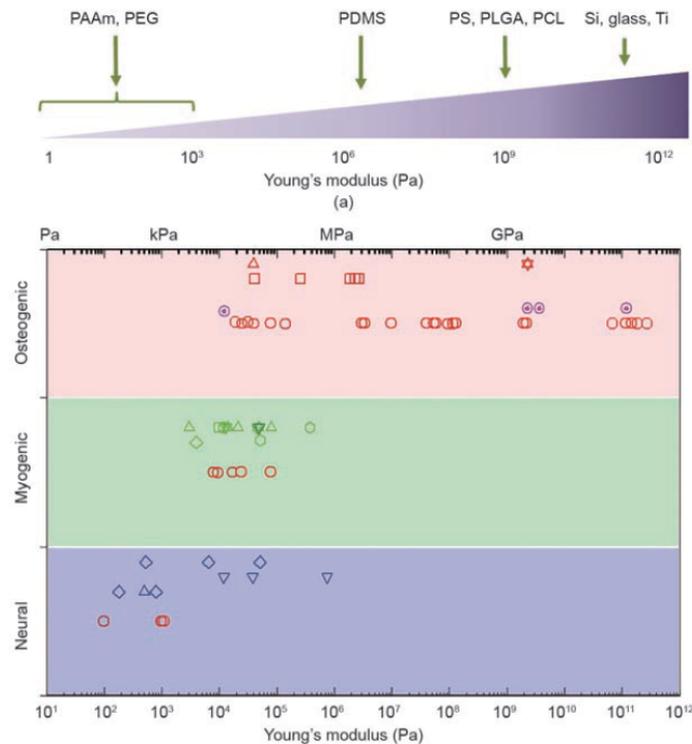
Rôle de la raideur sur le comportement cellulaire



Importance de la rigidité du substrat

Sur la prolifération et la morphologie de fibroblastes (PEG-based hydrogel)

Crédit Jérôme Sohier, CNRS, Uni.Lyon

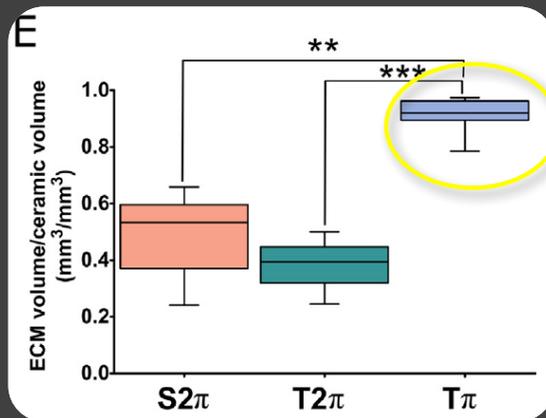
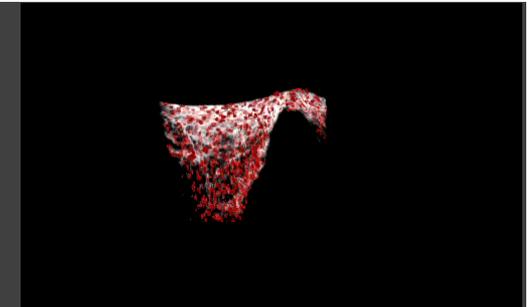
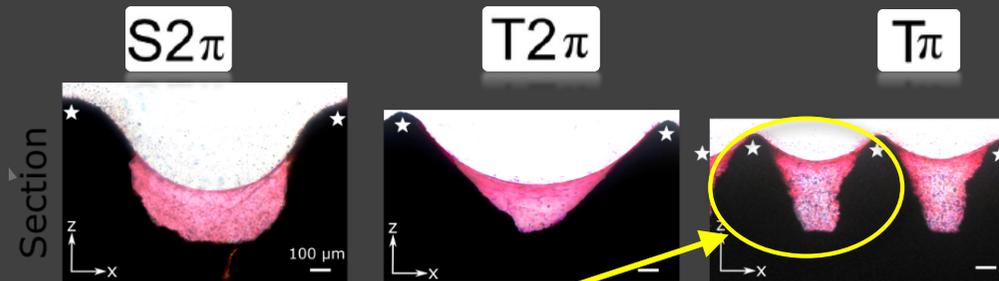


La rigidité du substrat

Affecte la différenciation cellulaire

(Yang et al., *Engineering* 3 (2017) 36-54)

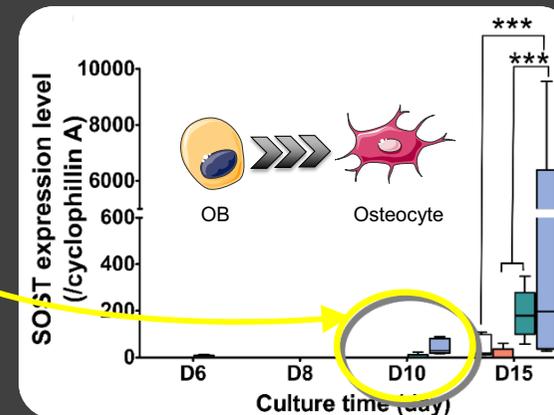
Quelques exemples Modulation du comportement cellulaire par l'architecture



Highest cell and ECM density
for the tightest geometries

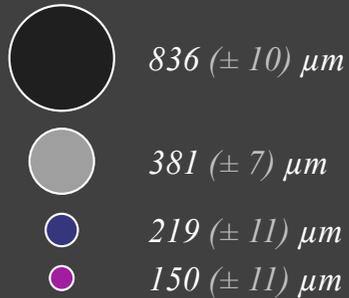
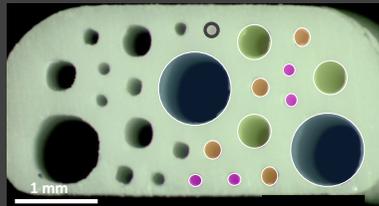
Tightest geometry

Hematoxylin-eosin

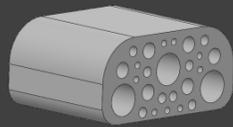


Osteoblast differentiation is accelerated
in the most confined environment

Quelques exemples Influence de la porosité sur la vascularisation et la croissance osseuse

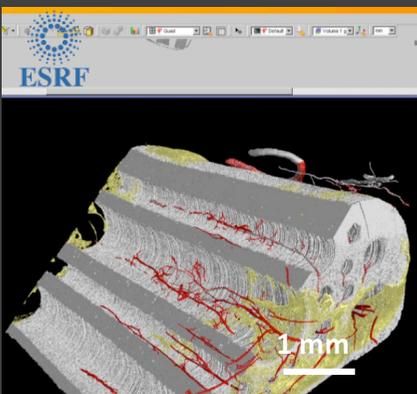


Hydroxyapatite (HA) : $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$



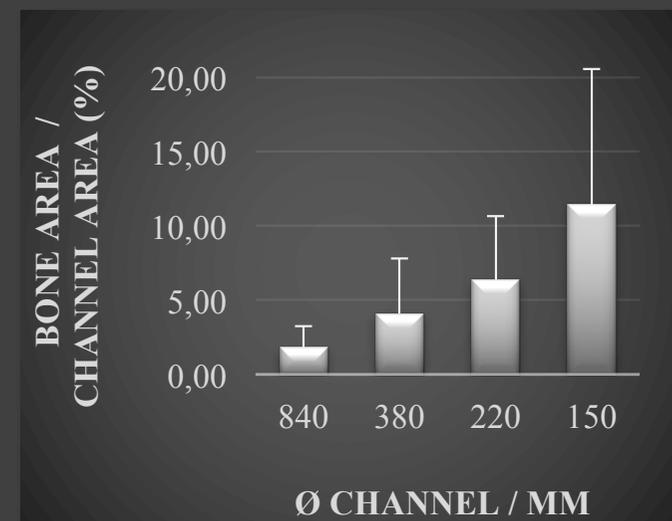
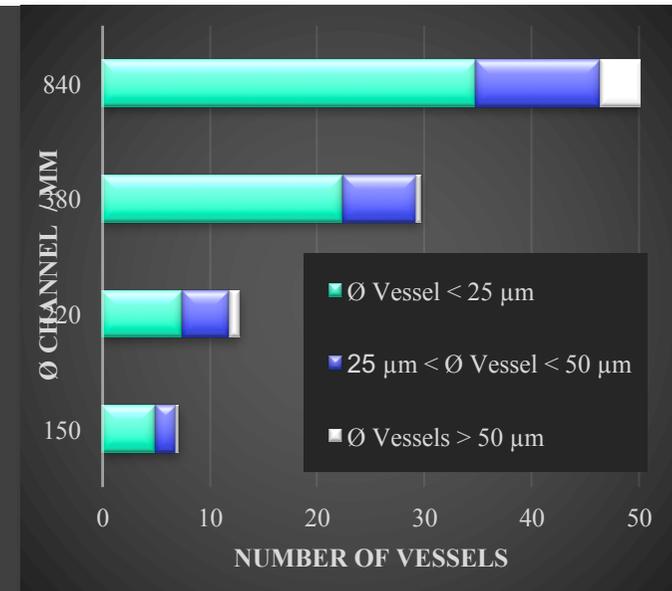
- Contrôle ⊕
- ▶ rh BMP2 (100 ng/mL)
 - ▶ CSM-h (10^6 cell/mL)

Monochromatic synchrotron X-rays



Blood vessels

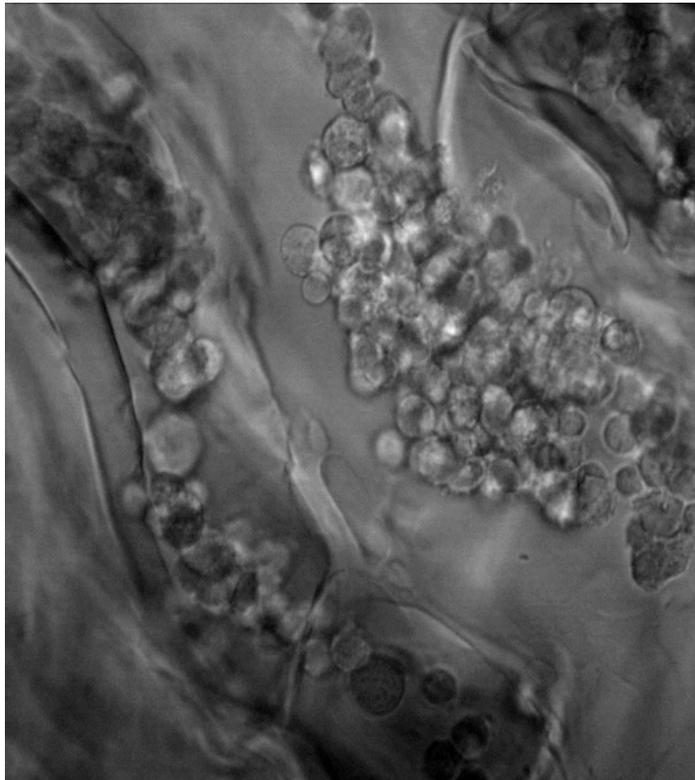
Mineralized matrix



Quelques exemples

Rôle du confinement sur le comportement d'agrégats cellulaires

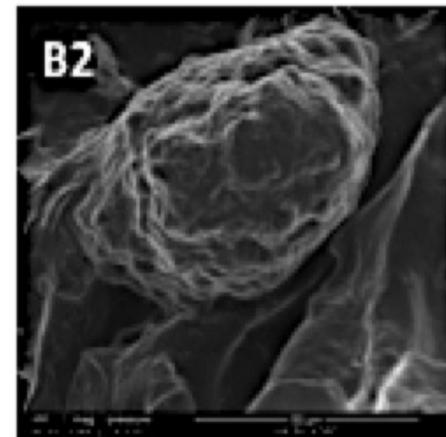
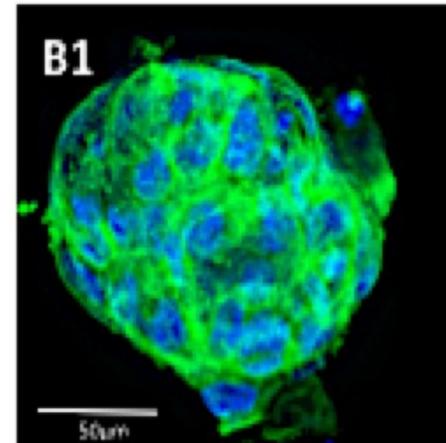
'Pullulan - dextran based 3D matrices induce the formation of spheroids and stimulate cell-cell contacts'



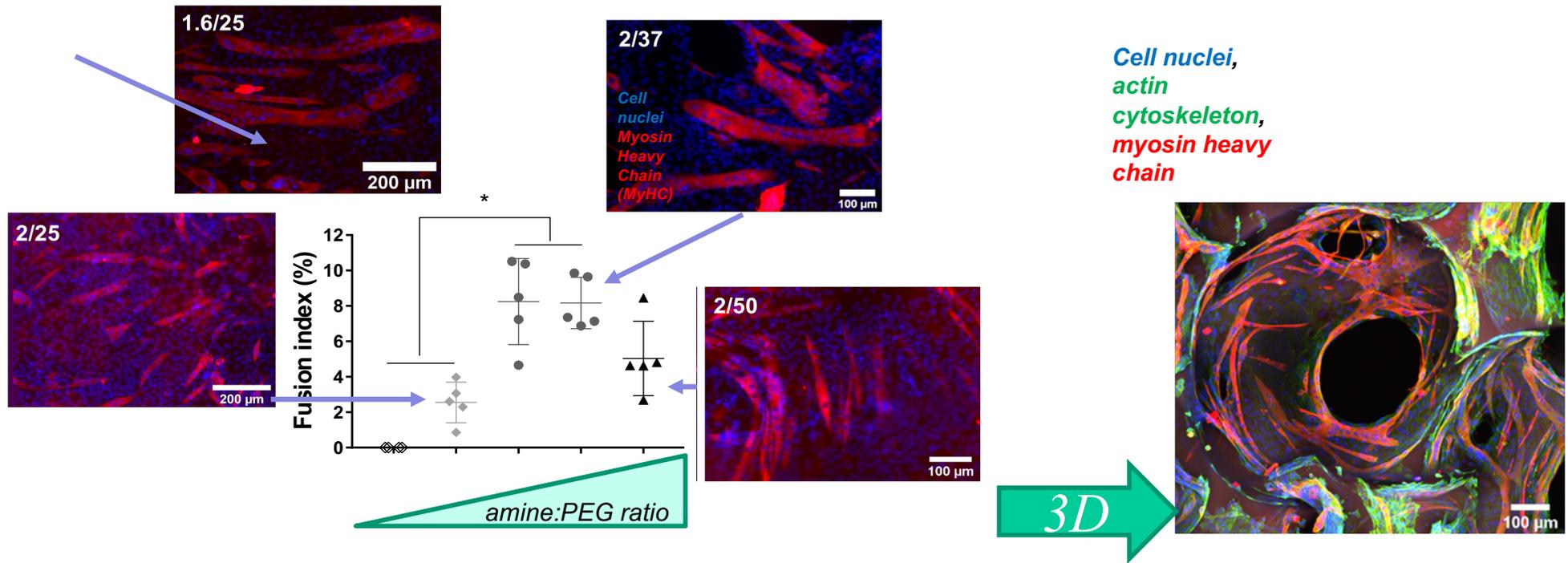
Time lapse videomicroscopy

Guerrero et al Acta Biomater, 2013 et JTERM, 2018

Crédit : Joelle Amédée, BIOTIS



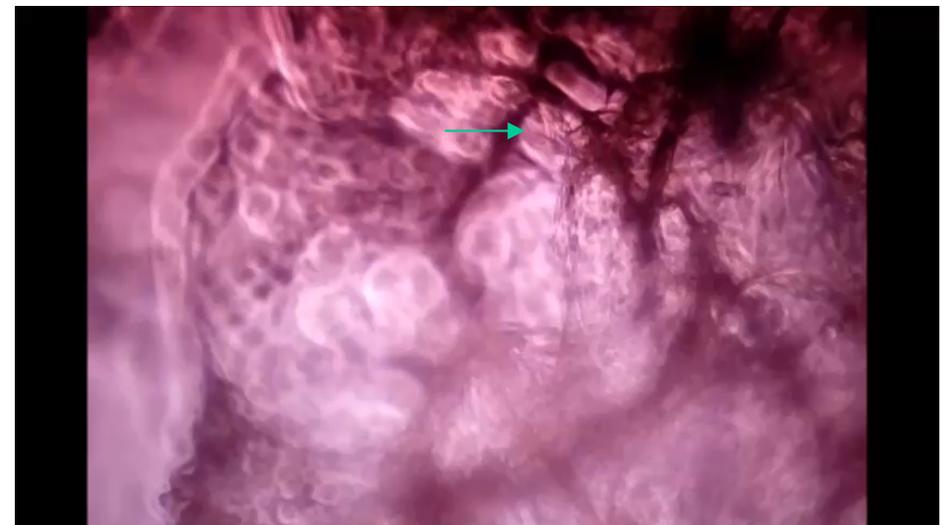
Well integrated spheroids within the pores of the matrix



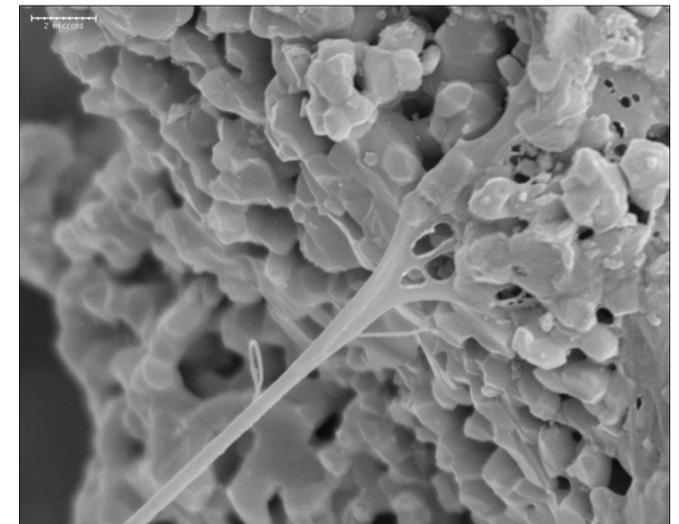
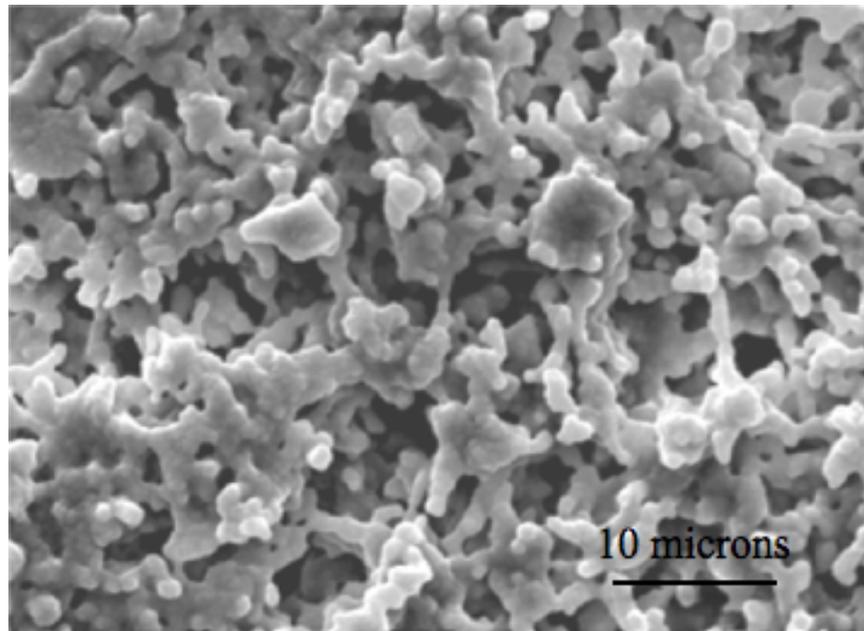
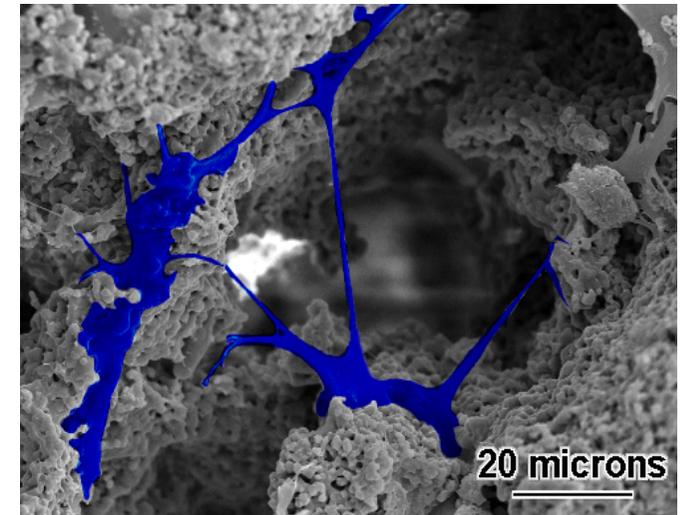
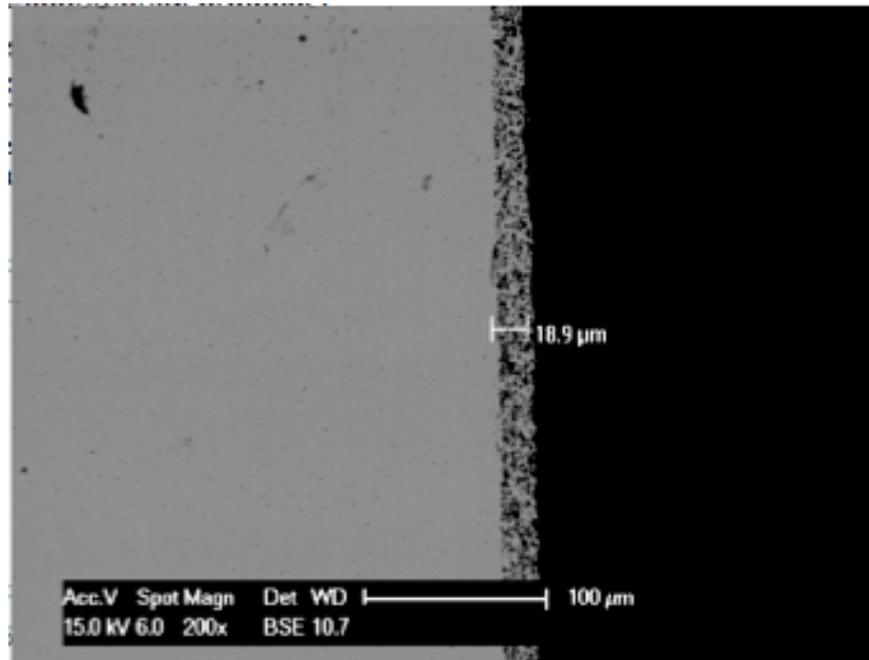
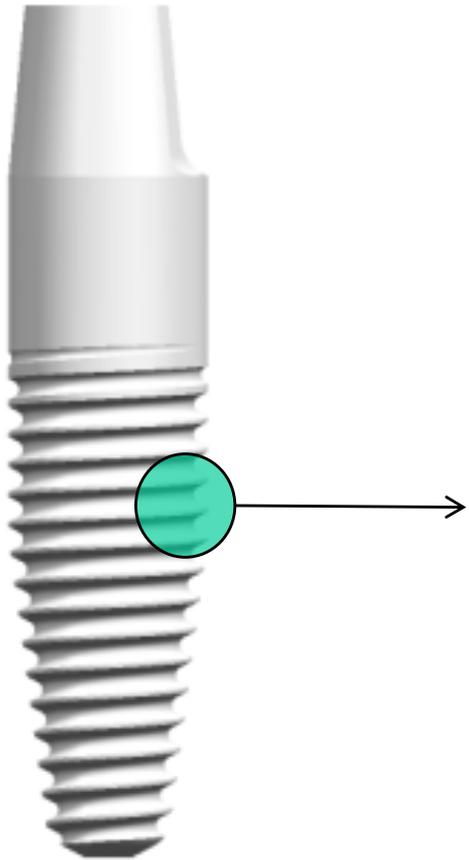
*Importance of surface amine groups on mouse MYOBLAST fusion
(PEG- based hydrogel)*

*Human MYOBLAST fusion and contraction in
hydrogels*

*Crédit Jérôme Sohier,
CNRS, Uni.Lyon*



Quelques exemples Modification de surface d'implants dentaires

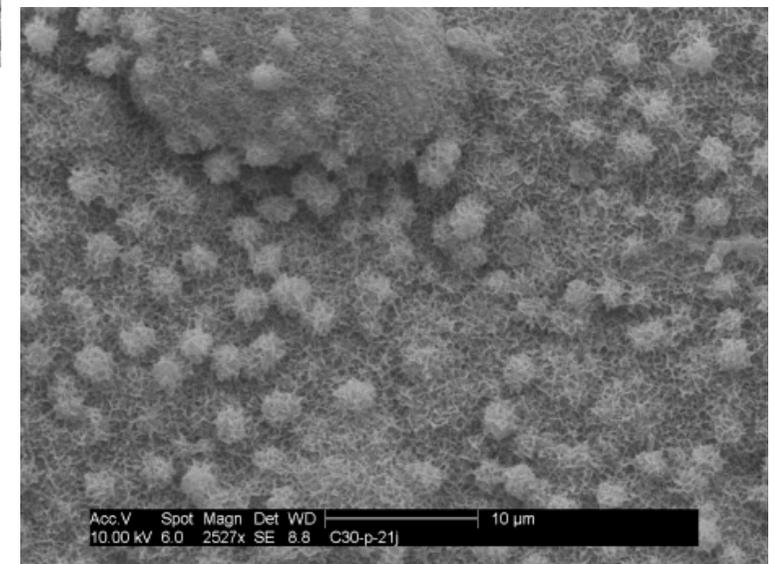
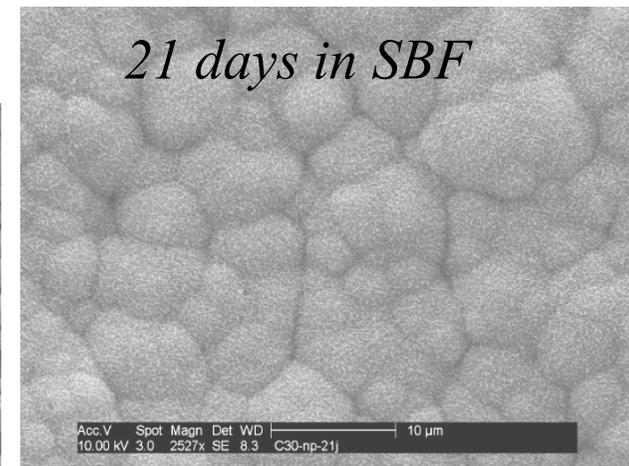
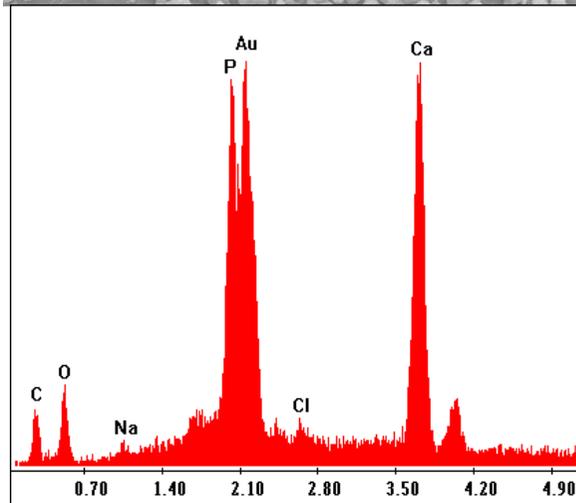
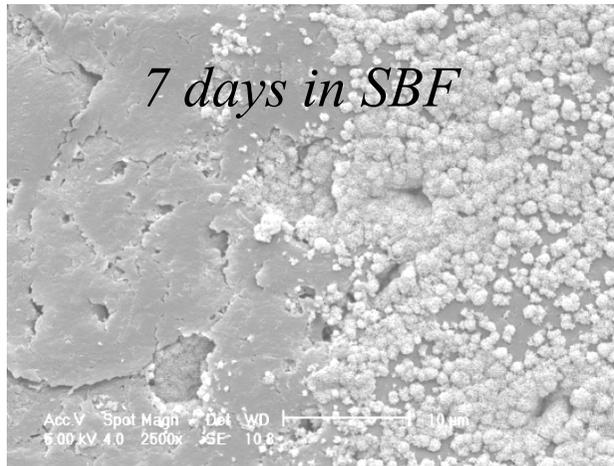


Quelques exemples

Composites PLA-bioverre pour une meilleure intégration à l'os



*Screw and fusion cage obtained from
PLA – 30 wt.% Bioglass® particles*



L'interaction des biomatériaux avec les tissus

La réponse des tissus aux biomatériaux - immunité

Gardons toujours à l'esprit que l'organisme est extrêmement bien équipé pour rejeter tout intrus, qu'il soit d'origine bactérienne ou que ce soit un morceau de bois !!!

