

Evaluation préclinique des biomatériaux sous forme de poudres dans les traitements conservateurs des dents lésées.

A.JEAN*, B.ALLIOT-LICHT, P.WEISS, L.BORSIER, J.BOSCO

Centre de Recherche sur les Matériaux d'Intérêt Biologique
Faculté de Chirurgie Dentaire - NANTES -

La pulpe dentaire, localisée à l'intérieur d'une cavité inextensible aux parois constituées de dentine, est un tissu bien circonscrit, qui, lors de lésion dentaire, peut se défendre en produisant un tissu de protection calcifié capable de refermer la brèche dentinaire coronaire (pont dentinaire). L'objectif thérapeutique est la conservation fonctionnelle de la pulpe en provoquant ou favorisant cette protection, mais en la limitant dans le temps et dans l'espace. Les céramiques de phosphates de calcium sous forme de poudres pourraient être utilisées comme des biomatériaux permettant au clinicien d'atteindre cet objectif.

Une série