On peut traiter un implant comme une source d'irritation, un stimulus assez proche de celui généré par une infection, un traumatisme, ou la présence de bactéries.

La réponse peut se décomposer en une inflammation et en une réparation après traumatisme.

Inflammation (aigüe)

Réaction immédiate à la blessure que constitue l'implantation

Le processus d'inflammation est là pour éliminer ou tout au moins contenir l'agression

Réparation

Remplacement des cellules mortes par des cellules en bonne santé

Remplacement des tissus endommagés par de nouveaux tissus

Inflammation (chronique)

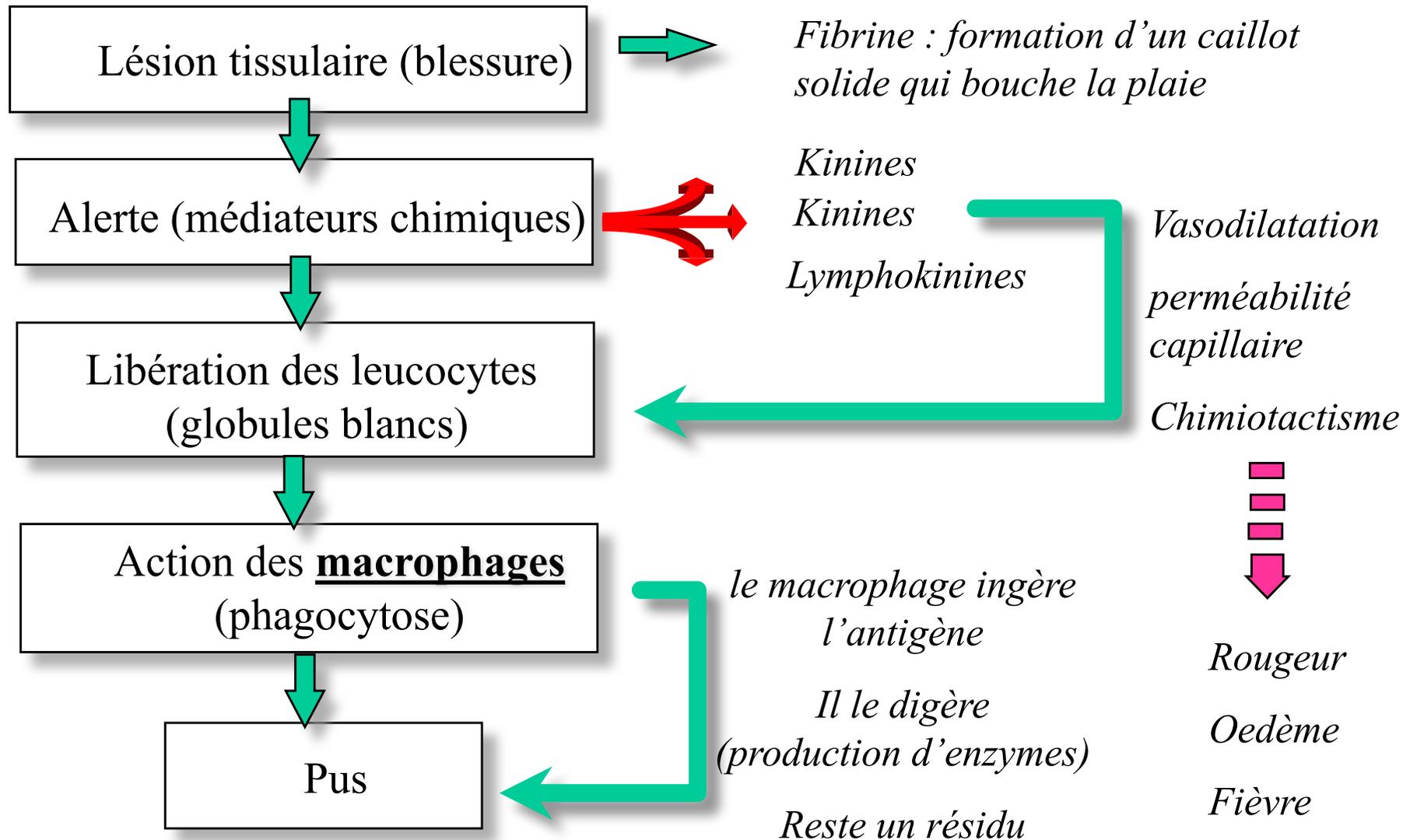
Dans le cas où le stimulus devient persistant

Rejets de produits de corrosion, de dégradation ...

La réponse des tissus aux biomatériaux

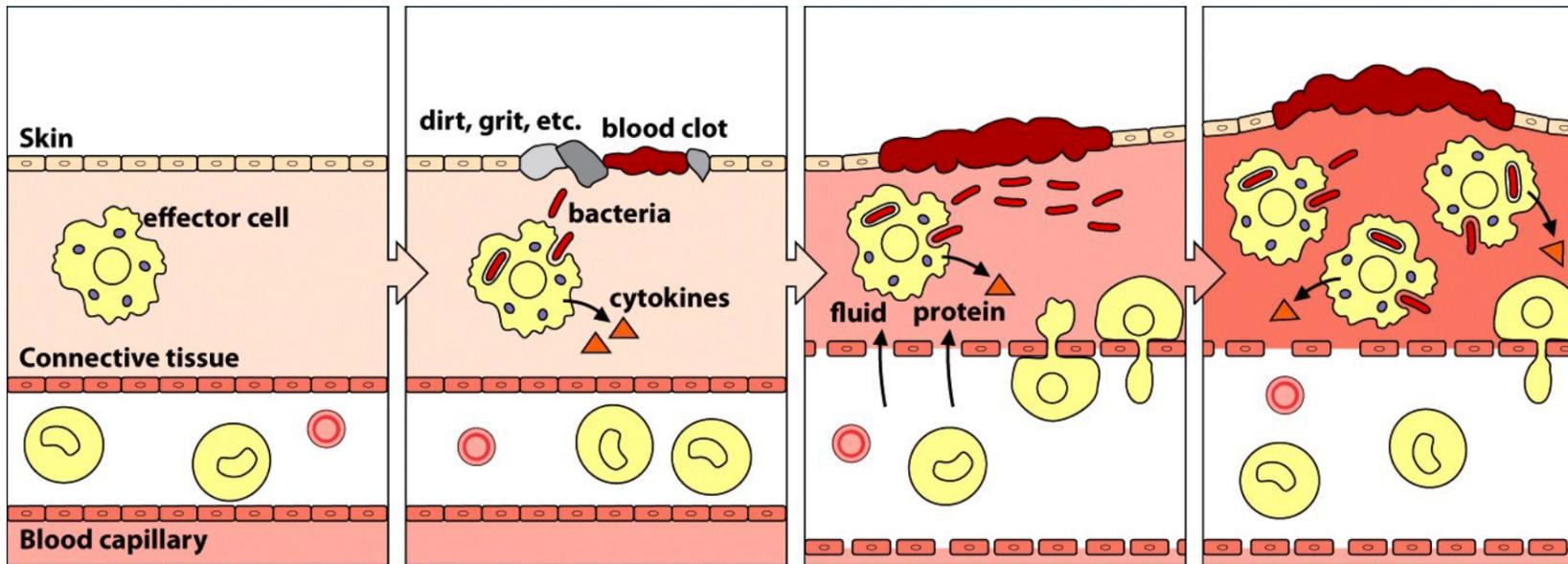
L'inflammation des tissus : l'immunité non spécifique

C'est par définition la réponse à la blessure ou à la présence de corps étrangers (antigènes)

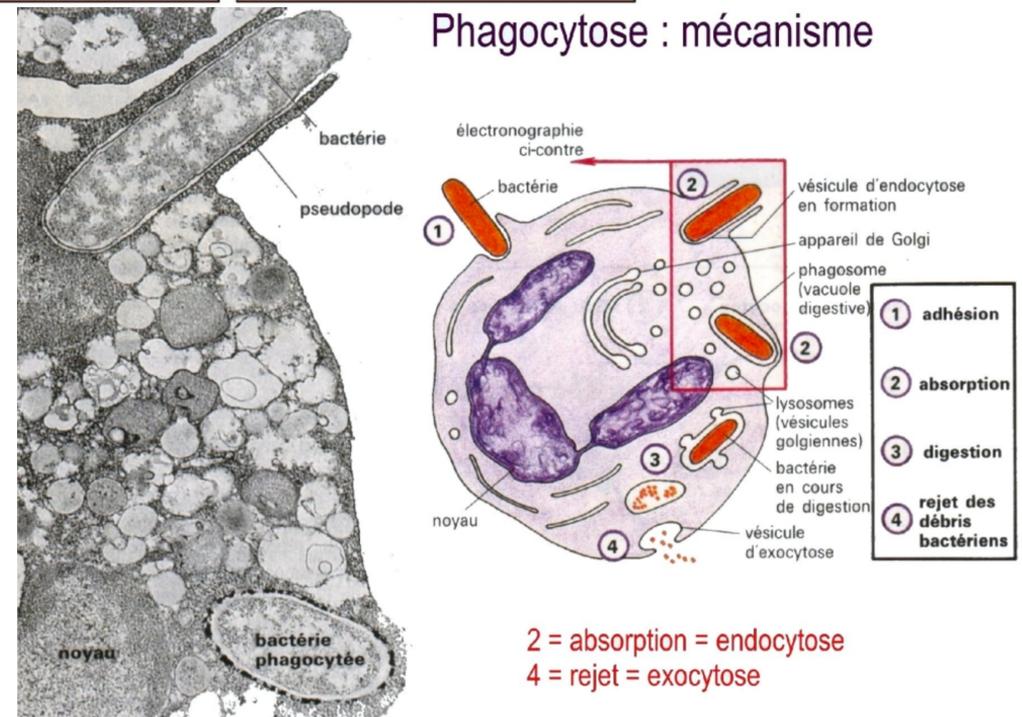


Biocompatibilité

rôle clef des cellules de l'immunité

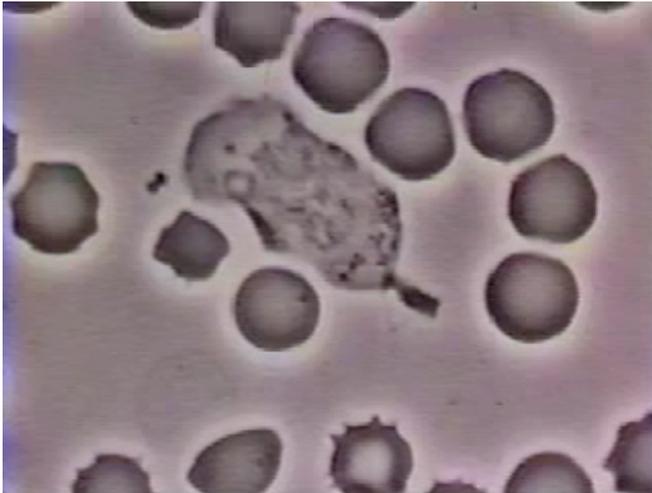


Phagocytose : mécanisme

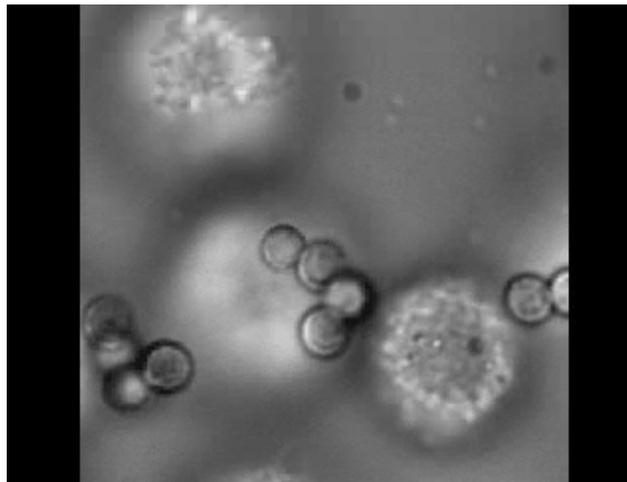


Frottement et usure : enjeu n°1 des prothèses orthopédiques

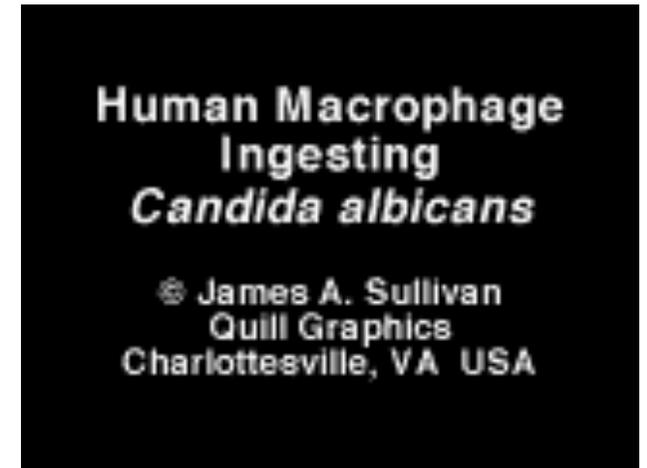
Parlons 'système immunitaire'...Rôle des macrophages



Macrophage 'chassant' une bactérie



Macrophage et phagocytose



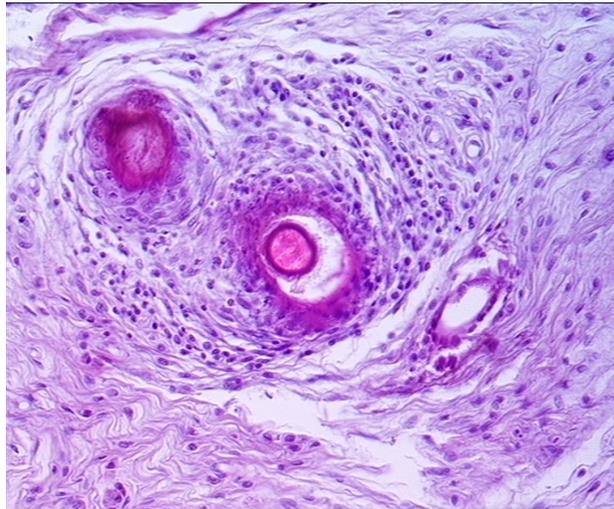
Un problème de digestion...

- > *Un débris d'usure est considéré au même titre qu'une bactérie*
- > *Les débris d'usure ne peuvent pas être digérés : modification (cellules géantes)*
- > *Réaction inflammatoire 'chronique', stimulus persistant*
- > *Destruction osseuse*

La réponse des tissus aux biomatériaux

La phagocytose

L'inflammation devient chronique si l'agent n'est pas transitoire mais persistant
(produits de dégradation, matériau mal toléré)



L'inflammation chronique est en générale synonyme de rejet de l'implant

- ➡ Les macrophages fusionnent et donnent naissance aux cellules géantes (plus effectives dans le combat),
- ➡ Apparition de granula (tissus nécrosés au voisinage de l'implant),
- ➡ Présence de pus, dû à une collection de cellules mortes.

La réponse des tissus aux biomatériaux

Le processus de guérison

*C'est par définition la régénérescence des tissus,
qui dépend de l'aptitude des cellules à la multiplication*

Les cellules labiles, présentes en grande quantité dans l'épithélium se renouvellent très rapidement (renouvellement de la peau). Les cellules 'stables' (os) n'ont pas un tel potentiel, mais peuvent se régénérer si besoin est (manque de cellules en un endroit particulier du corps).

☞ Cellules chondroblastes (blaste = jeune) → repousse du cartilage

☞ Cellules ostéoblastes → repousse de l'os

☞ Cellules fibroblastes → guérison des muscles

(tissus fibreux de collagène, encapsulation de l'implant)

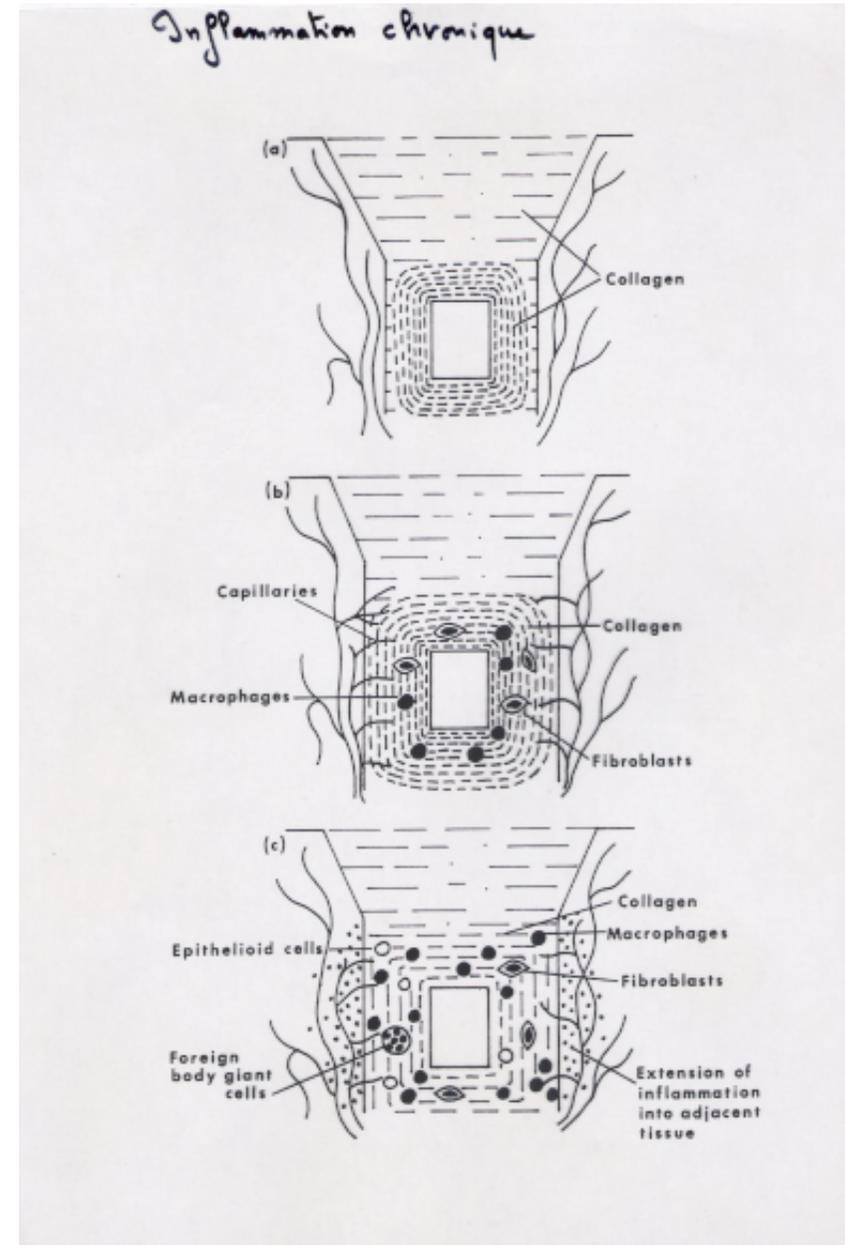
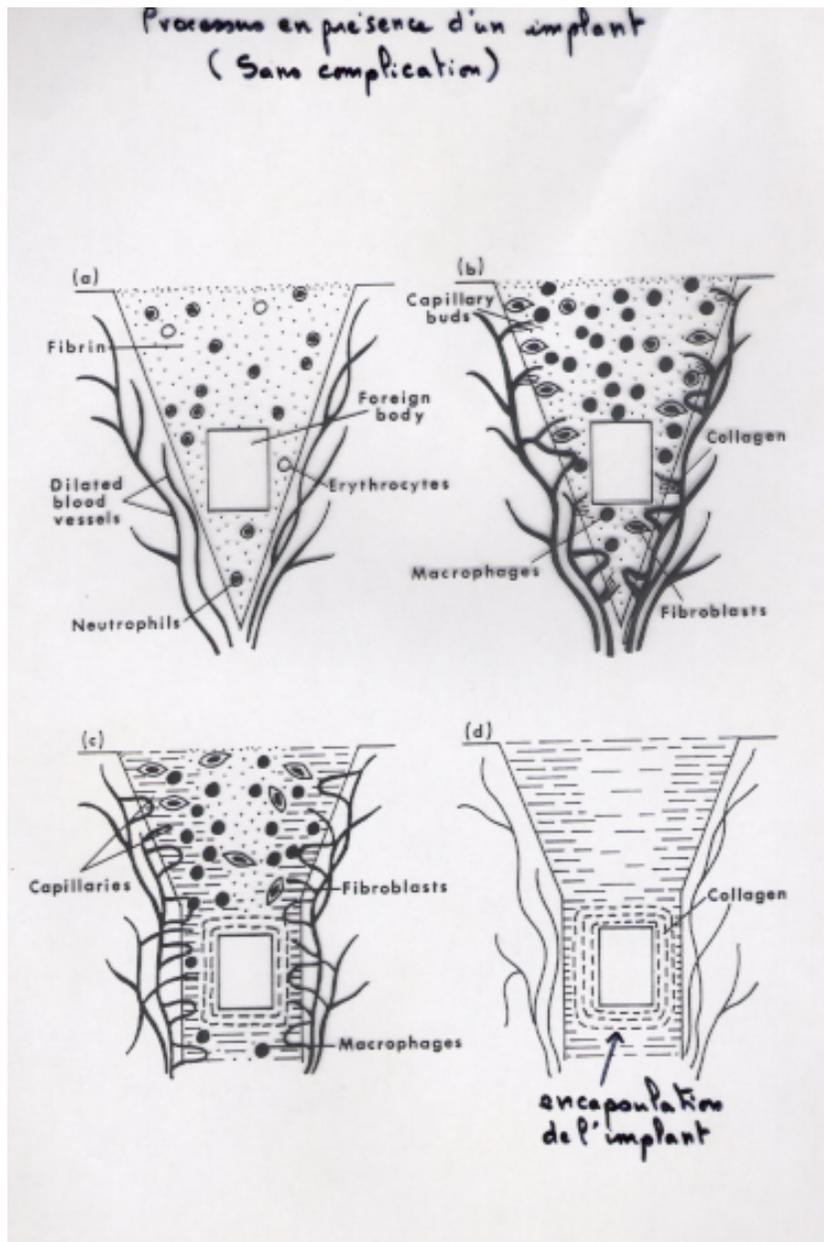
La guérison des tissus dépend énormément du matériau en contact (affinité avec les tissus), mais aussi de sa forme (repousse osseuse optimale pour une porosité de 100 μm).



**Matériaux bio-actifs (HAP, TCP) qui favorisent la repousse osseuse (cf orthopédie)
Fonctionnalisation de surface**

L'interaction des biomatériaux avec les tissus

Une intégration réussie ou non



*Exemple de la complexité d'un tissu
Implication sur la conception des biomatériaux*

*Matériaux céramiques
pour le comblement osseux
et la régénération tissulaire*

Evolution des biomatériaux : deux paradigmes

REEMPLACER

REGENERER

*Biomatériaux
'inertes'*

*Greffes
Biocéramiques
actives
Fonctionnelles*

Vers des implants
- « Vivants »
- Sur mesure
- Médecine
personnalisée



*Réglementaire
Coûts !*

Remplacement

*Comblement
Liaison os implant*

Ingénierie tissulaire

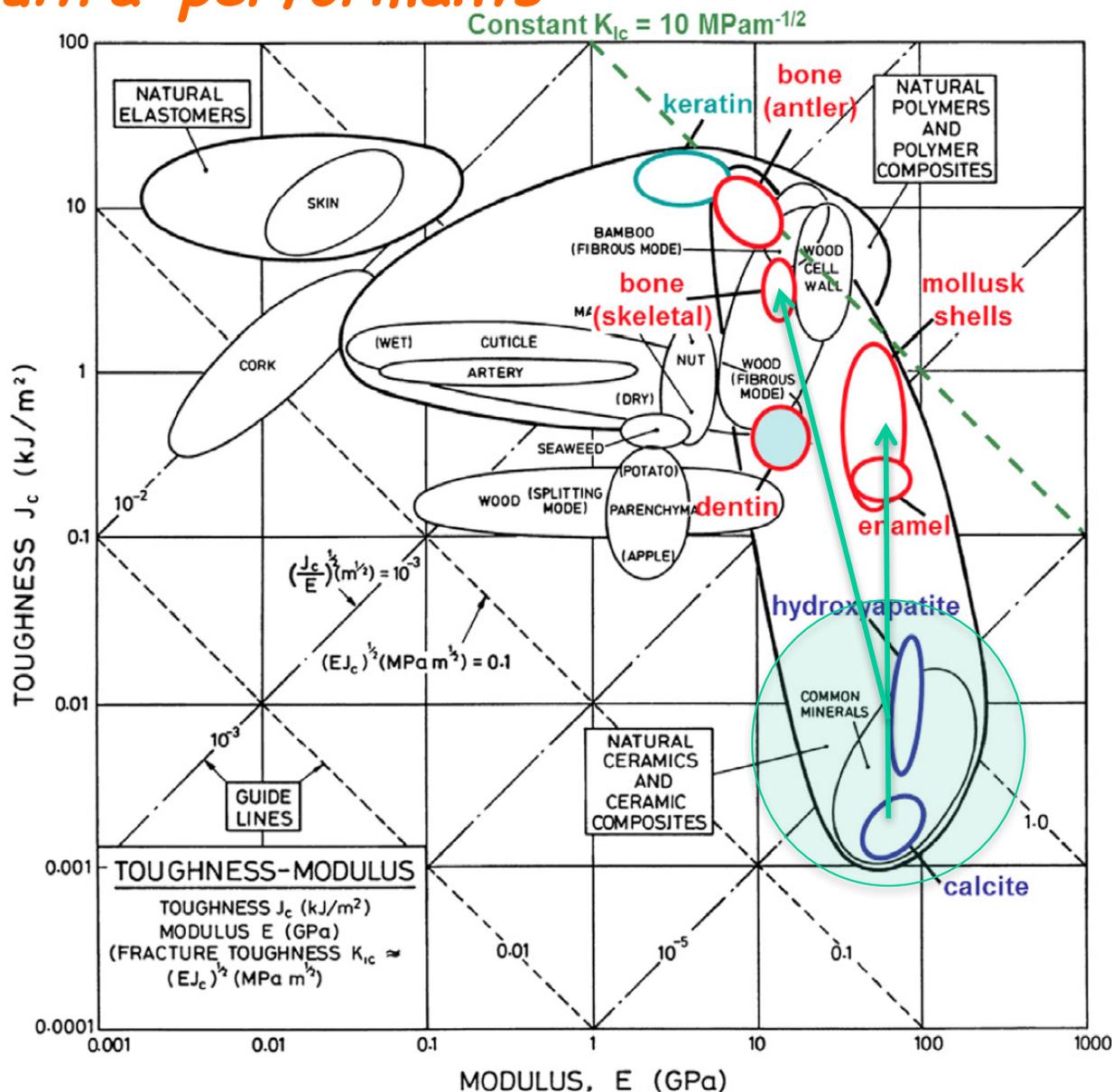
1960

1970

1980

2005

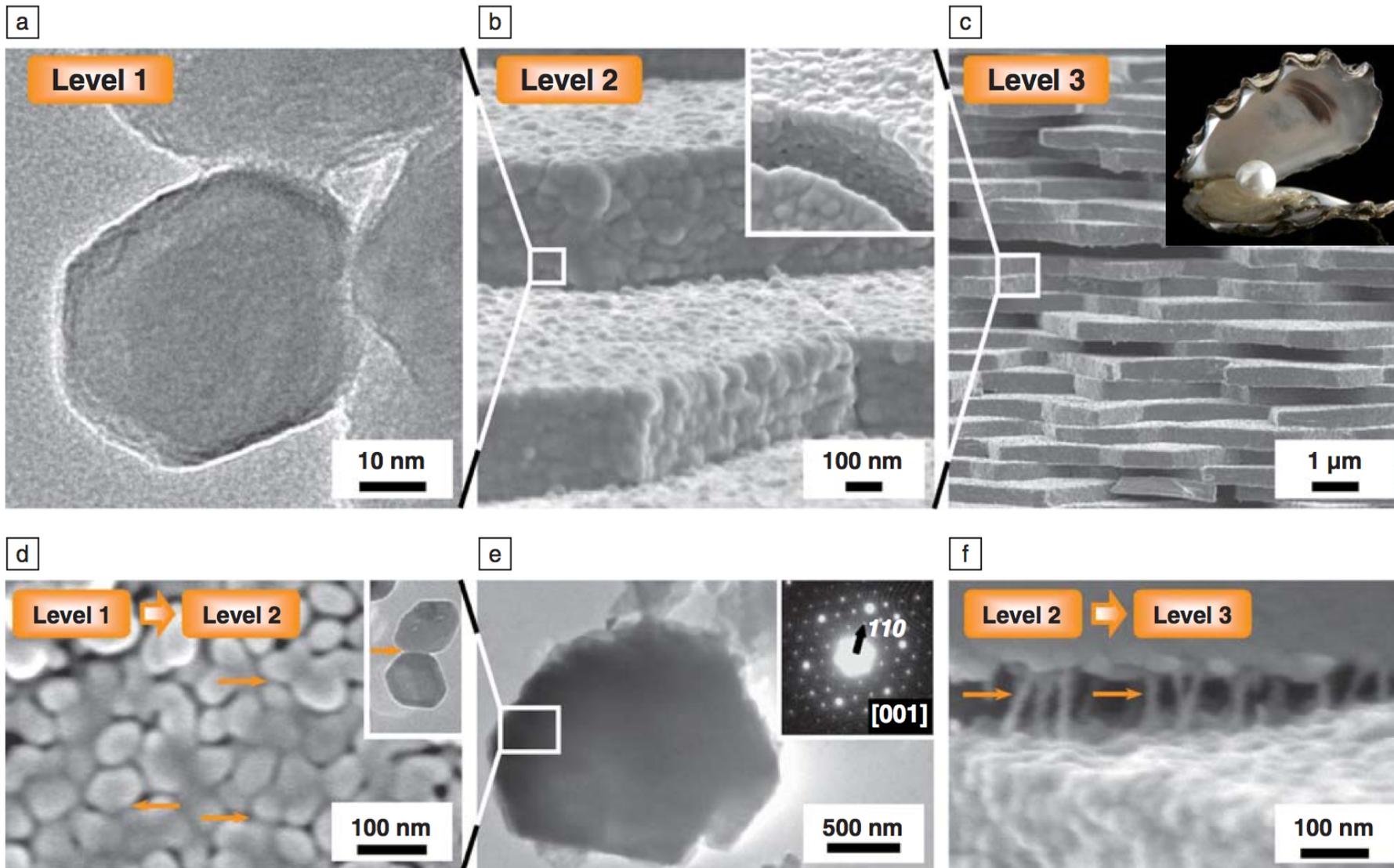
Remplacer des 'matériaux' biologiques complexes et ultra-performants



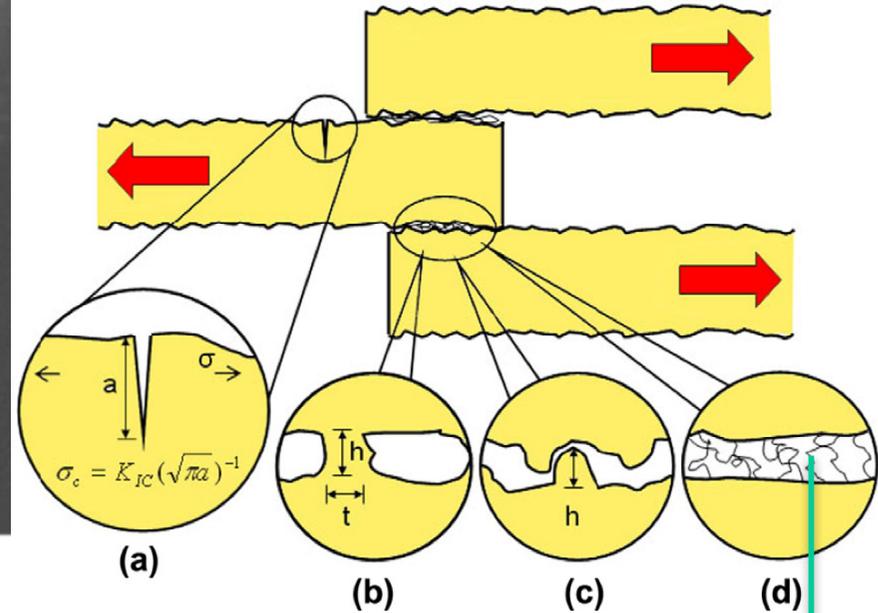
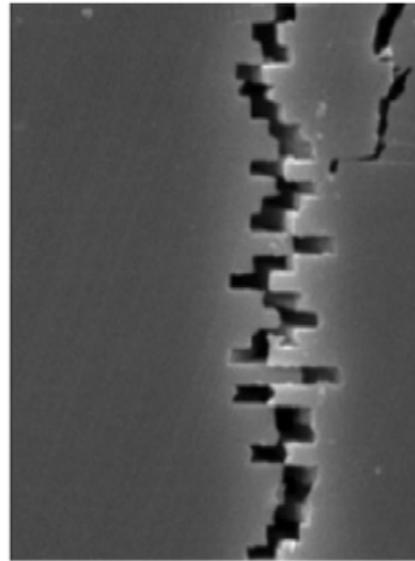
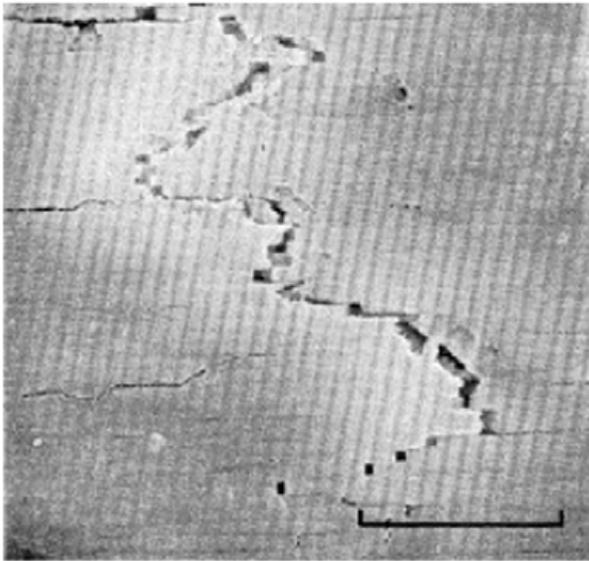
Les matériaux biologiques présentent des propriétés mécaniques deux ordres de grandeur supérieures à leurs constituants inorganiques.

En partant de matériaux possédant des propriétés modestes, l'architecture des matériaux biologiques leur permet de présenter des propriétés exceptionnelles

Exemple de la nacre : une source d'inspiration...



The different sources of toughening in Nacre



Crack tortuosity

Tiles pull-out

Crack blunting

Crack bridging

Tiles sliding, mineral bridges

Chen et al. Progress in Materials Science 57 (2012)

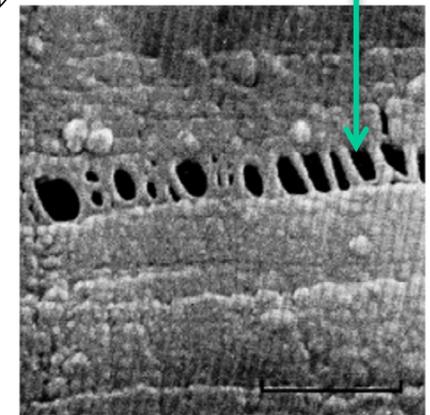
Organic visco-elastic layer

Mineral (>95%): CaCO₃ (Aragonite)

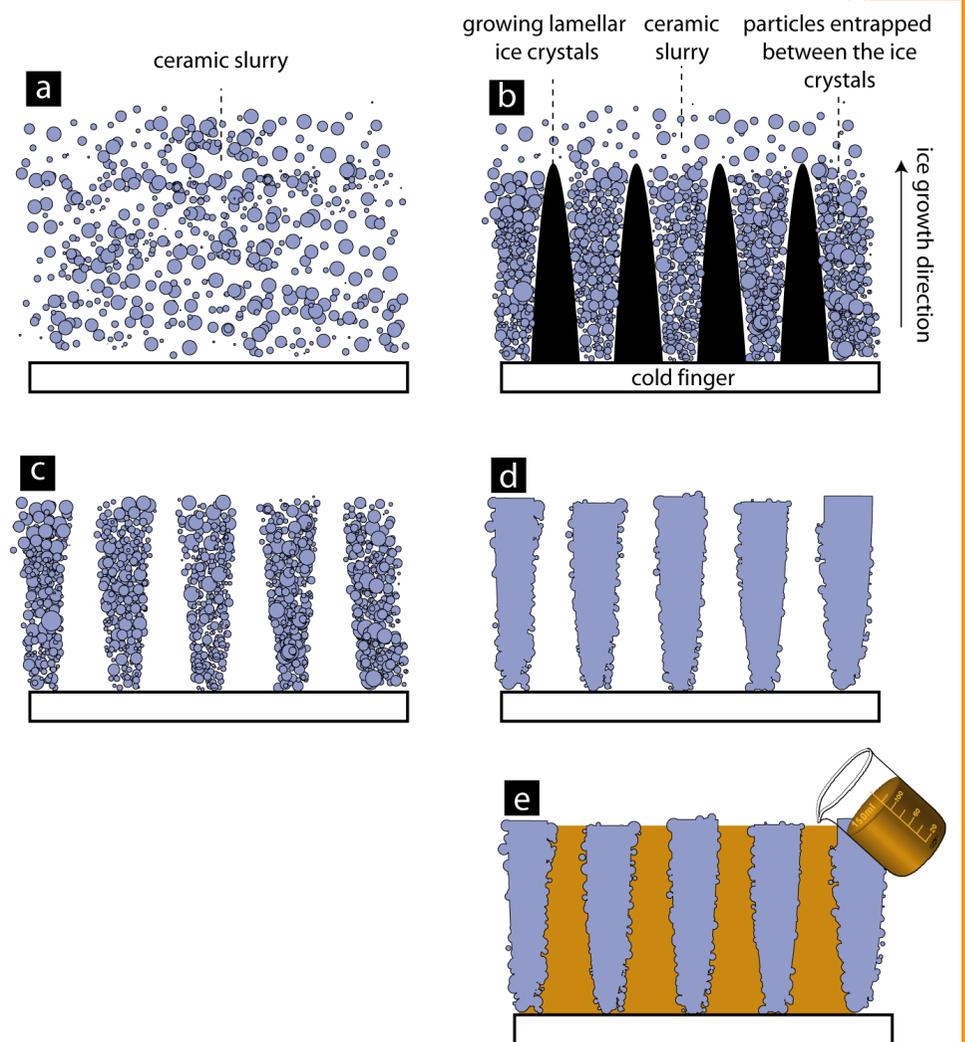
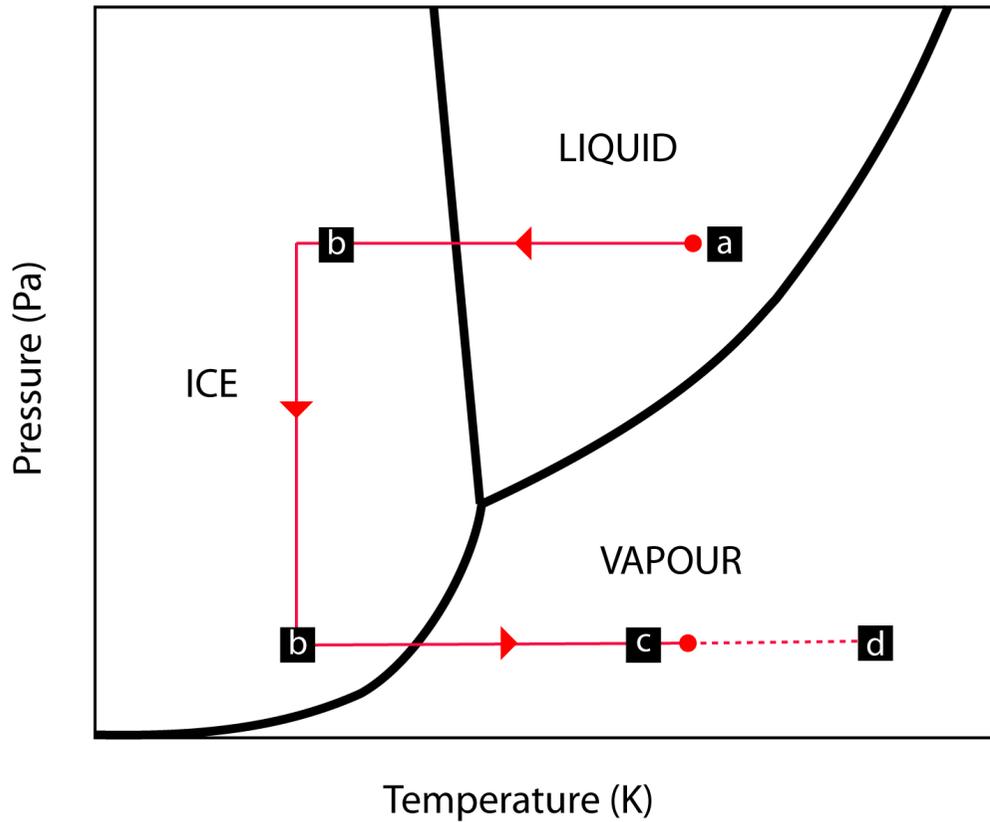
organic (<5%): proteins and polysaccharides

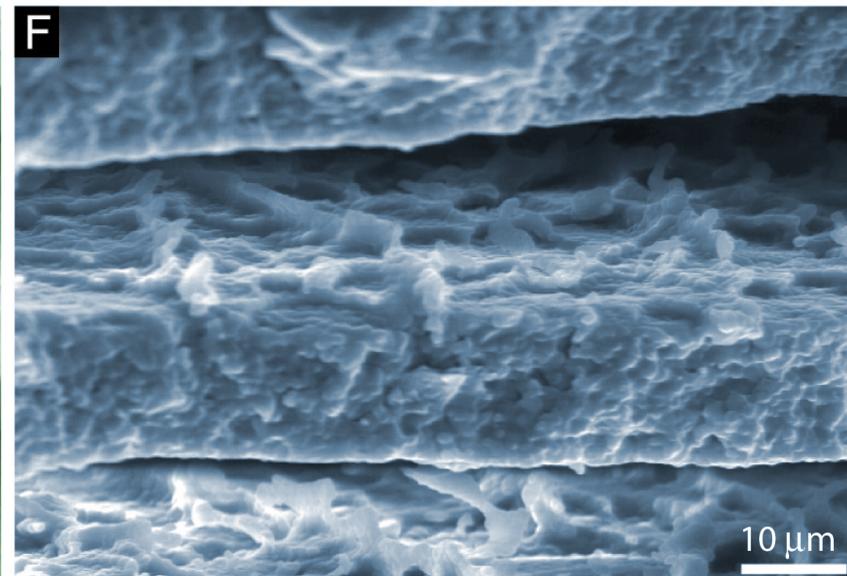
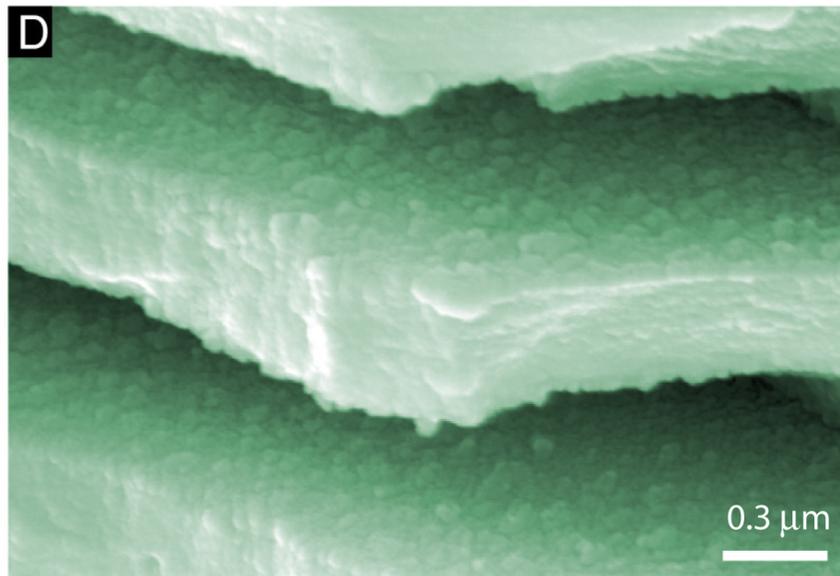
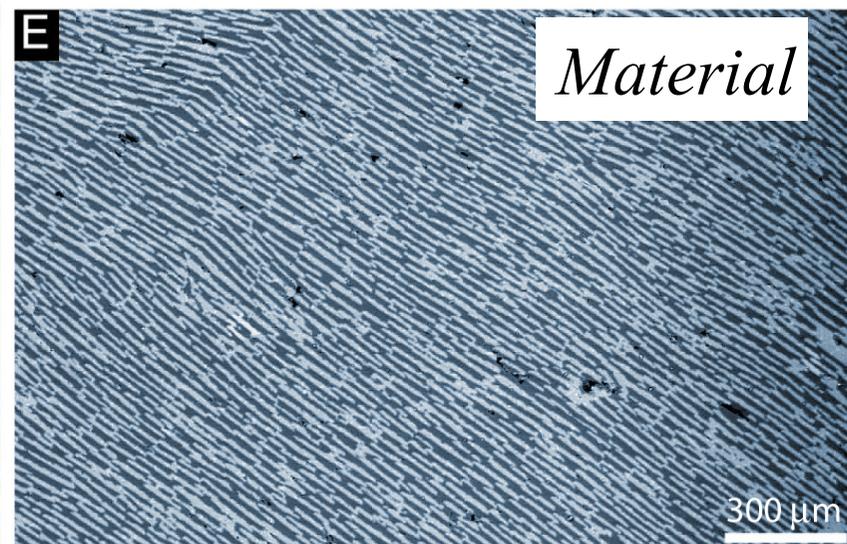
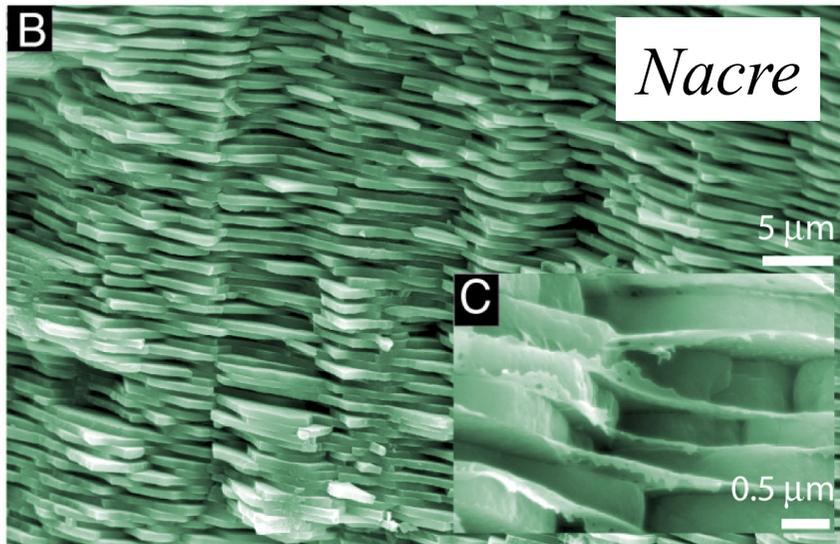
$$K_{IC} \sim 8 \text{ MPa}\sqrt{\text{m}}$$

Multi-scale reinforcement, influence of organic content



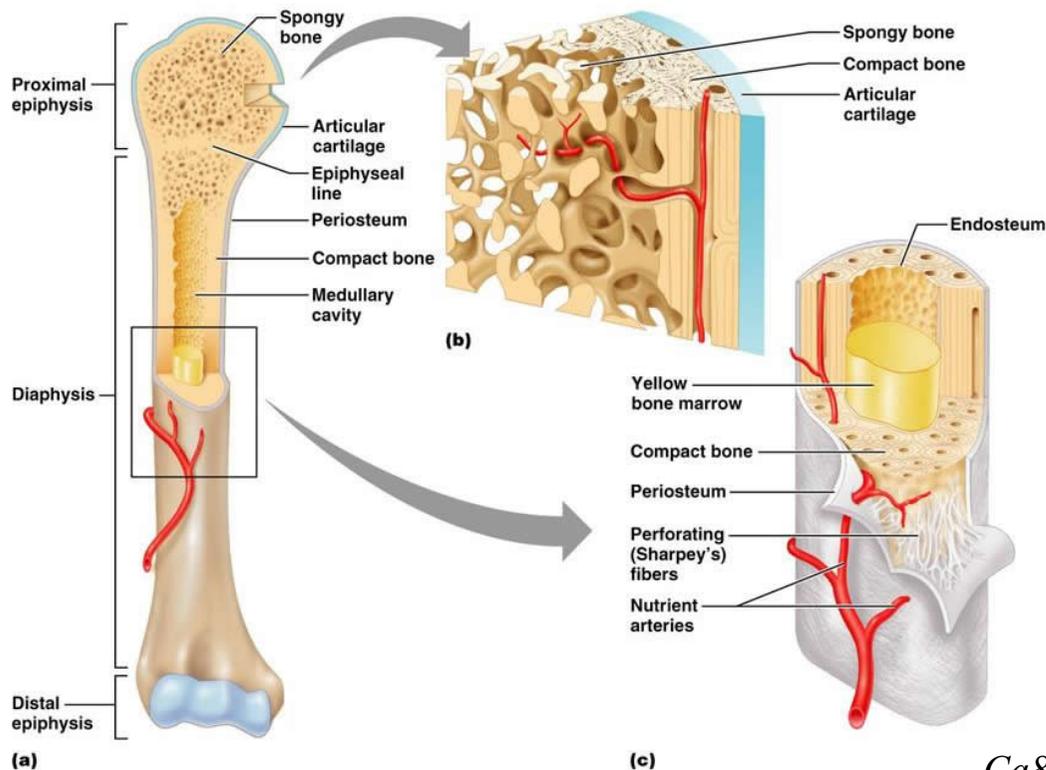
La quête de matériaux tenaces ressemblant à la nacre...





Structure(s) et architecture(s) de l'os - échelle macroscopique Composition

Tissu = Cellules + **matrice extracellulaire (MEC)**



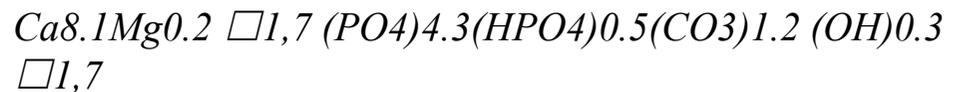
10wt.% Eau

25wt.% *Matières organiques*

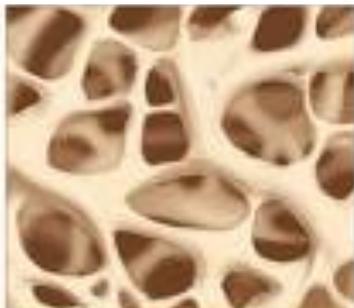
- Collagène de type I (> 90%)
- Facteurs de croissance osseux (≈ 1%)...

65wt.% *Partie minérale*

- Phosphates de calcium (CaP apatitique)

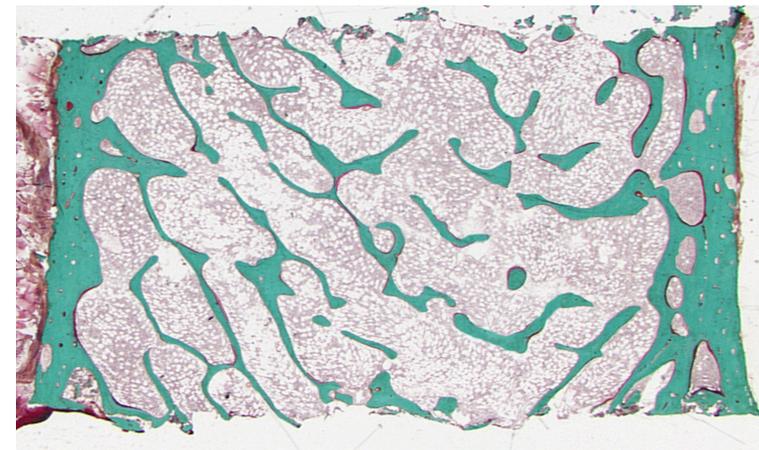
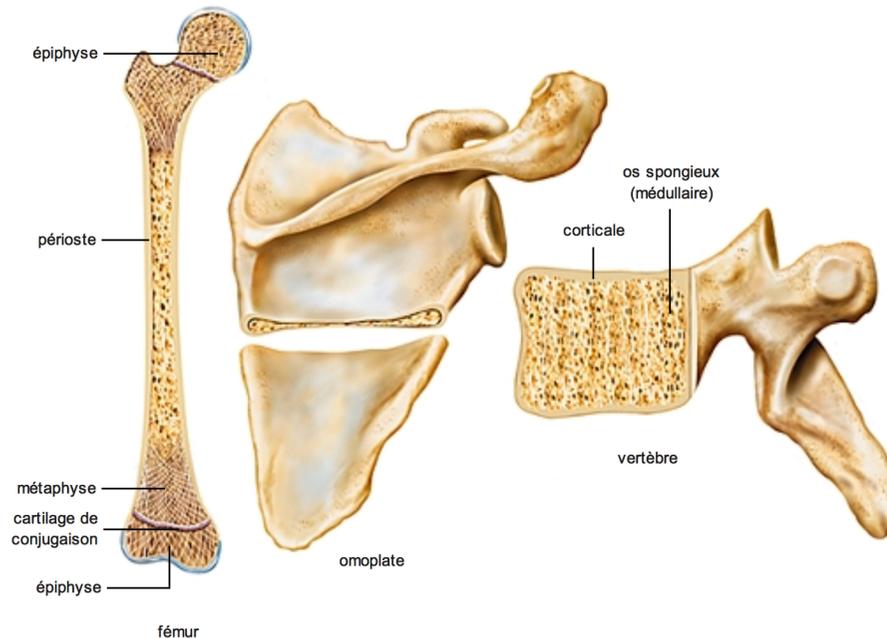


- Calcium et phosphore, mais aussi Mg, Na, Si, etc... (nombreuses substitutions).
- Mal cristallisée



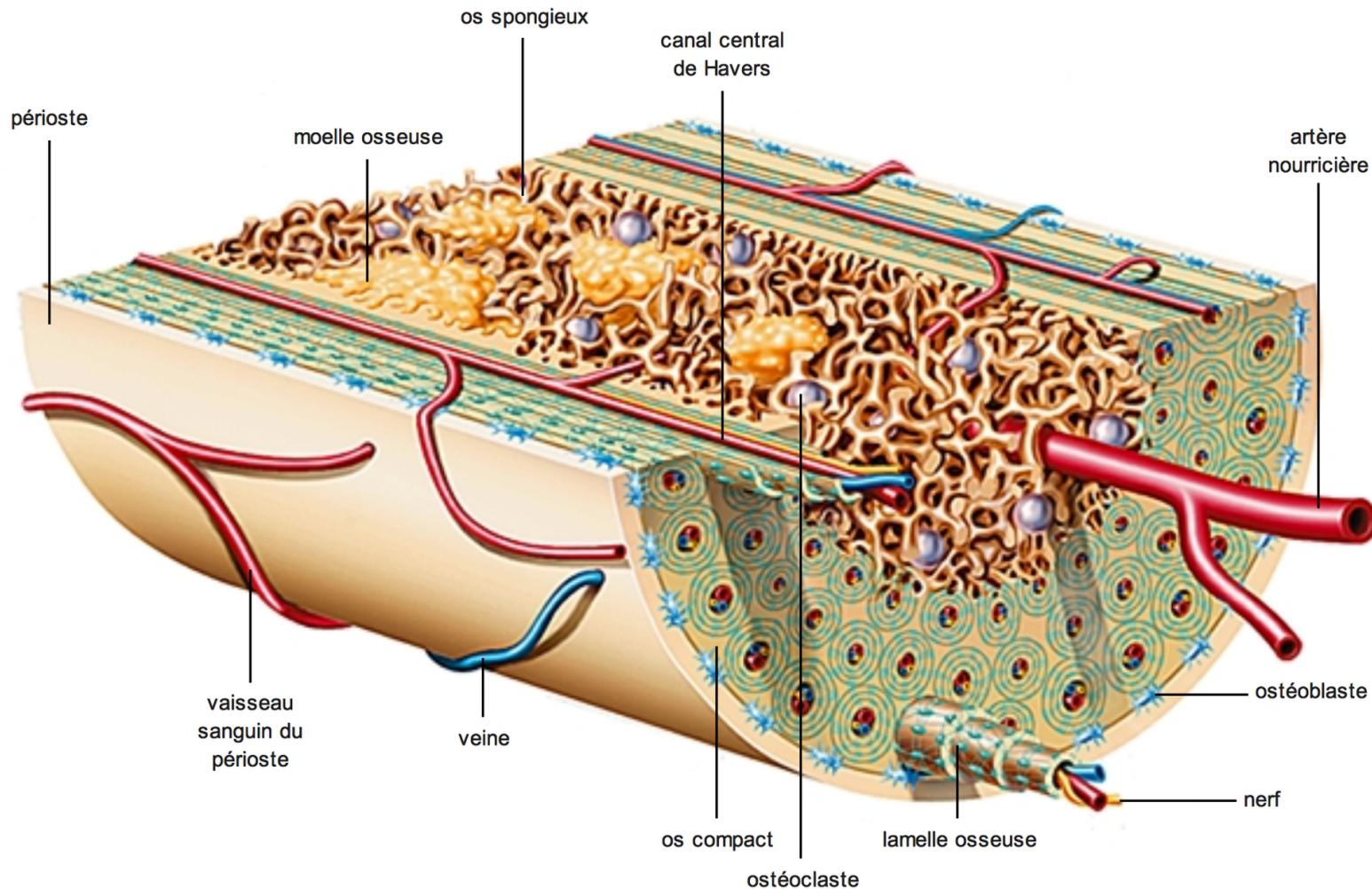
Structure(s) et architecture(s) de l'os - échelle macroscopique

- *Os longs, plats, courts, irréguliers*

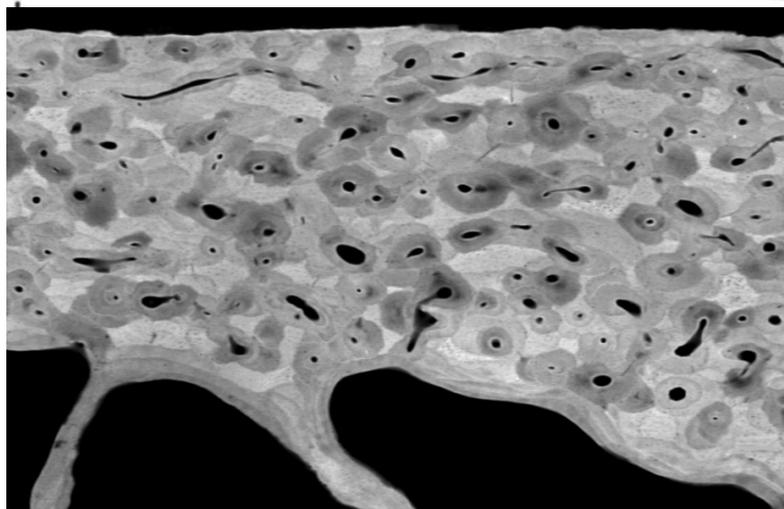
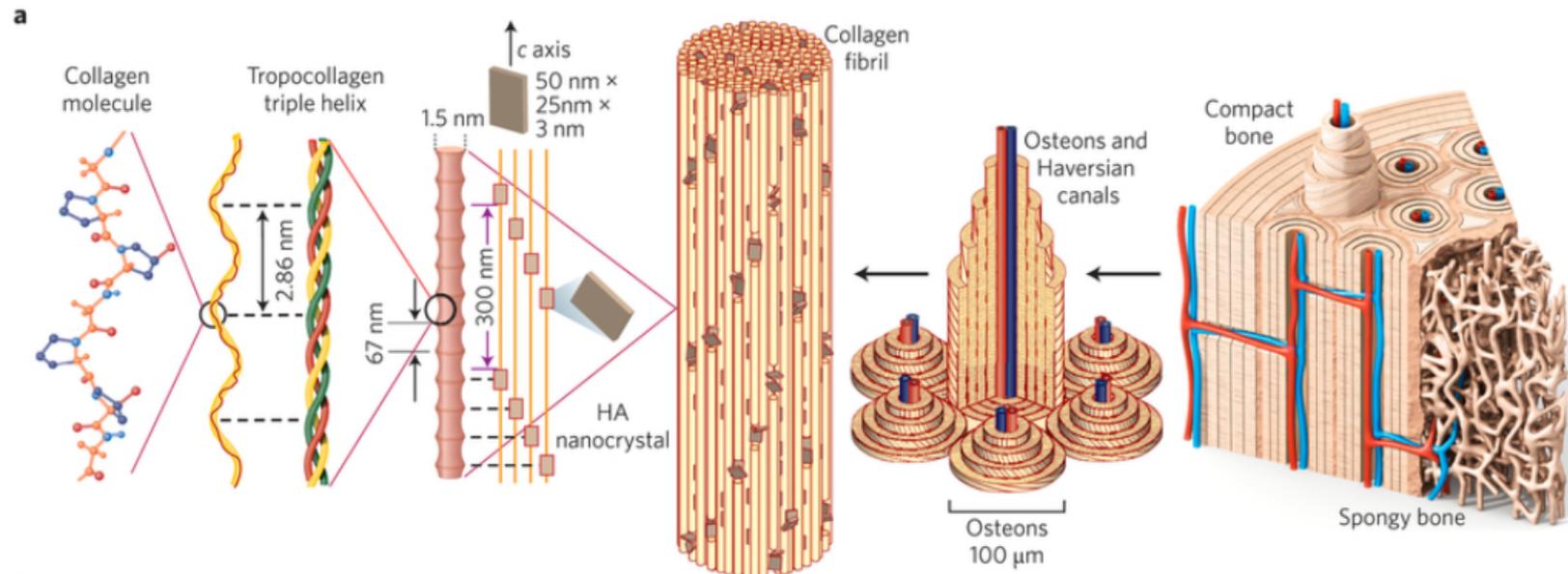


- *Os cortical : compact, solide, peu poreux (< 15%)*
- *Os trabéculaire (spongieux) : fragile, poreux (> 70 %)*

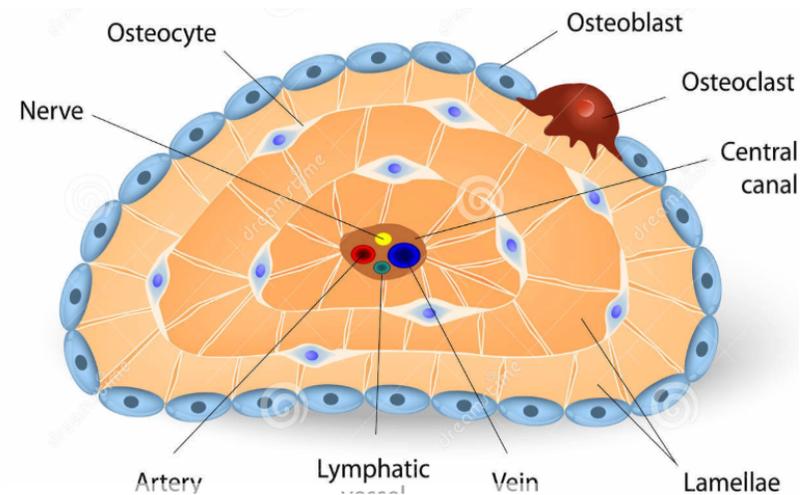
Structure(s) et architecture(s) de l'os - ostéons



Structure(s) et architecture(s) de l'os - échelle microscopique

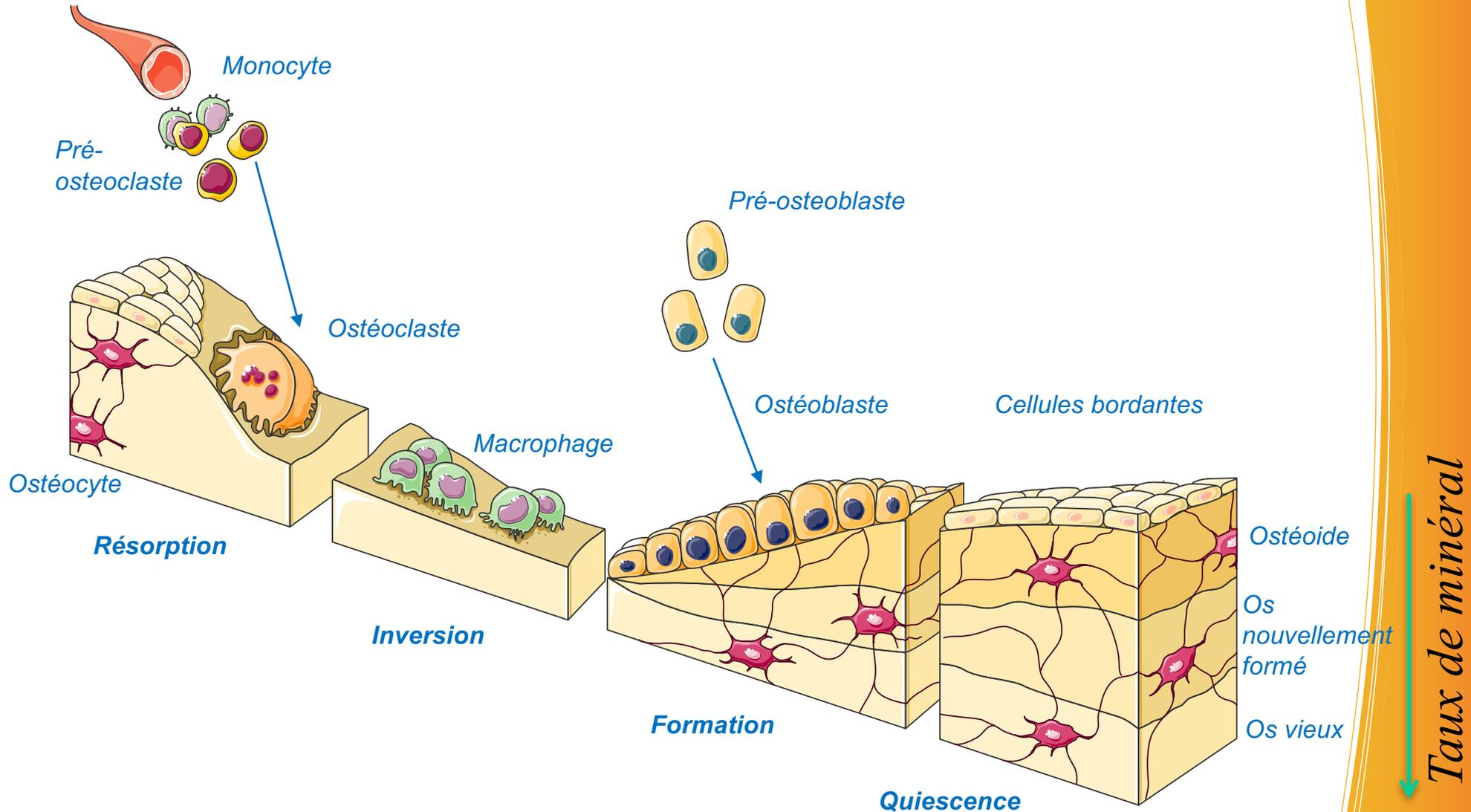


Crédit : Georges Boivin, LYOS, Univ. Lyon



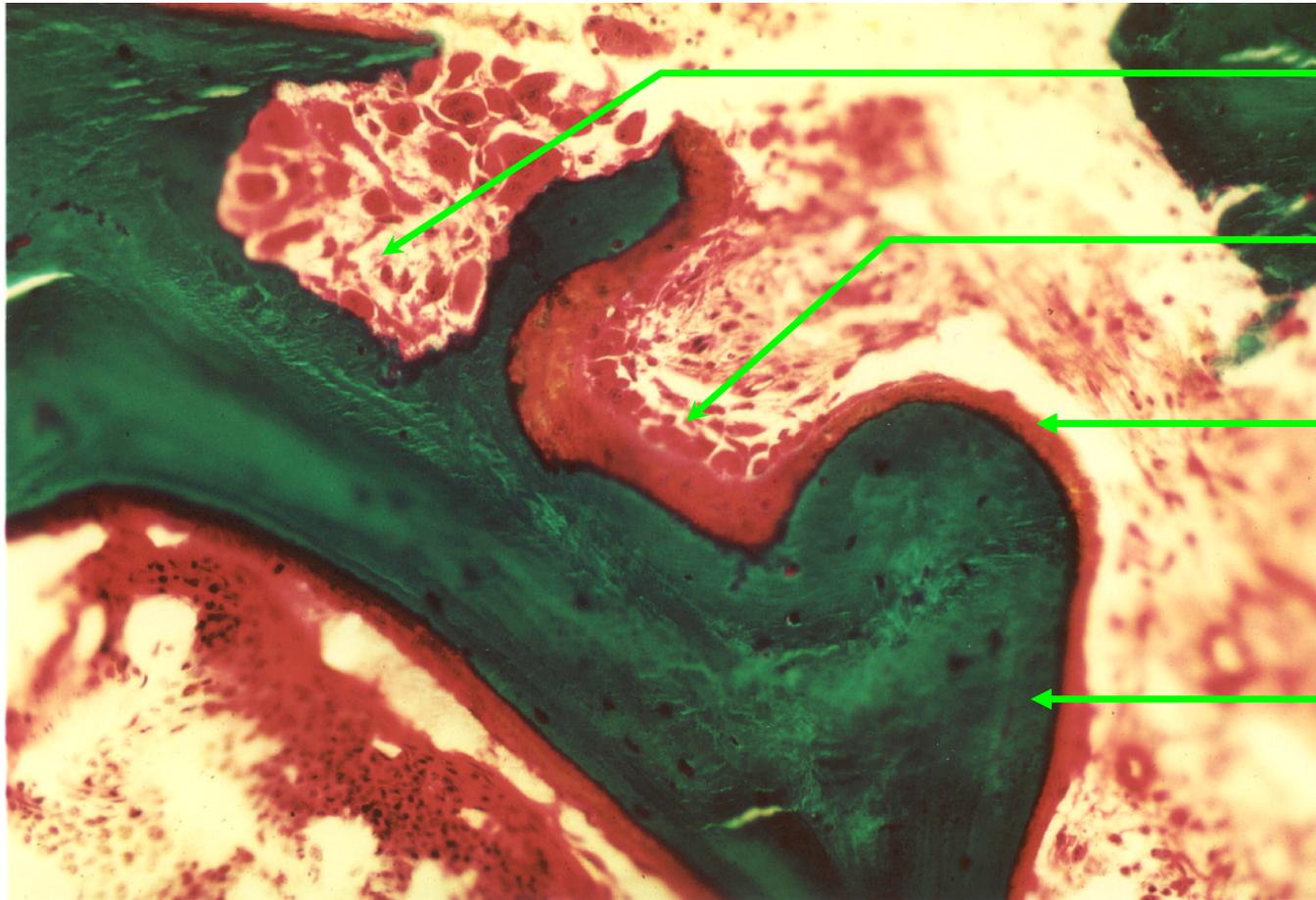
Adapted From
[Bioinspired structural materials](#)
 Ulrike G. et al.
 Nature Materials 14, 23-36 (2015)

Cellules osseuses et remodelage osseux



L'os est en perpétuel remodelage (10% / an à l'âge adulte)

Cellules osseuses et remodelage osseux



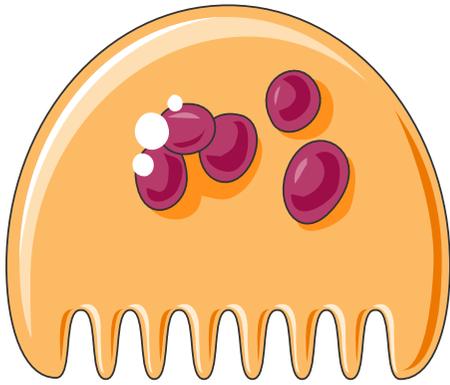
Ostéoclastes
(résorption)

Lignée d'ostéoblastes
(repousse)

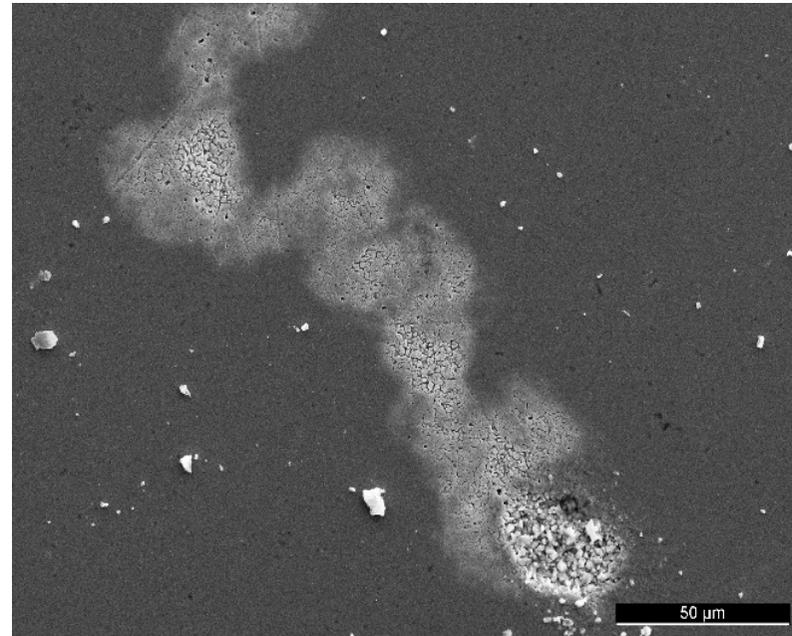
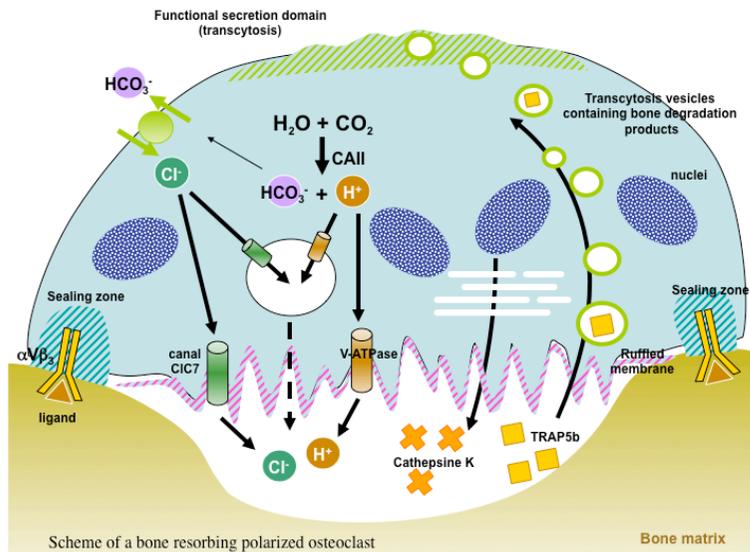
Os néoformé (tissus)

Os minéralisé (' HAP '

Cellules osseuses et remodelage osseux Rôle des ostéoclastes : résorption du minéral osseux

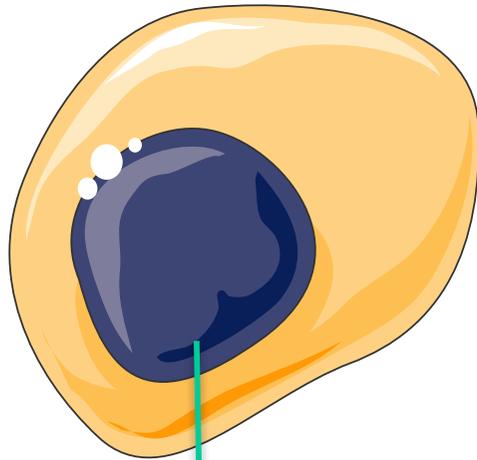


Grosses cellules multi-nucléées (> 50 microns)
pH = 4-5 (acide : dissolution de l'apatite)

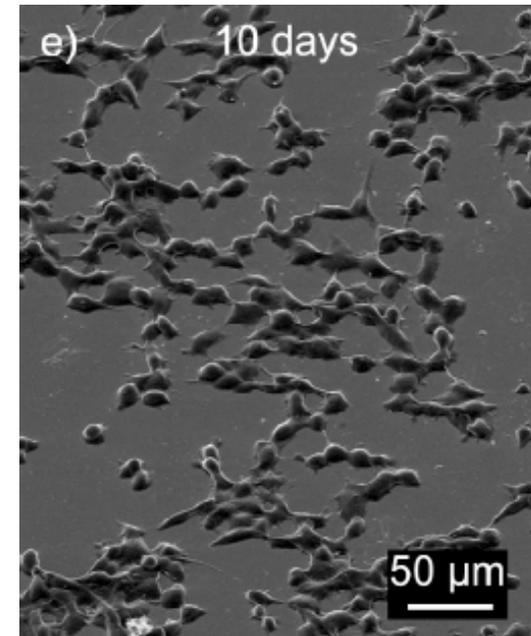
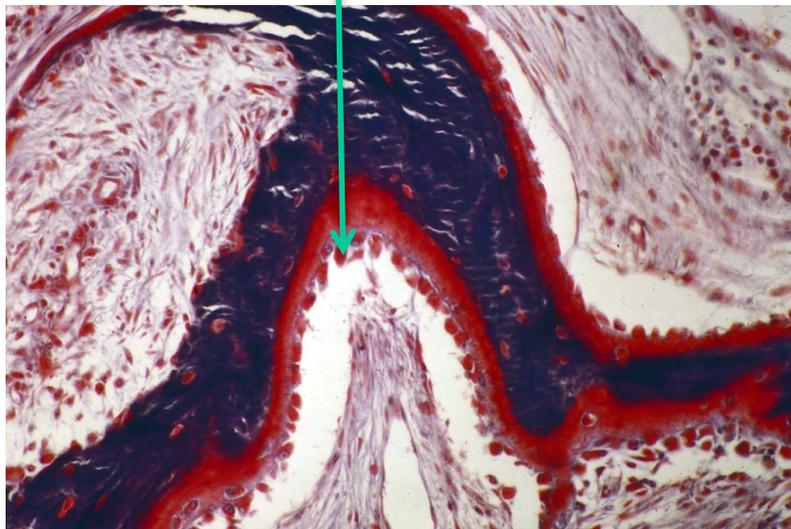


Trace laissée par un ostéoclaste à la surface
d'une biocéramique HAP (crédit Marc Bohner, RMS fondation, Suisse)

Cellules osseuses et remodelage osseux Rôle des ostéoblastes : reconstruction matrice osseuse



Plus petites cellules (un noyau) < 30 Microns
Dépôt matrice osseuse, qui se minéralisera ensuite



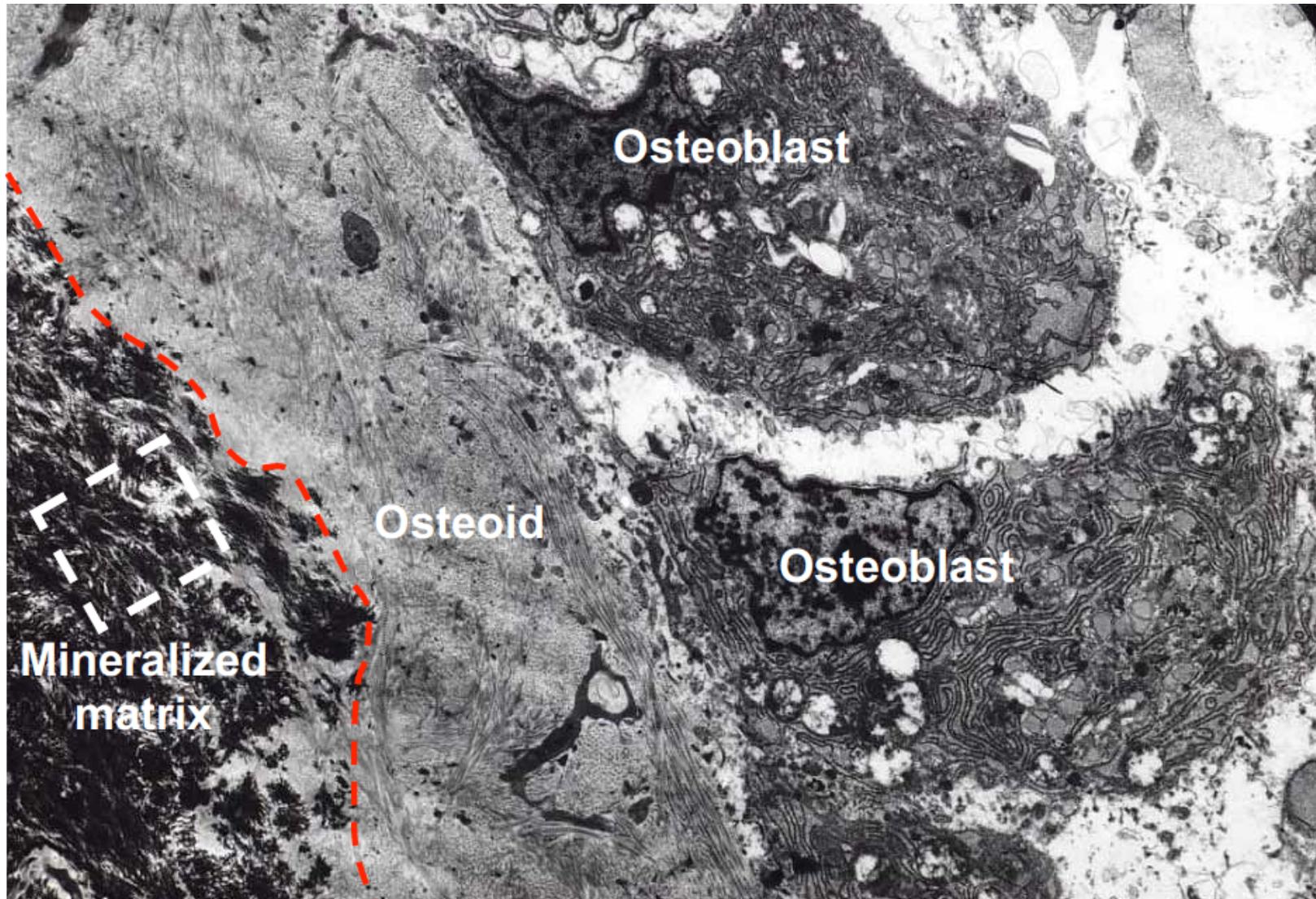
Culture ostéoblastes sur un biomatériau (C. Caravaca, MATEIS, INSA Lyon)



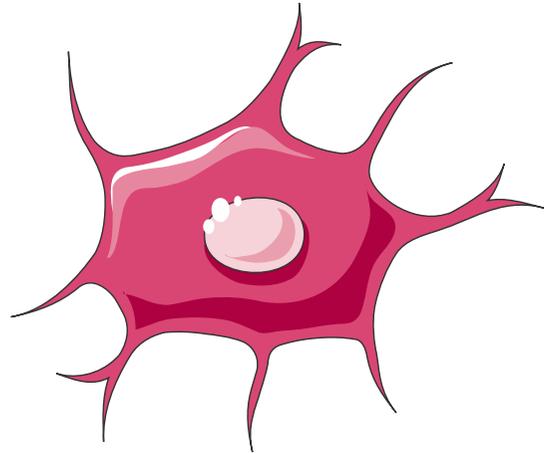
Culture ostéoblastes sur un biomatériau – synthèse matrice EC en fond de porosité. (L. Juignet, CIS Saint Etienne)

Cellules osseuses et remodelage osseux

Rôle des ostéoblastes : reconstruction matrice osseuse



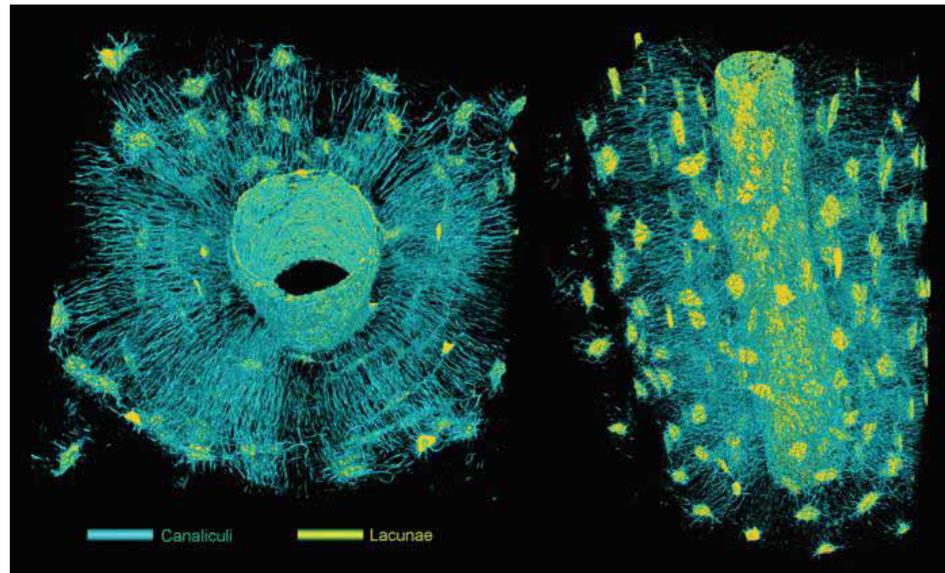
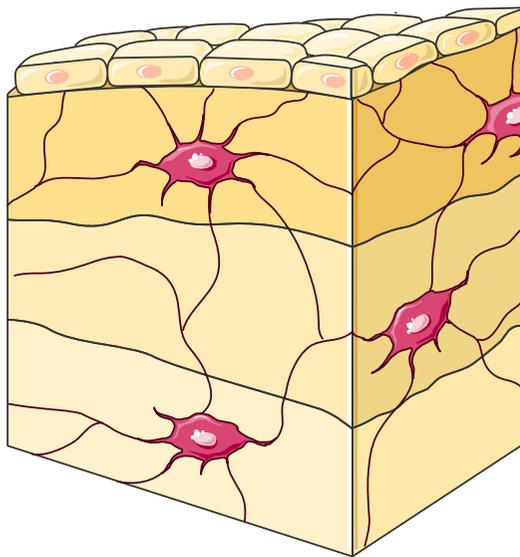
Cellules osseuses et remodelage osseux Les ostéocytes : des mécano-récepteurs



L'ostéocyte dérive de l'ostéoblaste. Il est 'emprisonné' dans la matrice minéralisée.

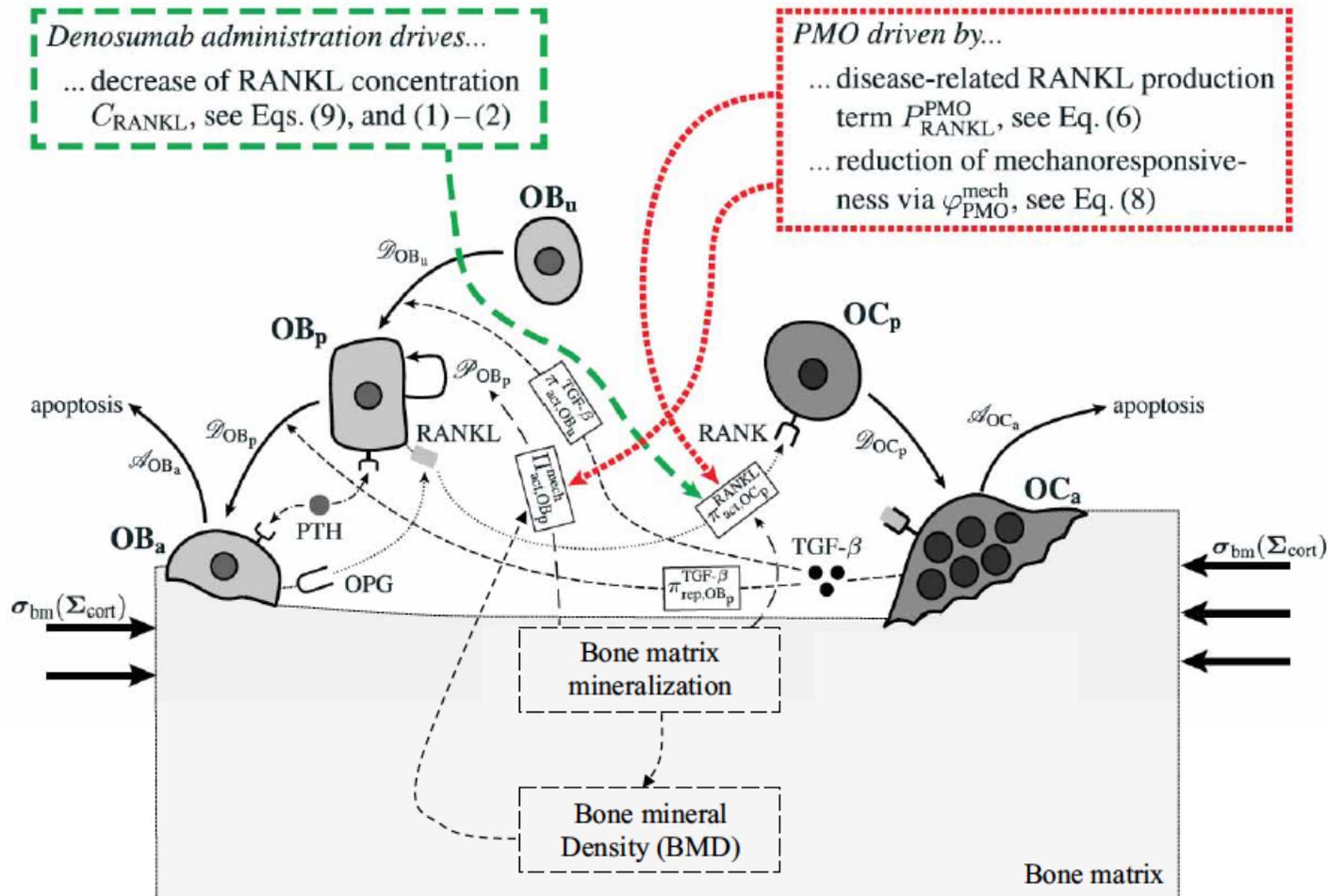
Les ostéocytes forment un réseau, via des prolongements (jonctions communicantes)

Ils jouent (entre autres) un rôle de mécano-récepteurs.

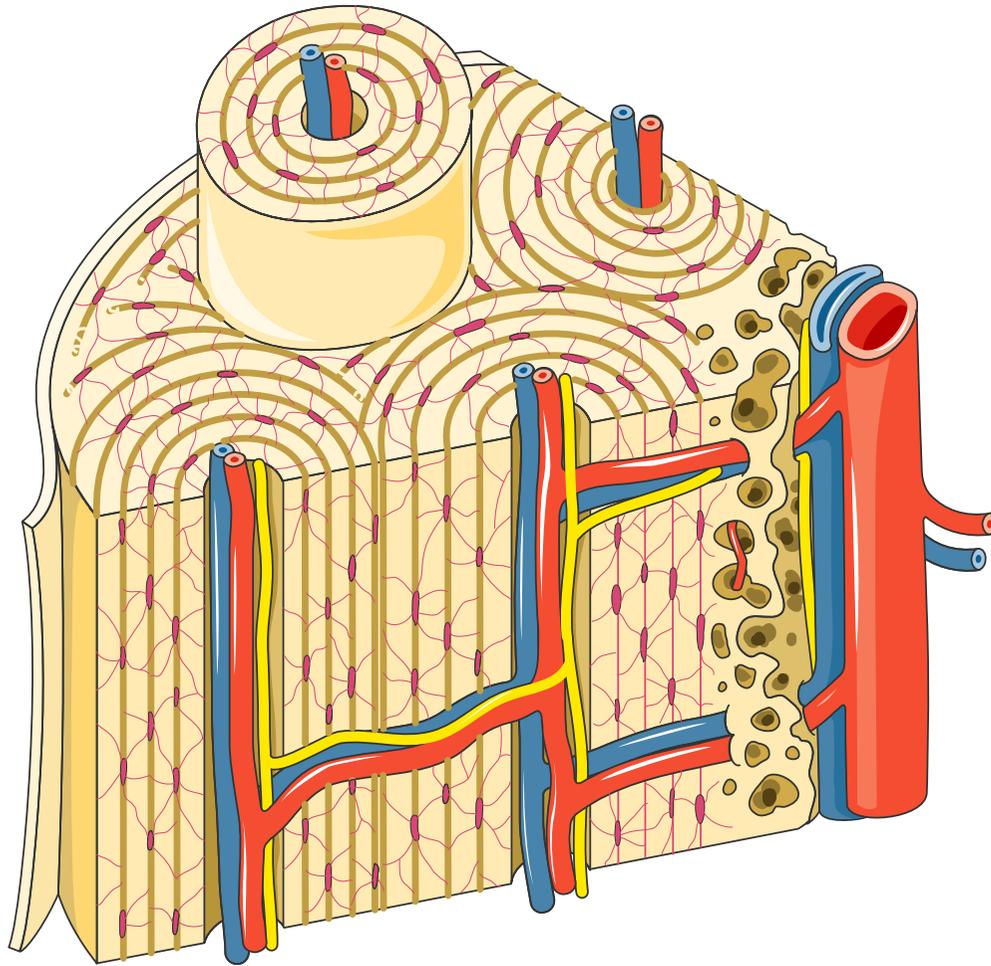


Crédit Françoise Peyrin, CREATIS, Univ. Lyon

Interactions biologiques Médiateurs chimiques, etc...



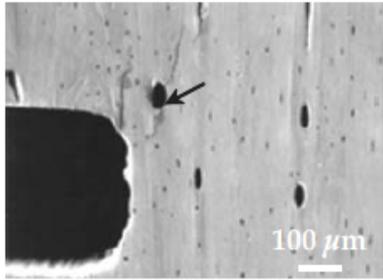
Courtesy of P. Pivonka, T.J. Martin & N. Sims (SVI, Melbourne, Australia)



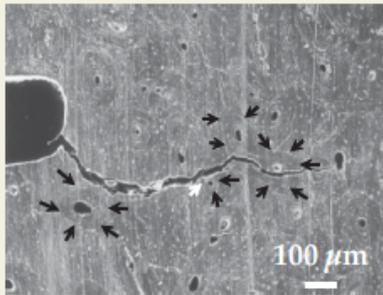
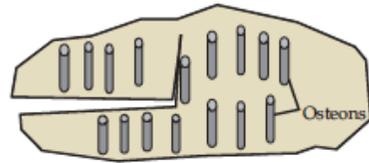
En résumé :

- *Tissu complexe et multi-échelles*
- *Composite naturel HA-Collagène*
- *Perpétuel remodelage,*
- *Cellularisé,*
- *Vascularisé.*

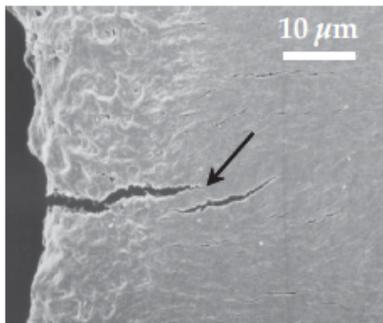
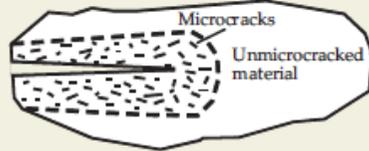
Différents mécanismes de renforcement de l'os



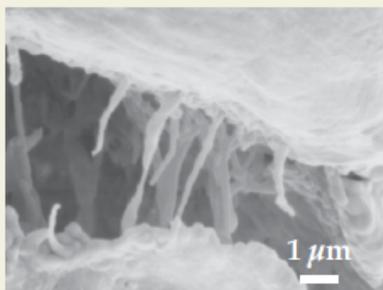
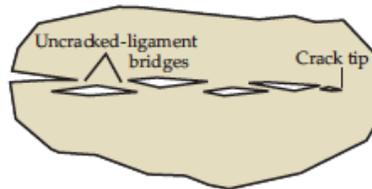
Crack deflection and twist



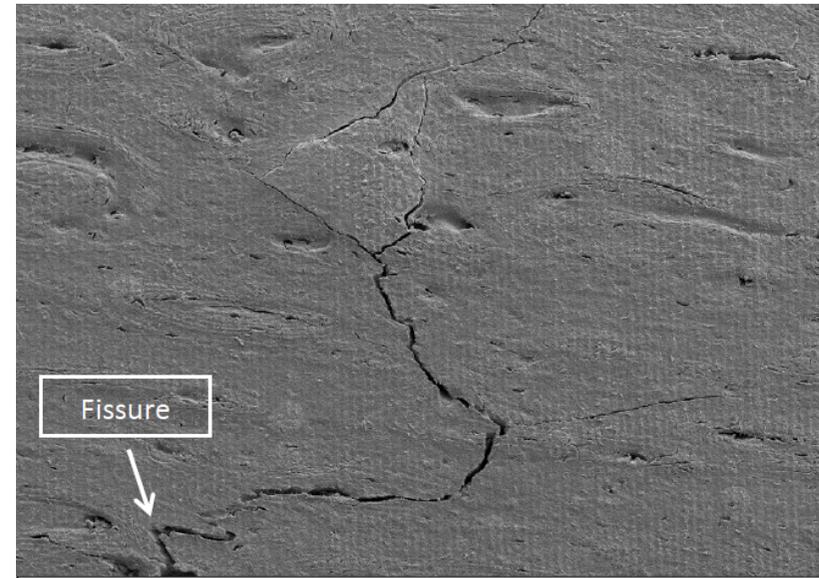
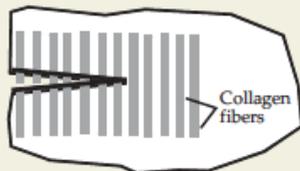
Constrained microcracking



Uncracked-ligament bridging

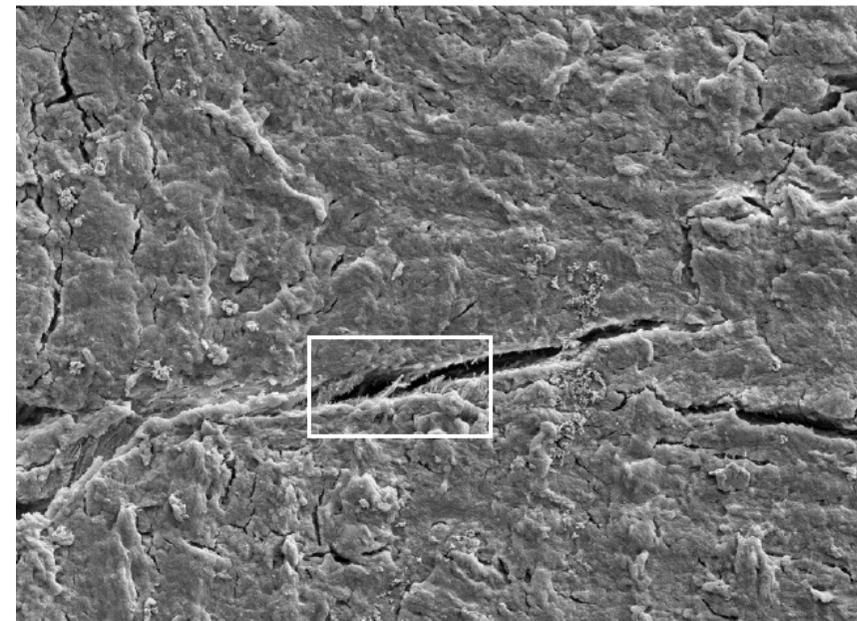


Collagen-fibril bridging



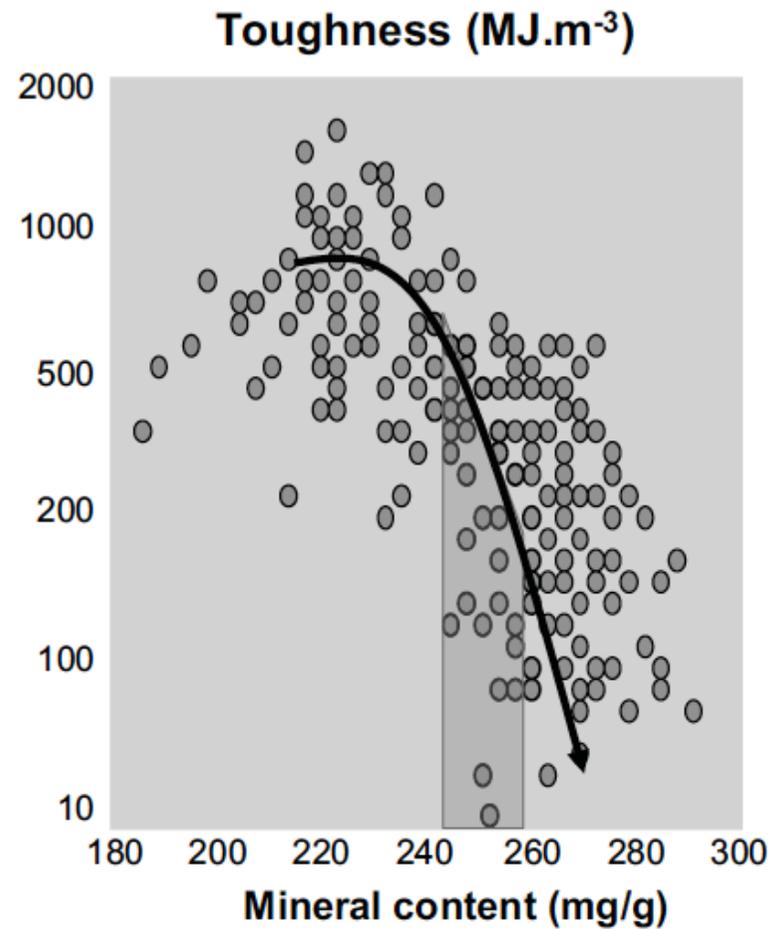
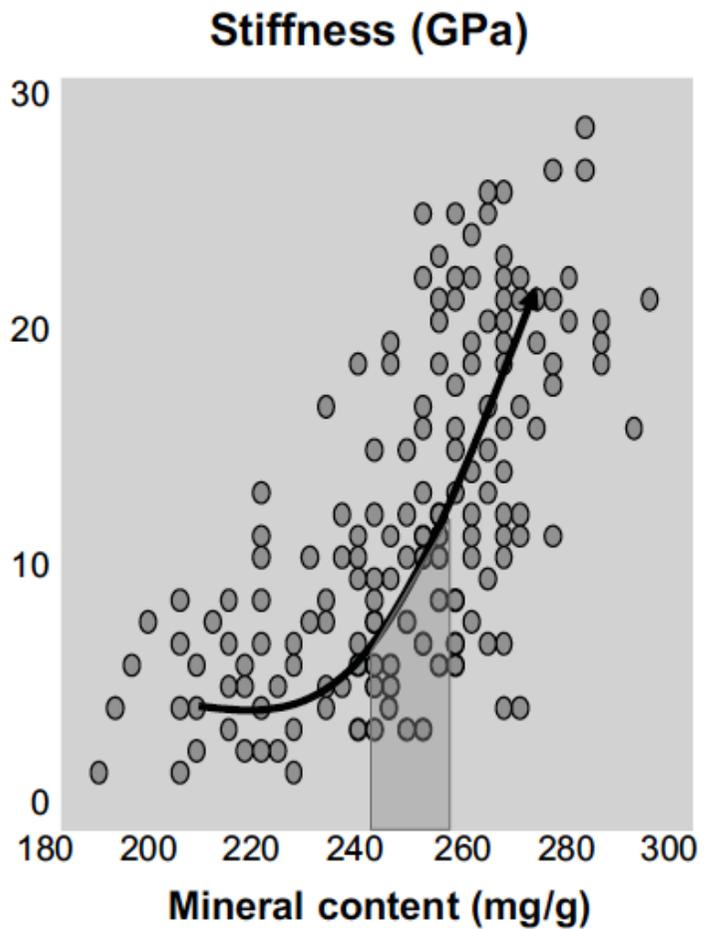
EHT = 8.00 kV Signal A = SE2 Date :
WD = 9.3 mm Grand. = 99 X Heure : Quasi-static

PFE Alice Garnero, INSA Lyon



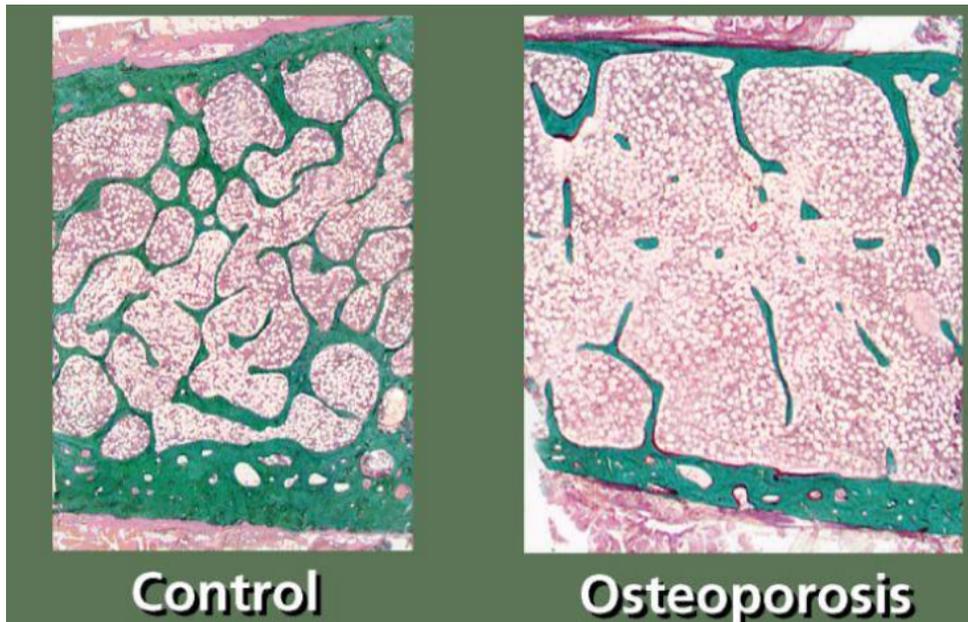
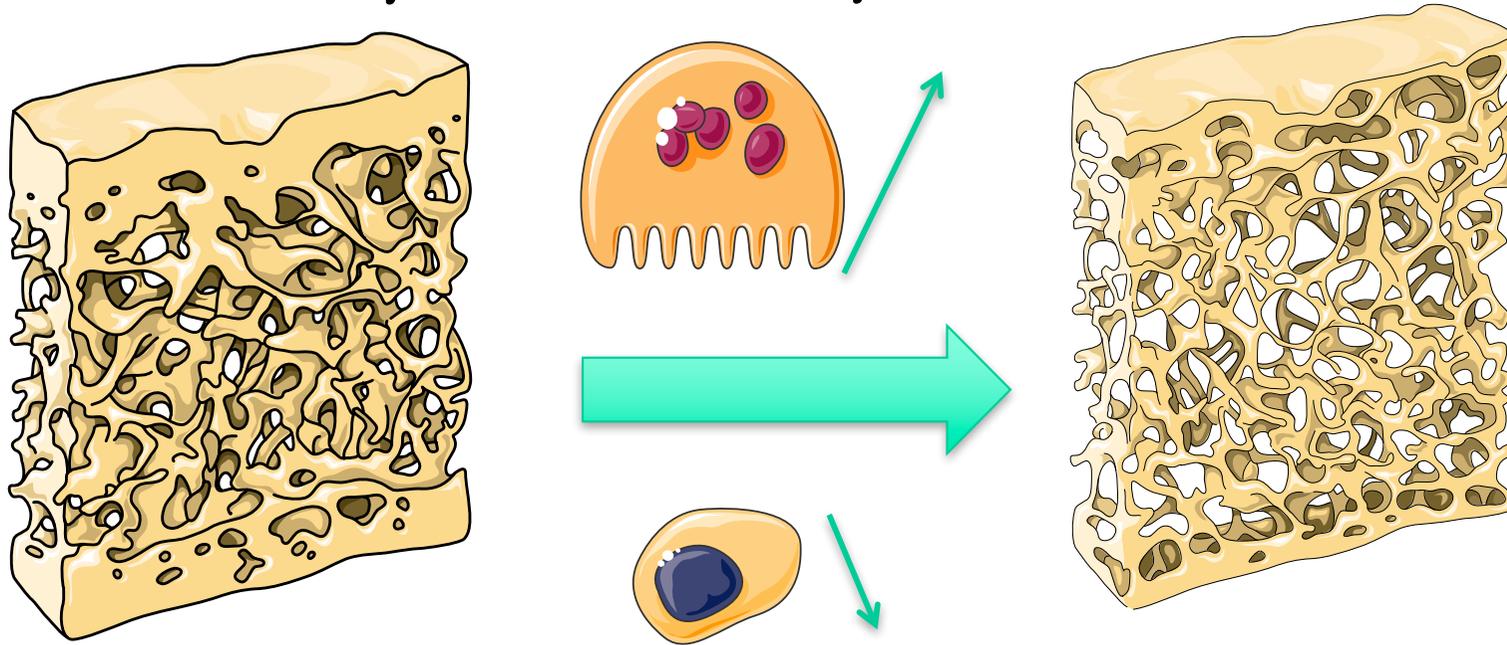
EHT = 8.00 kV Signal A = SE2 Date : 9 Mars 2016
WD = 9.3 mm Grand. = 1.00 K X Heure : 9:53:13

Adapté de : Ritchie et al. Berkeley, USA



Mineral brings stiffness in tension and compression but dramatically reduces toughness.

Ostéoporose : déséquilibre cellulaire

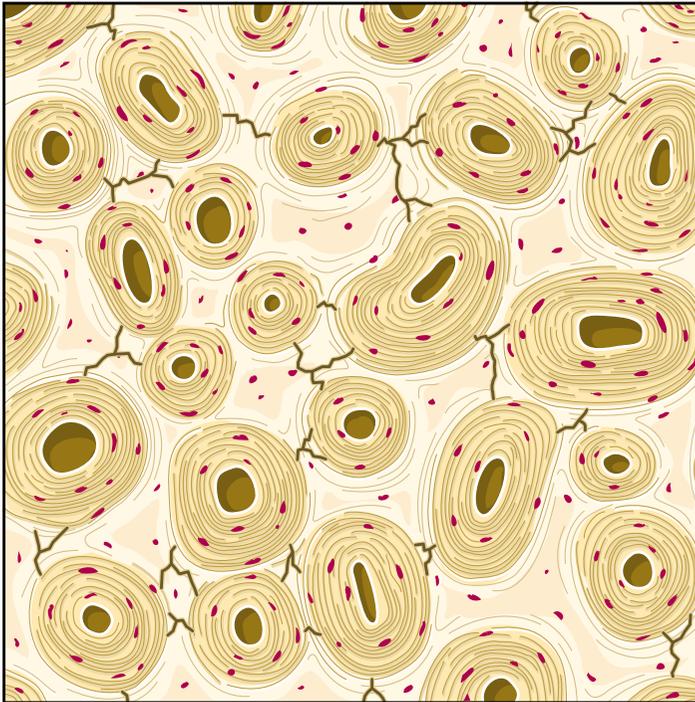


Control

Osteoporosis

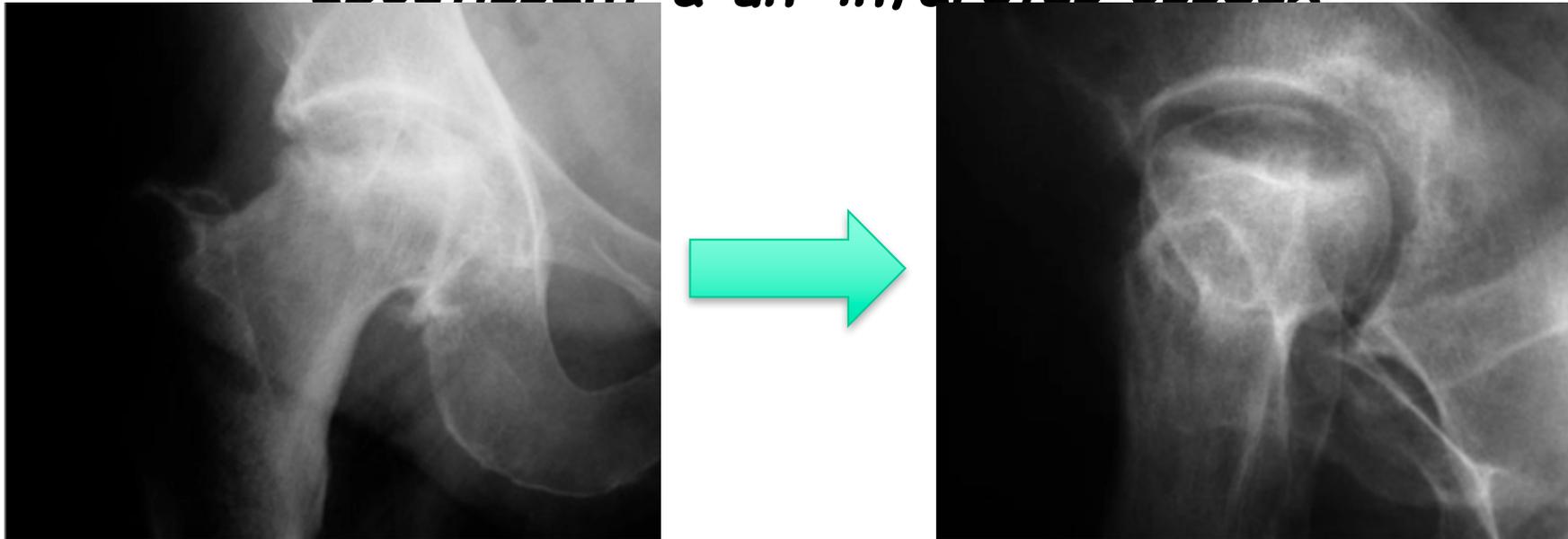
*Diminution quantité
ET qualité osseuse*

Vieillesse : fragilité accrue et micro-fissurations



Ostéo-nécrose

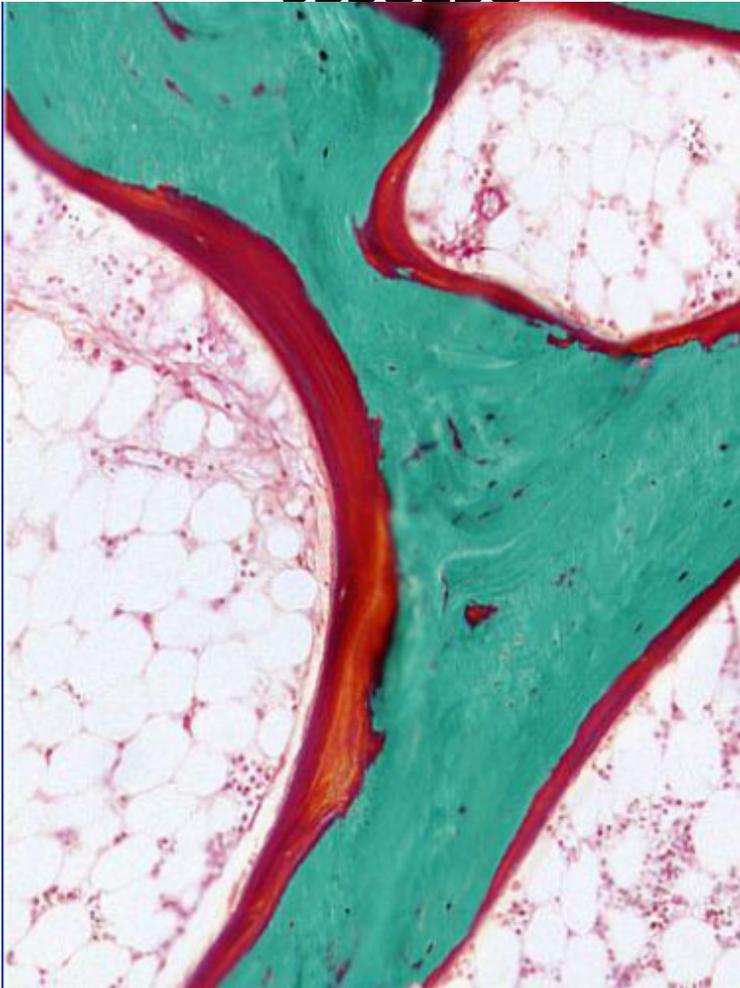
Mort d'un fragment de tissu osseux, due à une interruption de la circulation sanguine, aboutissant à un 'infarctus osseux'



L'ostéonécrose de la tête fémorale est assez fréquente

Ostéomalacie

*Défaut de
minéralisation
osseuse*

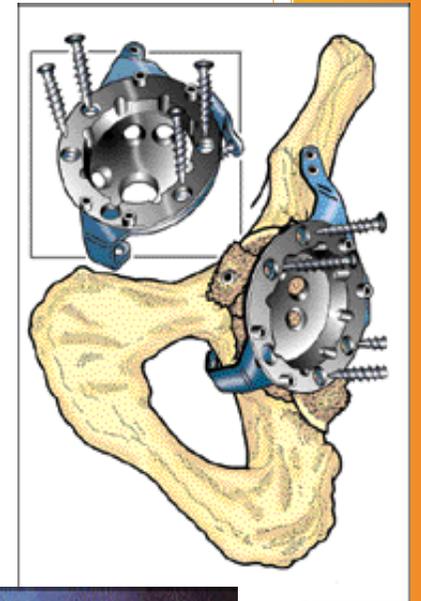
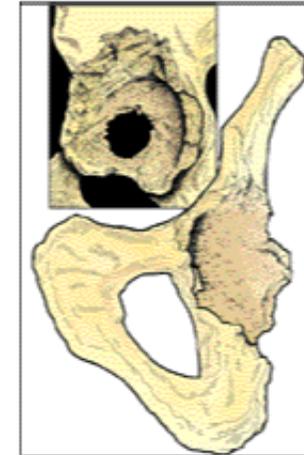


Ostéosarcome

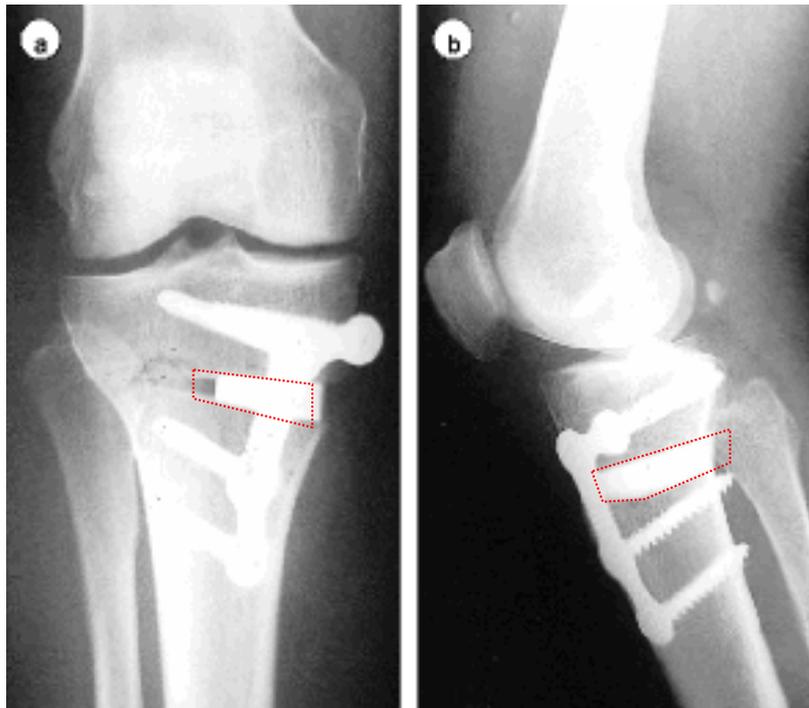
(cancer des os)



Reprise de prothèse (perte osseuse progressive - ostéolyse)



Déformations / dégénérescences nécessitant un comblement



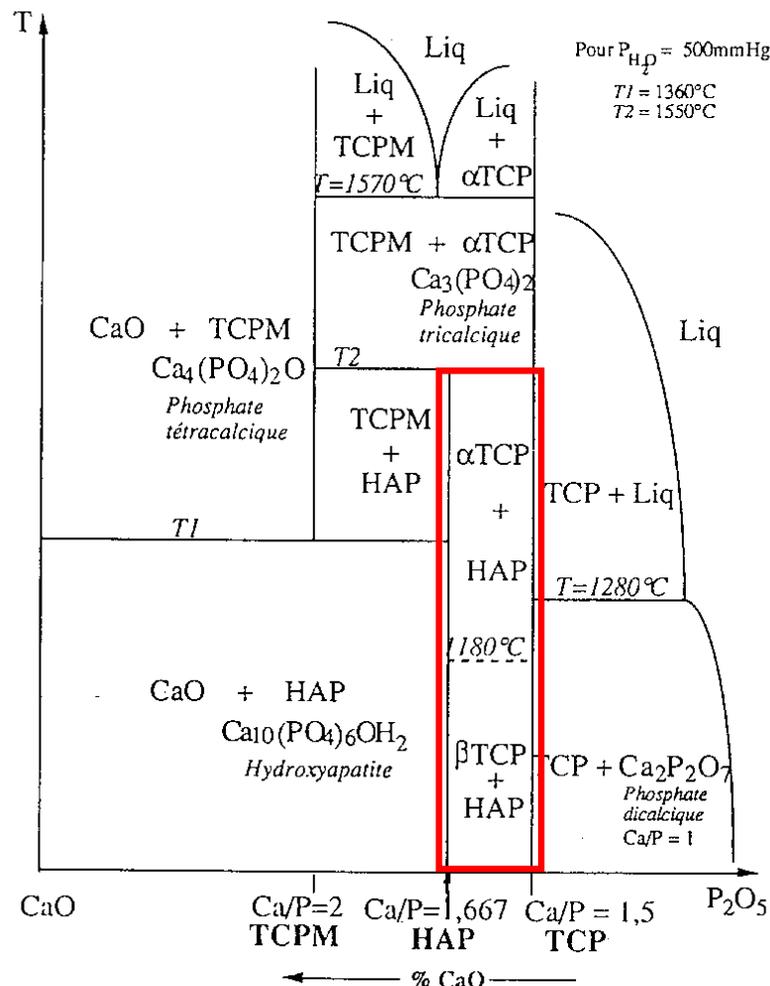
Ostéotomie tibiale



Cage de 'fusion'

Céramiques 'bioactives' : céramiques dont la composition chimique se rapproche de la partie minérale de l'os

Céramiques phospho-calciques (frittées, sous forme de ciments ou de revêtements)



Hydroxyapatite (peu résorbable) : HAP



Tricalcium phosphate (résorbable) :

TCP

α-TCP and β-TCP



autres : DCPD (brushite), DCPA (monétite), ...

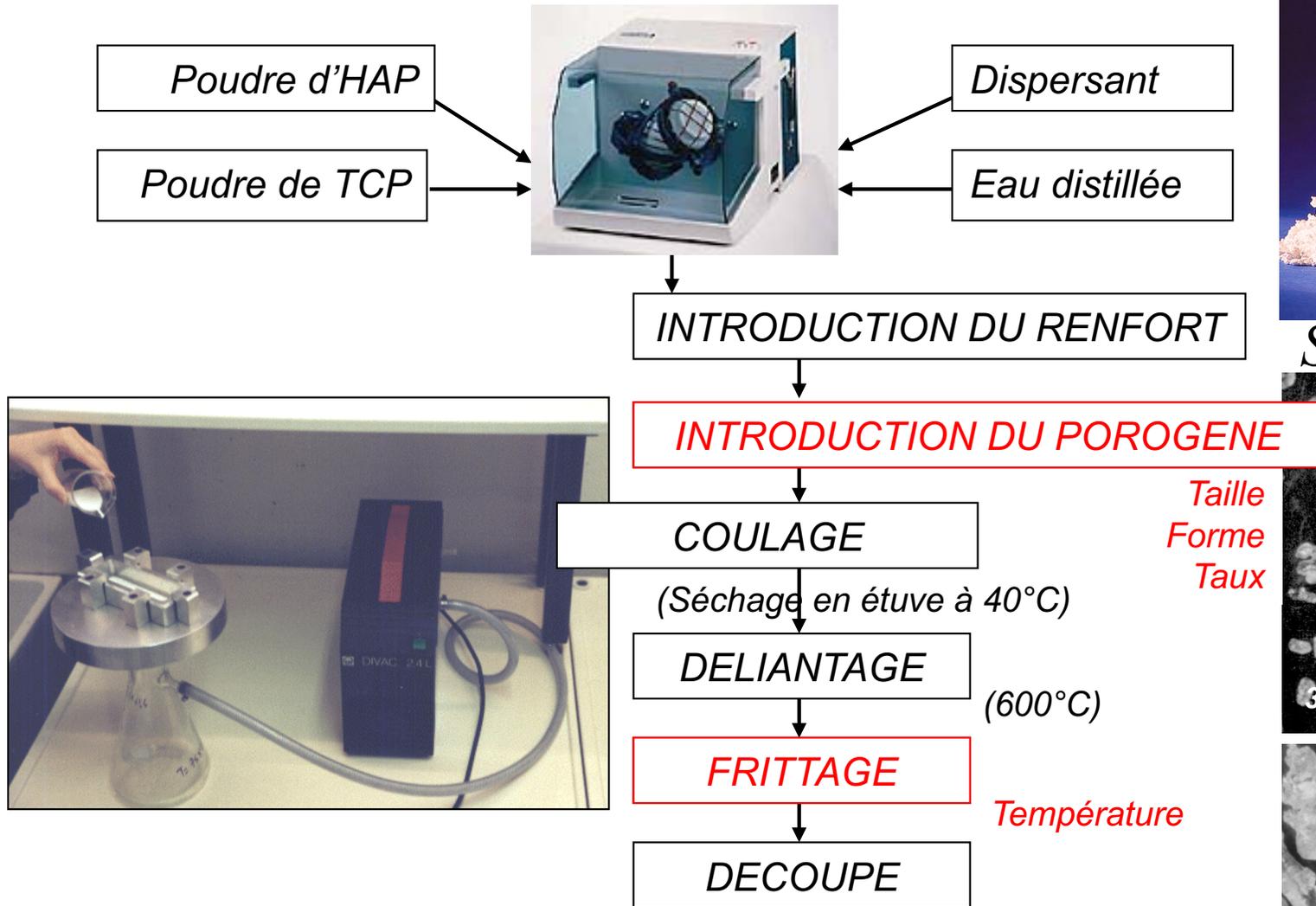
HAP carbonatées, silicatées, etc...

Synthèse assez 'naturelle' : la précipitation de CaP se fait aisément à pH physiologique.

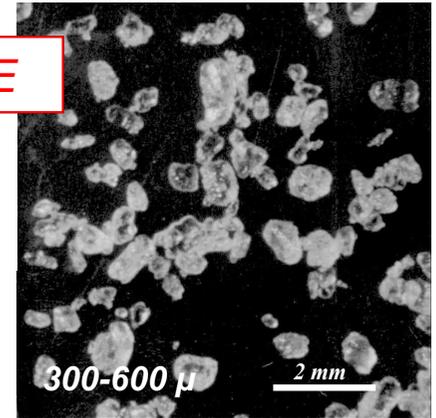
Fig. 4 Diagramme de phases du système CaO-P₂O₅ phases cristallines des différents phosphates calciques présents en fonction de la composition et de la température.

| <u>name</u> | <u>acronym</u> | <u>formula</u> | <u>Ca/P</u> |
|---|----------------|--|-------------|
| <u>Monocalcium phosphate monohydrate</u> | MCPM | $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ | 0.5 |
| <u>Dicalcium phosphate (anhydrous)</u> | DCPA | CaHPO_4 | 1.00 |
| <u>Dicalcium phosphate dihydrate</u> | DCPD | $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ | 1.00 |
| <u>Octacalcium phosphate</u> | OCP | $\text{Ca}_8\text{H}_2(\text{PO}_4)_6 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ | 1.33 |
| <u>Precipitated hydroxyapatite</u> | pHA or apatite | $\text{Ca}_{10-x}(\text{HPO}_4)_x(\text{PO}_4)_{6-x}(\text{OH})_{2-x}$ | 1.50-1.67 |
| <u>α-Tricalcium phosphate</u> | α -TCP | $\alpha\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ | 1.50 |
| <u>β-Tricalcium phosphate</u> | β -TCP | $\beta\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ | 1.50 |
| <u>Sintered hydroxyapatite</u> | HAp | $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{OH}$ | 1.67 |
| <u>Tetracalcium phosphate</u> | TetCP | $\text{Ca}_4(\text{PO}_4)_2\text{O}$ | 2.00 |

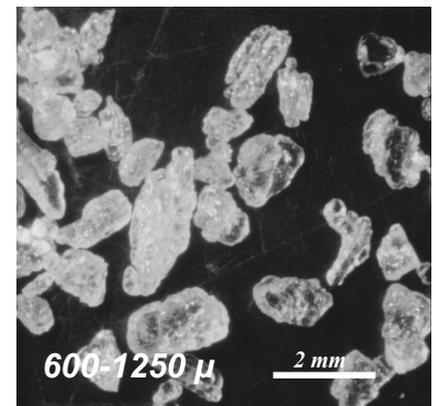
Phosphates de calcium frittés



Substituts Atlan



Taille
Forme
Taux



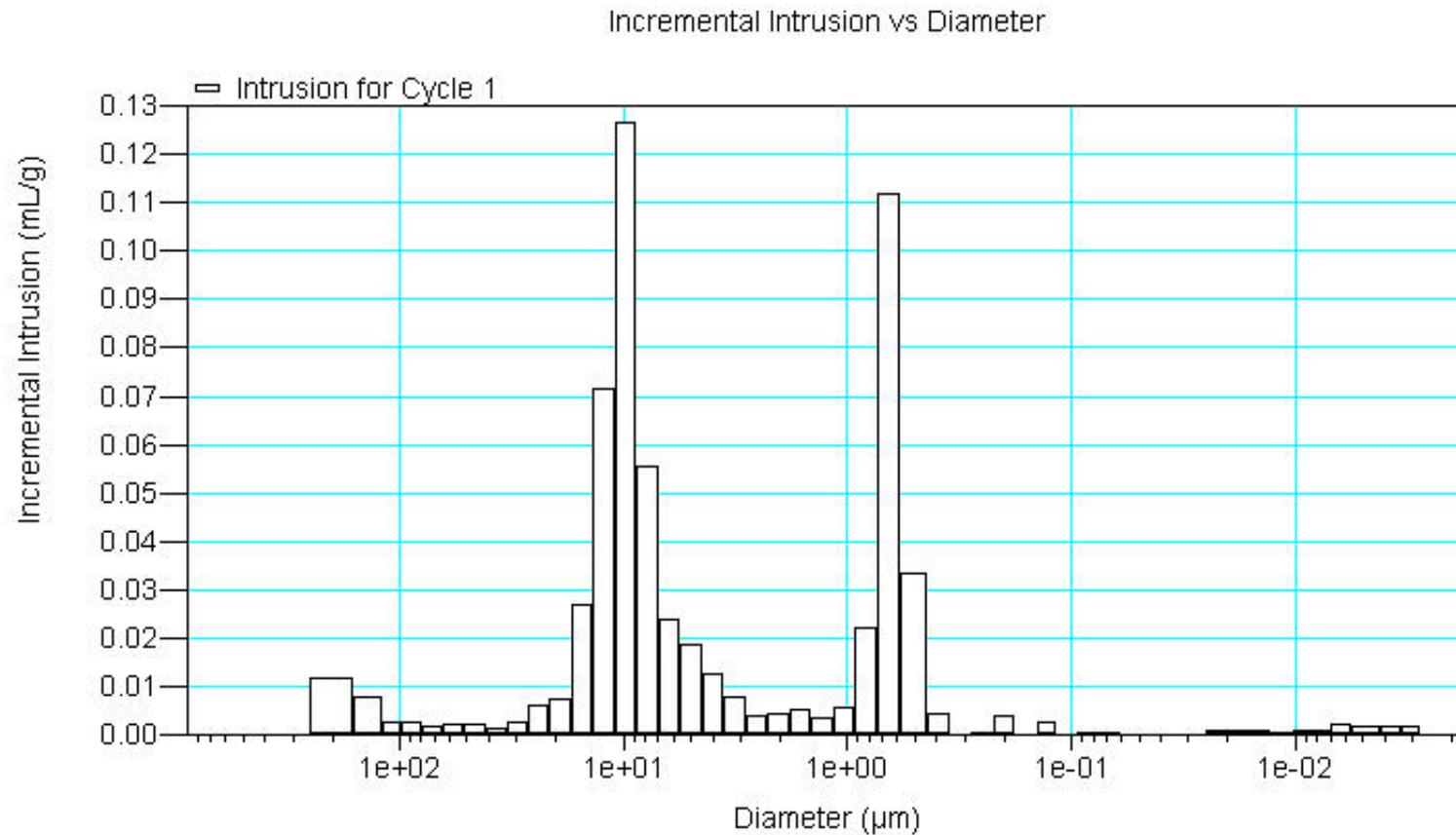
Température

Contrôle de la morphologie de la porosité

Macroporosité
Microporosité

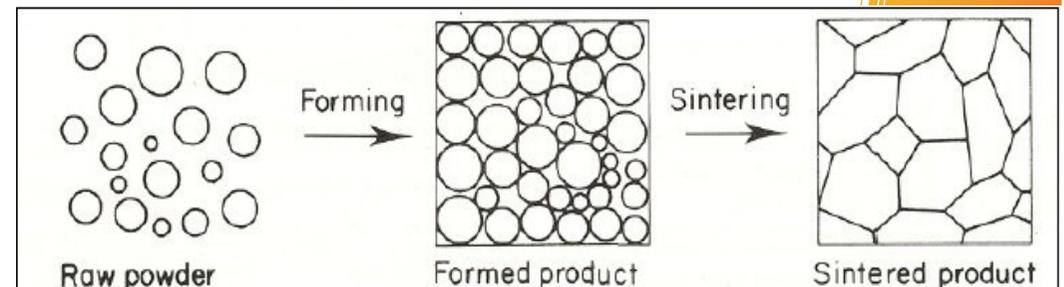
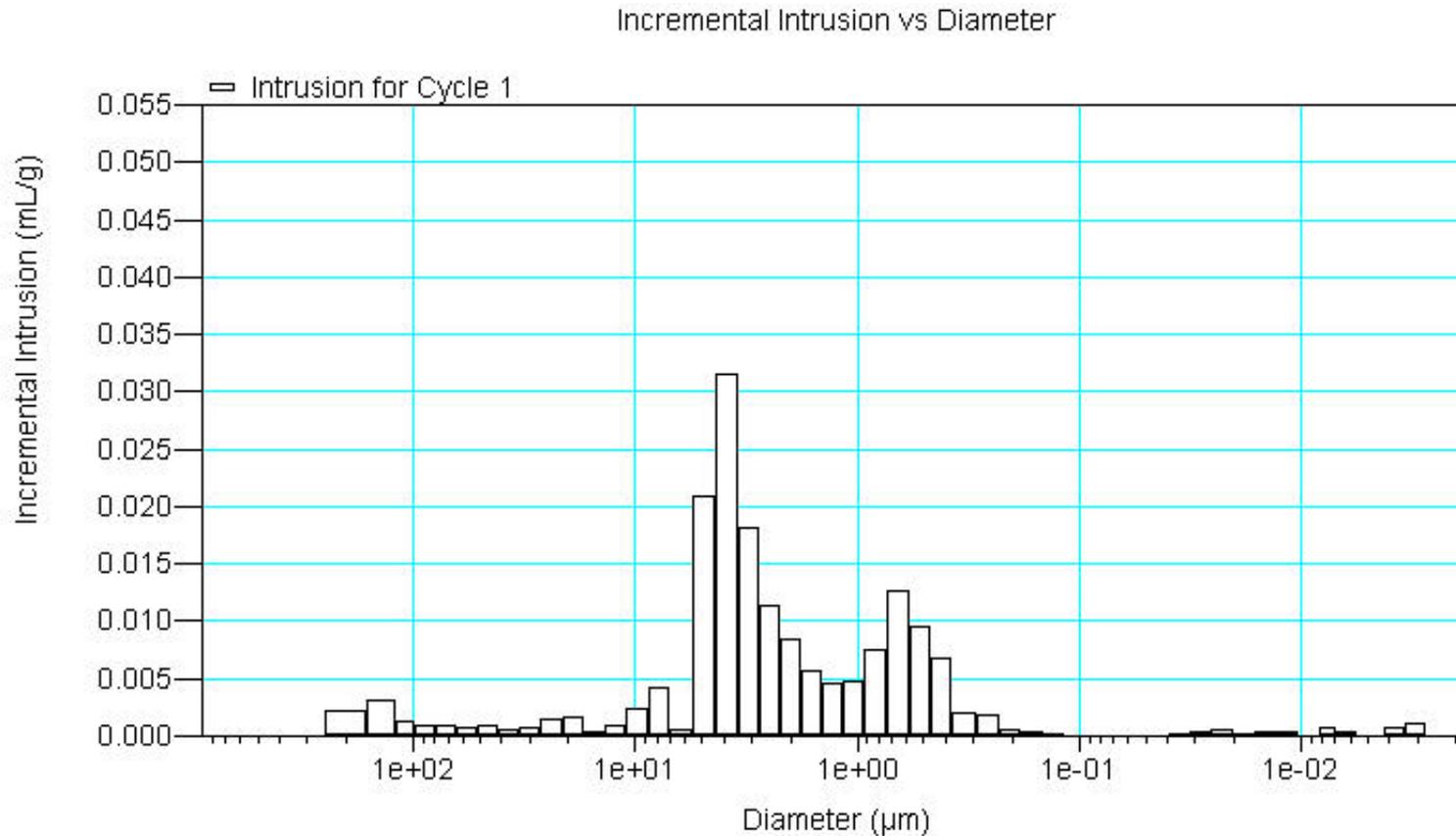
Macro-interconnection dans les phosphates de calcium

60 %

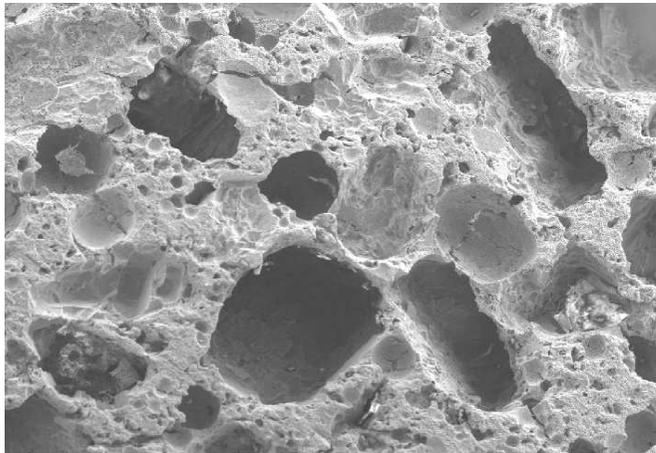


Micro-porosité dans les phosphates de calcium

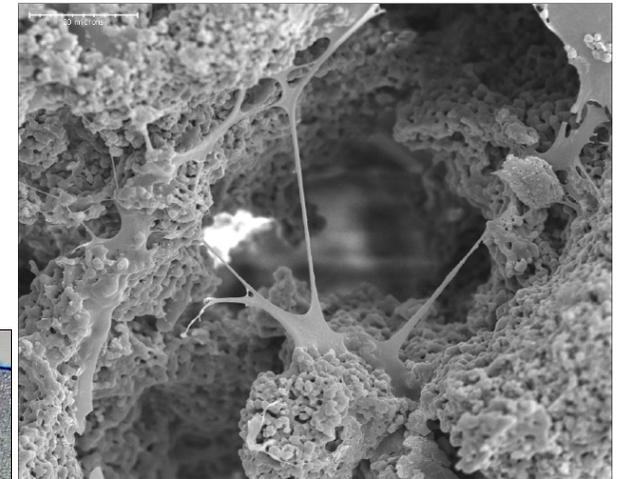
1250°C, 6h



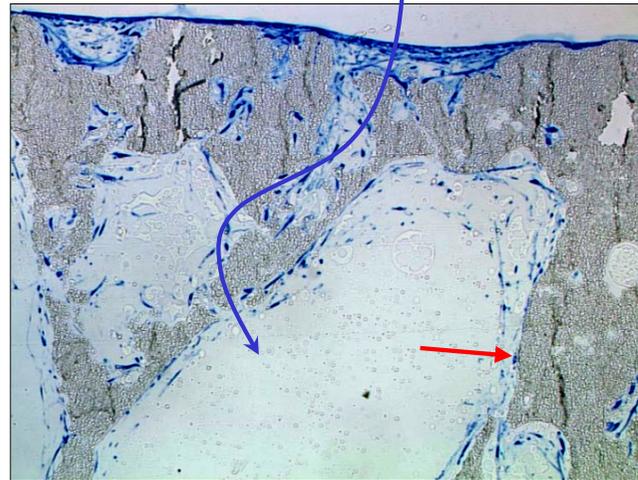
'Micro-' et 'macro-' porosité des phosphates de calcium



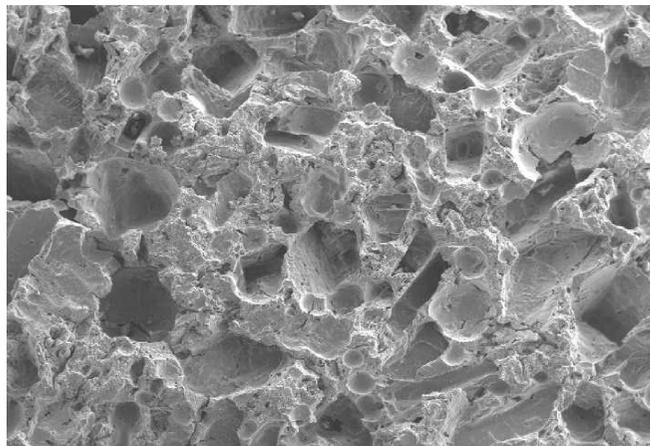
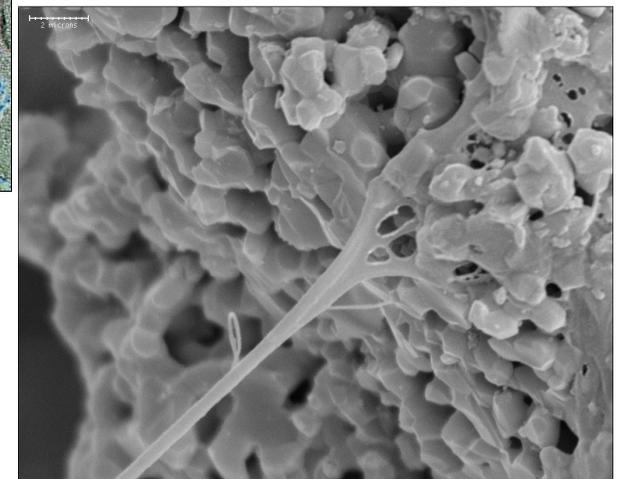
macro-interconnections



micro-porosité

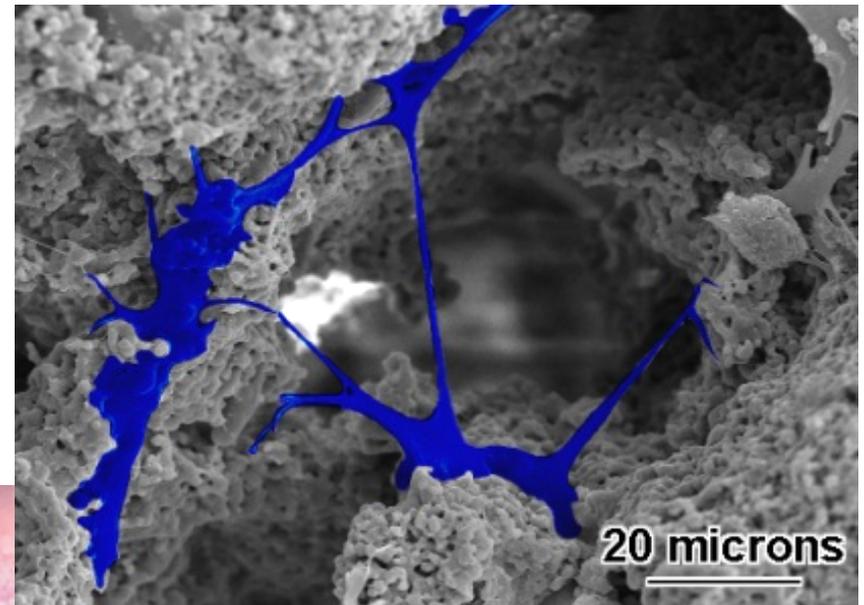
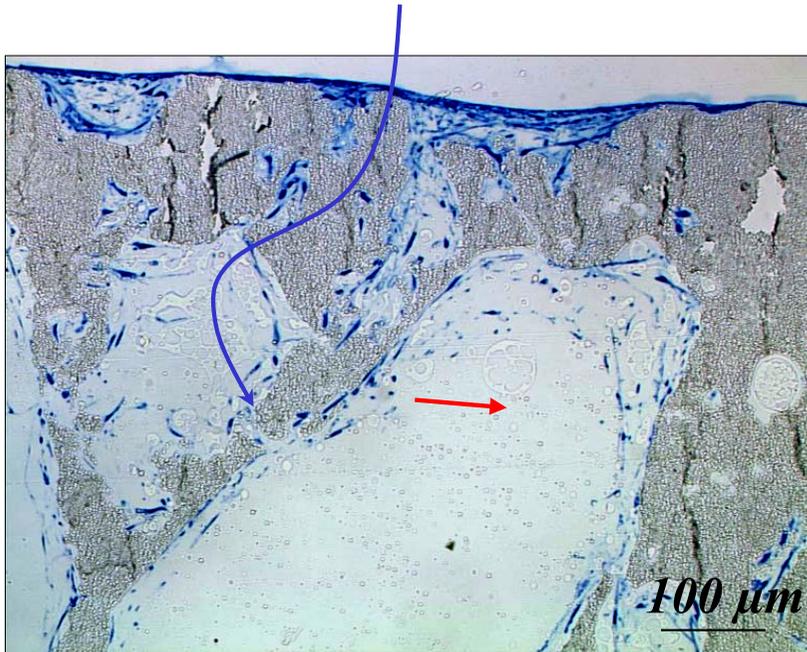


100 µm



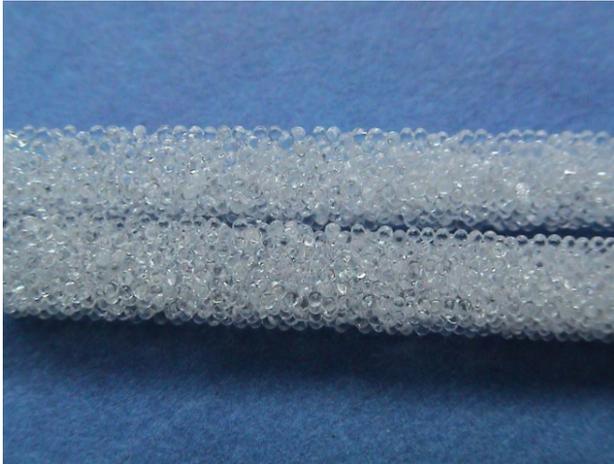
Effet de la macro- micro- (nano-) porosité (taille, taux, morphologie) sur :

- les propriétés mécaniques (néfaste)
- l'adhésion, la prolifération cellulaire et la repousse osseuse (impératif),
- la vascularisation

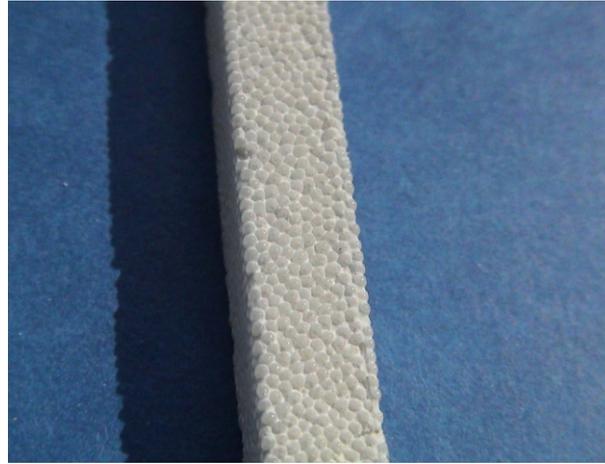


Crédit Didier Bernache, CIS EMSE

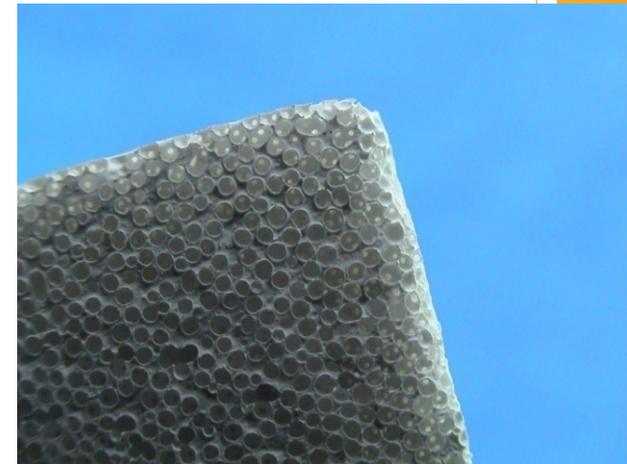
Infiltration d'une préforme organique par une barbotine



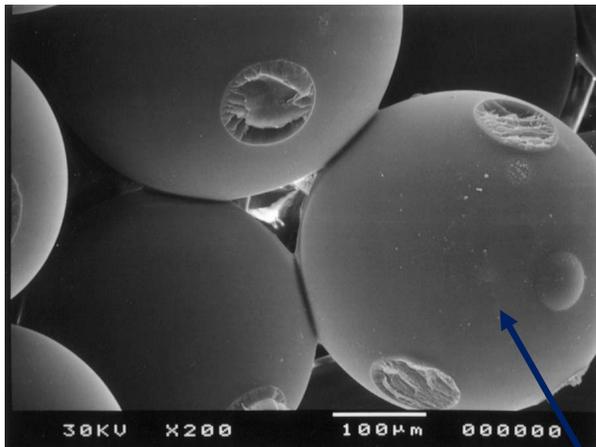
Shaping



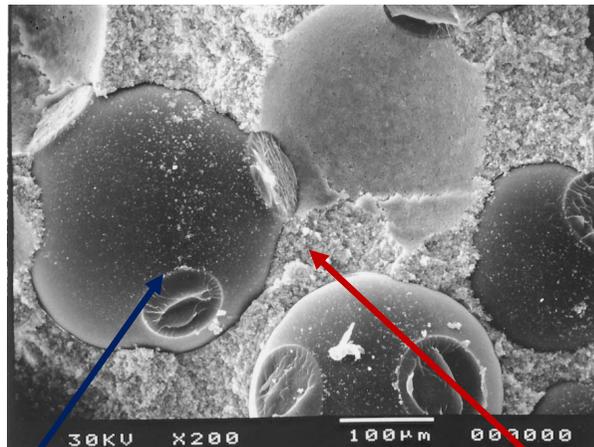
Impregnation



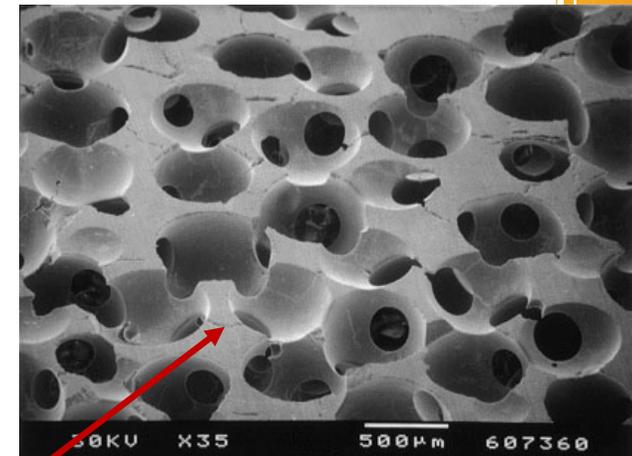
Debinding



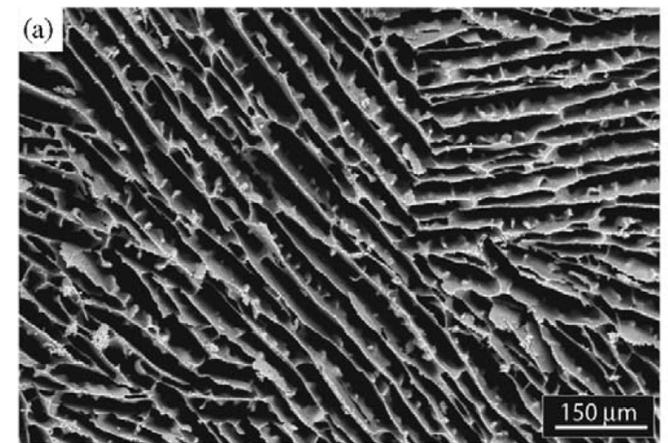
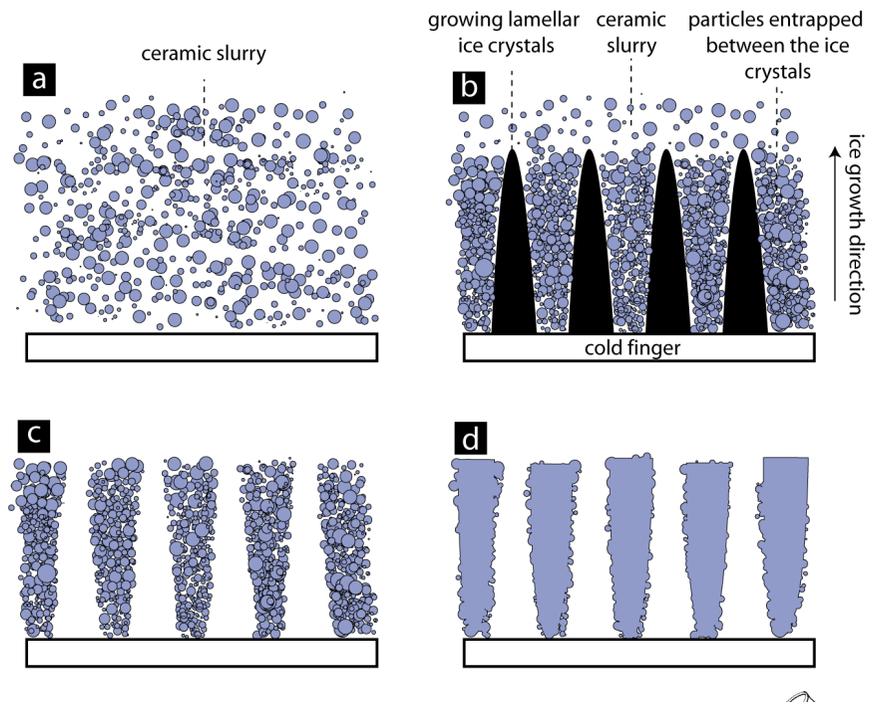
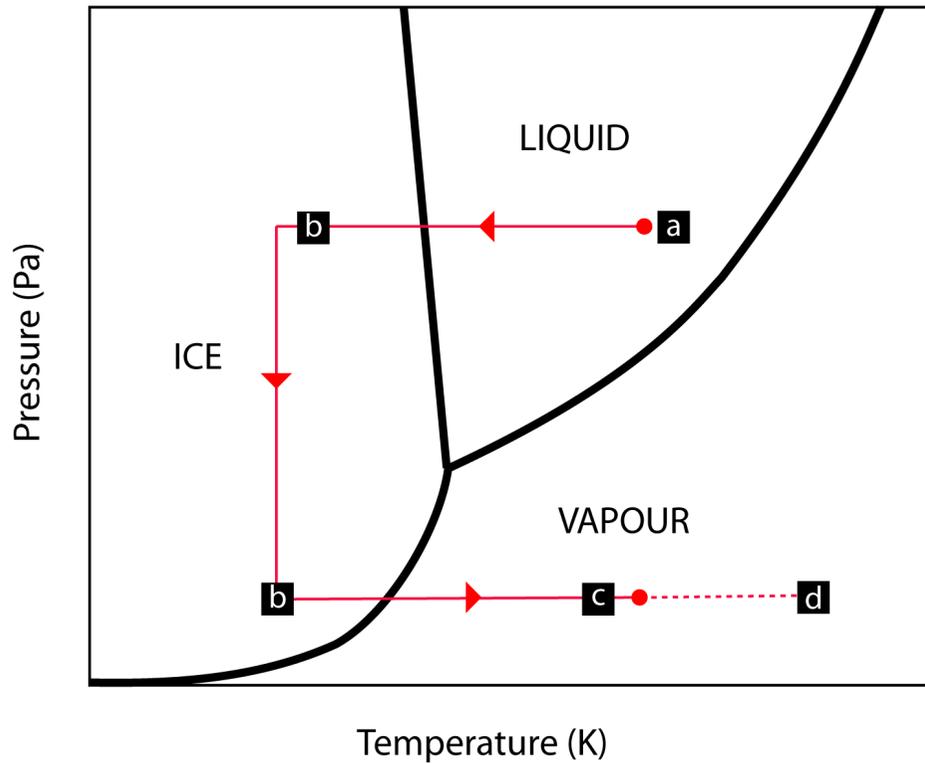
PMMA beads



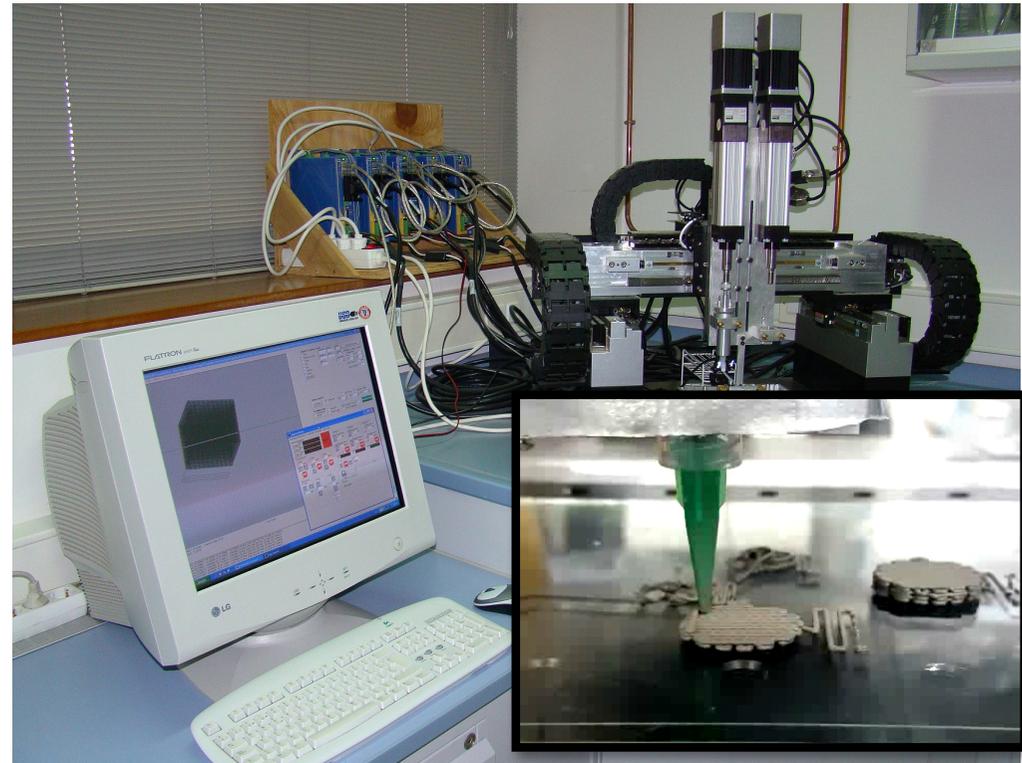
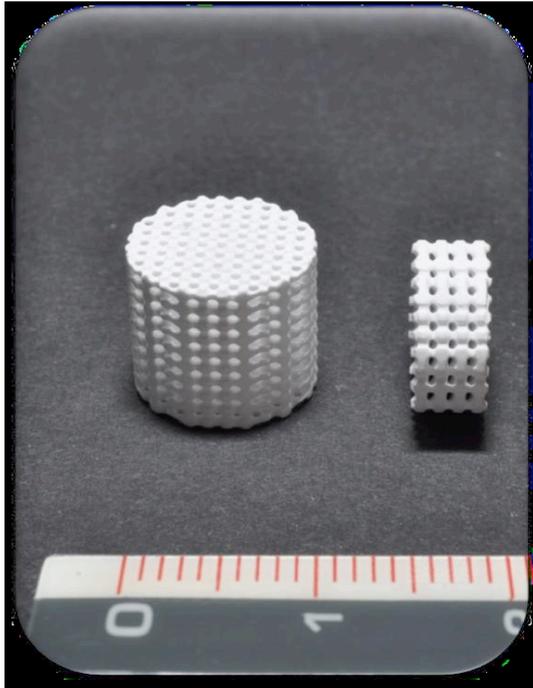
ceramic



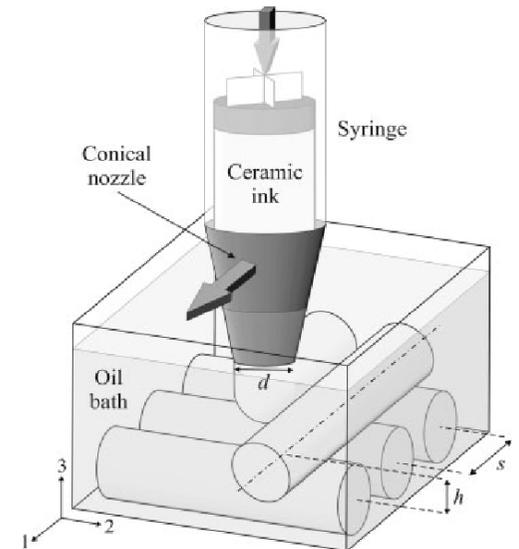
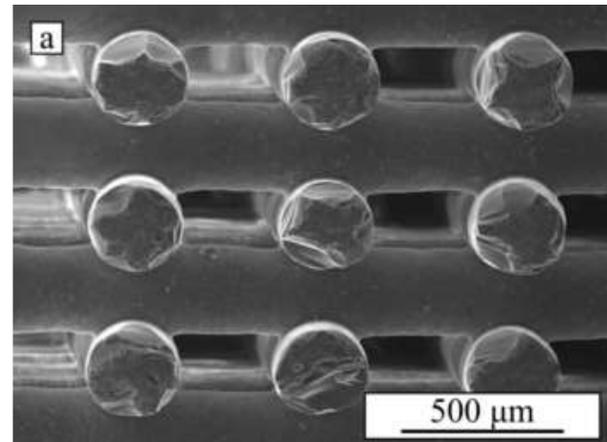
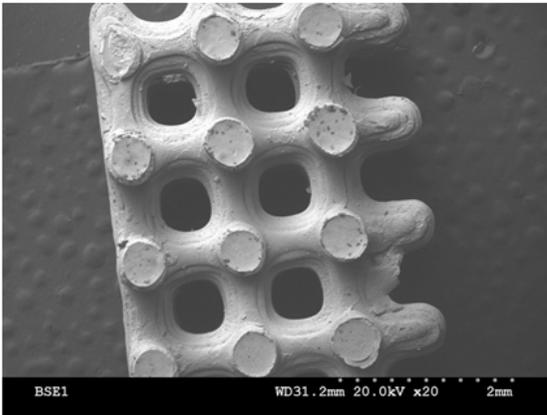
Congélation dirigée d'une barbotine



Fabrication additive



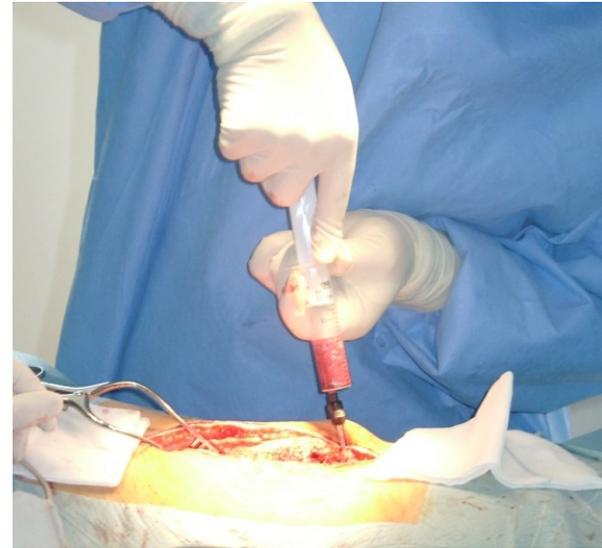
Robocasting



Stéréolithographie
Crédit Anne Leriche LMCPA



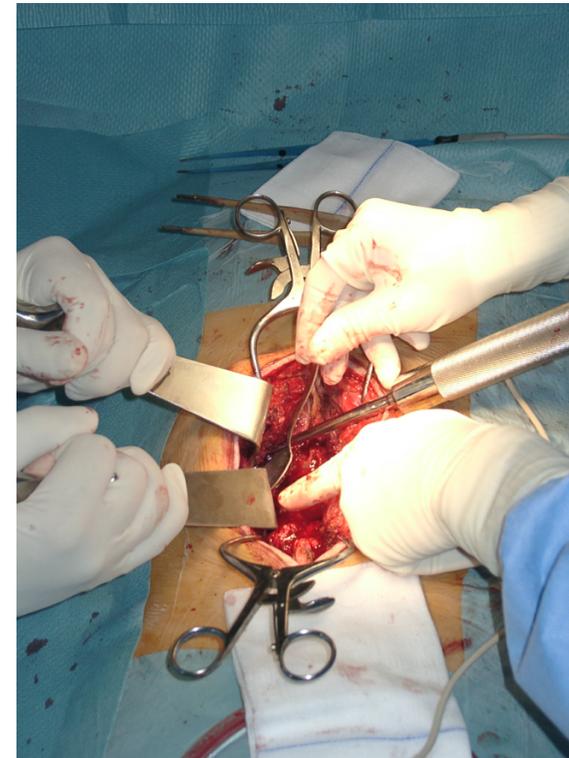
Mélange de granules avec fragments osseux



Prélèvement de moelle osseuse



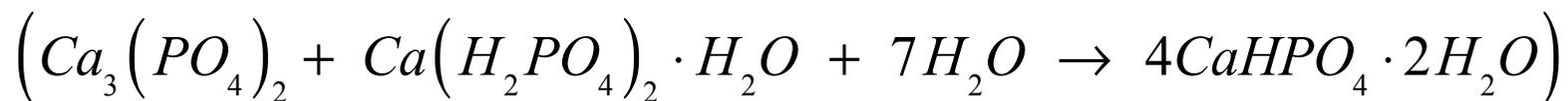
Mélange de l'ensemble, ajustement consistance





*Ciments : obtenus par réaction de prise (comme plâtre).
Processus de dissolution - précipitation*

Ex : Ciment 'brushitique' :

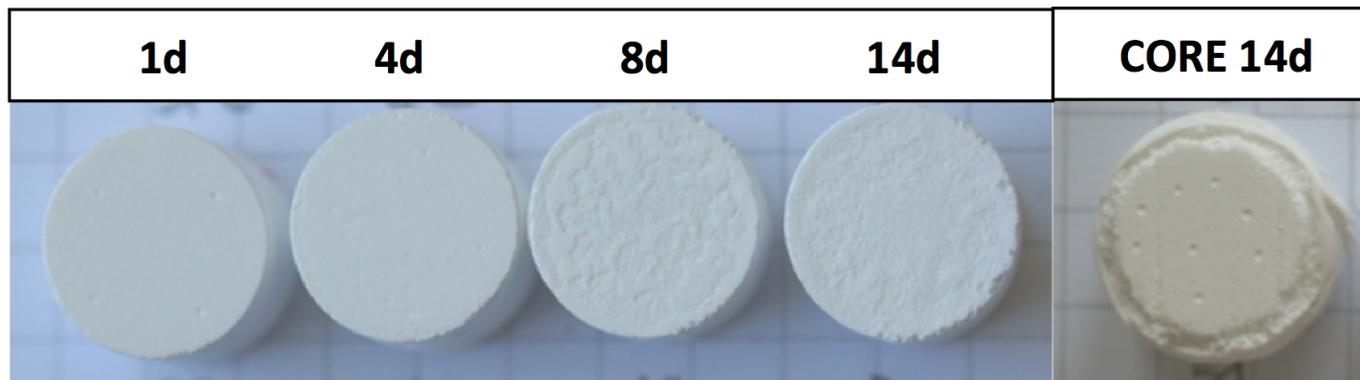


Intérêt des ciments phosphocalciques :

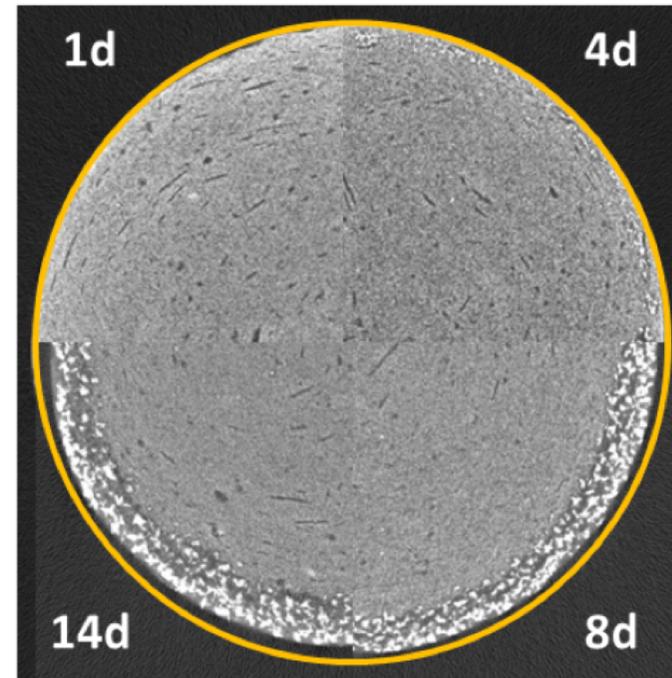
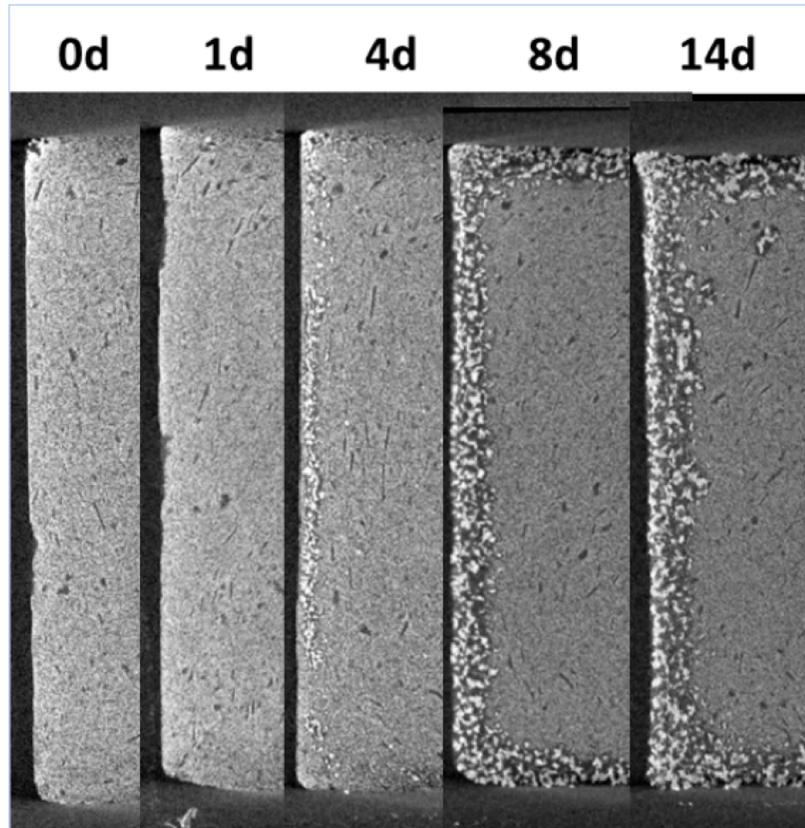
- Très 'réactifs', très solubles (donc résorbables),
- Injection possible dans une cavité de forme complexe.

Inconvénients :

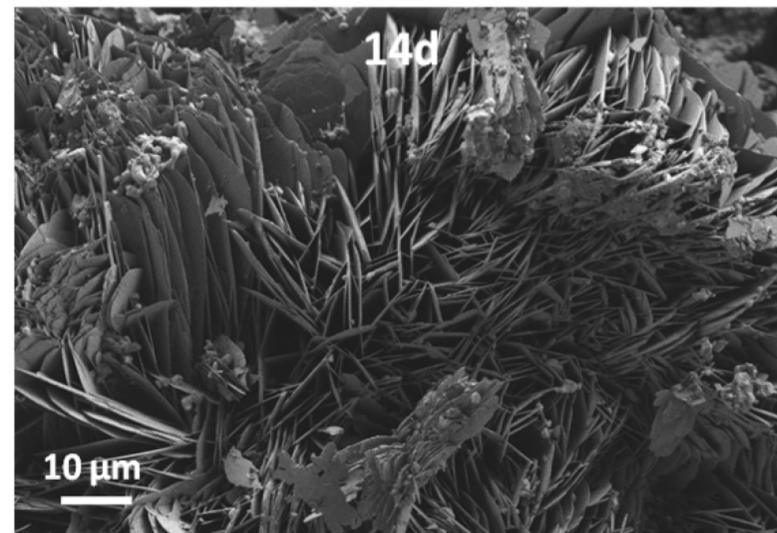
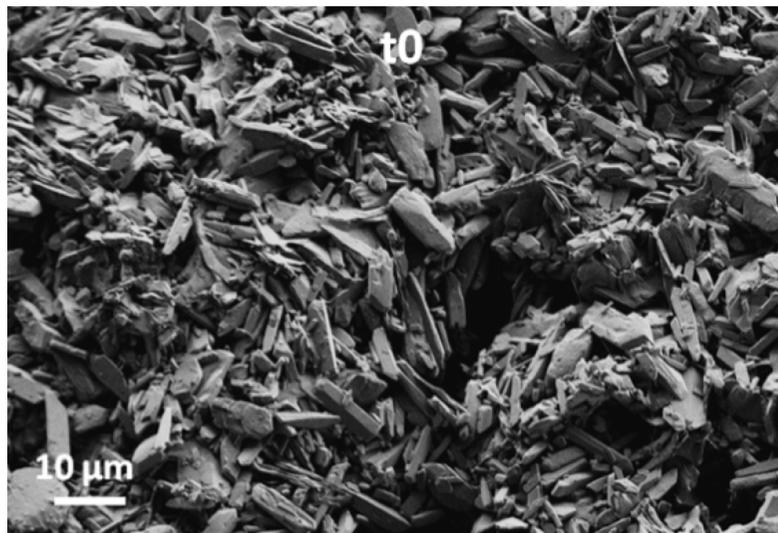
- Parfois trop solubles (trop rapidement),
- Pas de macro-porosité,
- Propriétés mécaniques très faibles.



| phase | t0 | 30m | 1d | 4d | 8d | 14d |
|---------|------|------|------|-----|------|------|
| MCPM | 8.3 | - | - | - | - | - |
| DCPA | - | 35.5 | 2.8 | - | - | - |
| DCPD | 91.7 | 64.5 | 97.2 | 100 | 7.6 | - |
| OCP | - | - | - | - | 92.4 | 95.1 |
| apatite | - | - | - | - | - | 4.9 |

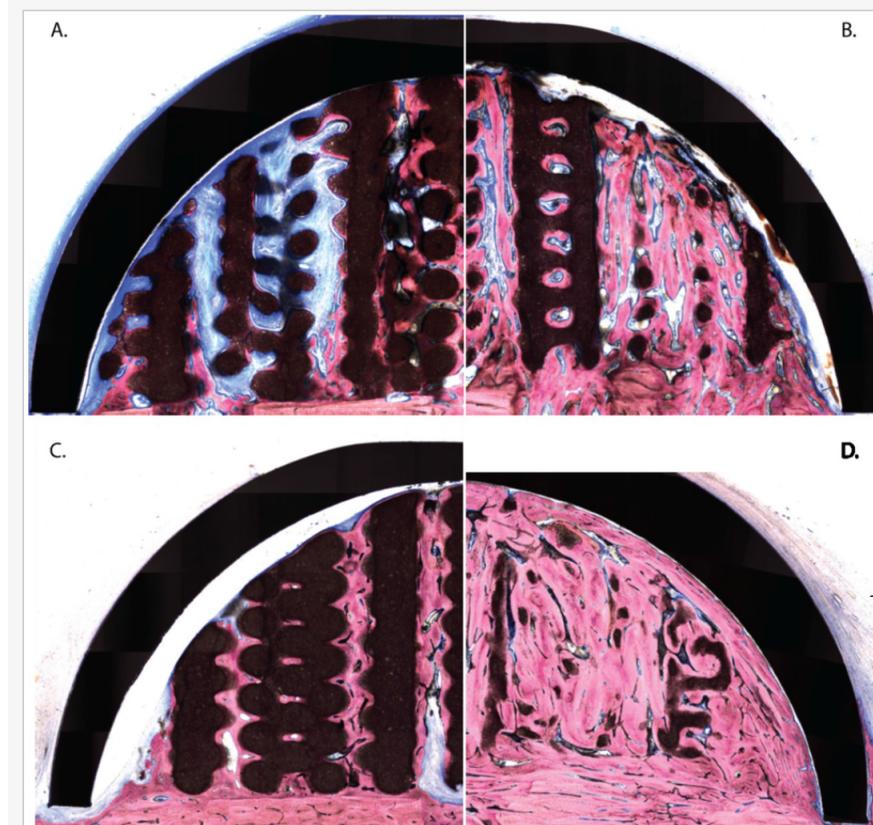
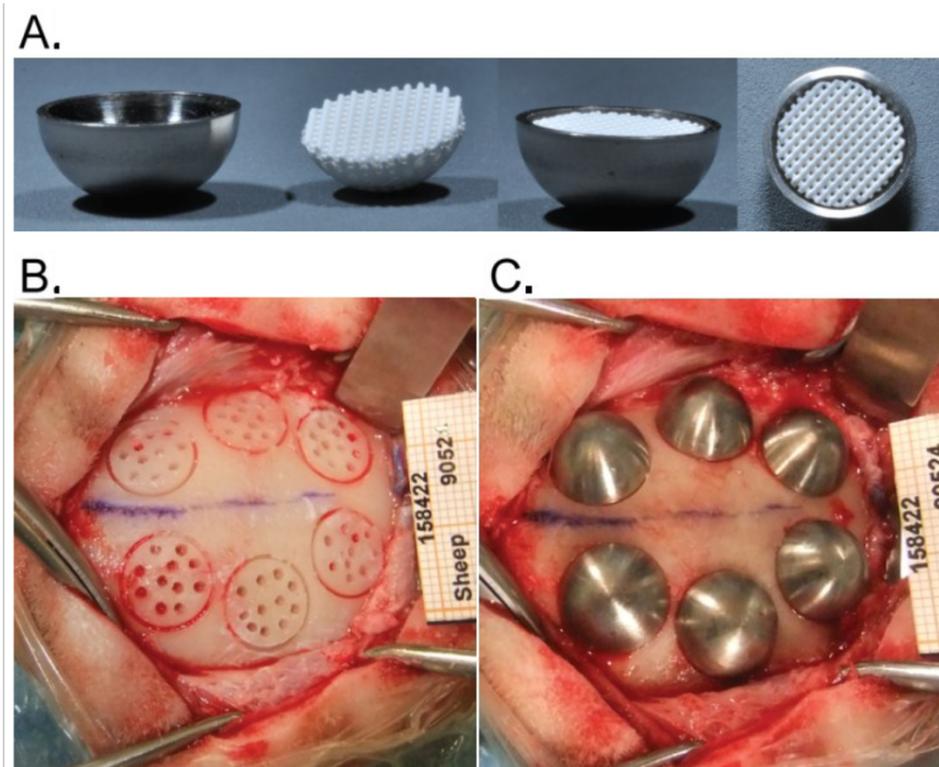


1 mm



Credit : Stephane Durual - University of Geneva

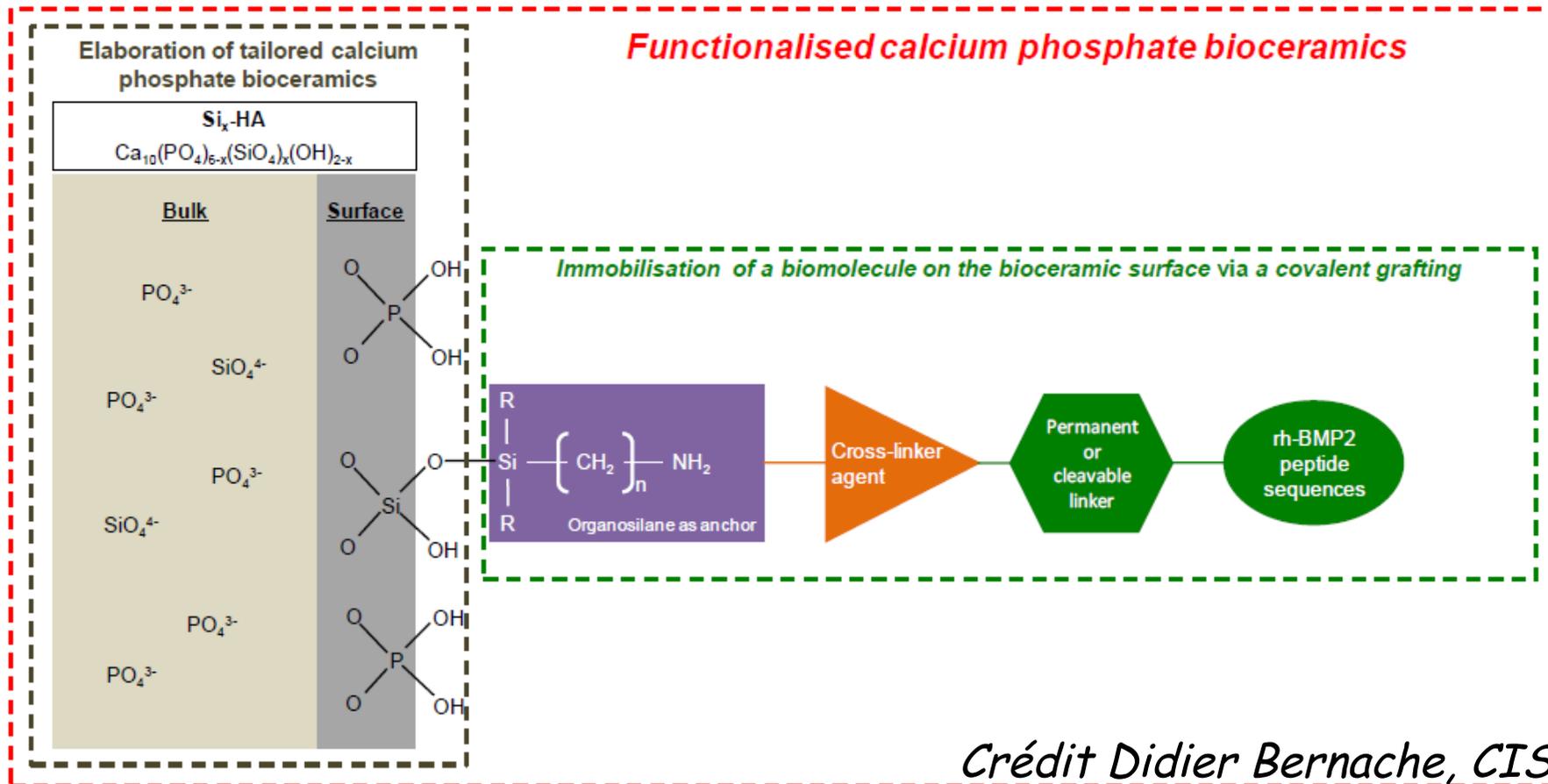
Without BMP2 With BMP2



8 weeks

16 weeks

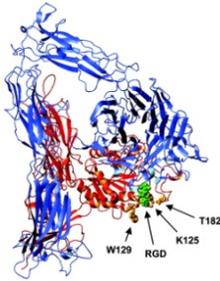
- La synthèse des phosphates de calcium (pour substituts osseux et revêtements de prothèses) atteint un raffinement jamais atteint. Exemple des Hydroxyapatites substituées, voire Biomimétiques (Toulouse, Saint Etienne).
- Les procédés de fabrication additive permettront des prothèses 'ad personam' (cf. visite 3D FAB)
- Les modifications de composition et la fonctionnalisation de surface permettent d'induire la régénération osseuse.



Ingénierie Tissulaire

BMP2

TGF β



Séquence RGD

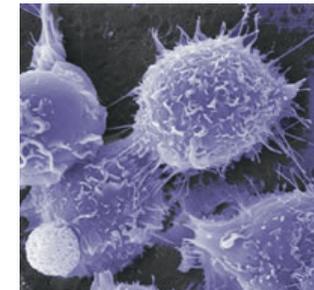
Facteurs de croissance
Protéines d'adhésion...



Biomatériaux

Substances
actives

Cellules



Bioréacteurs

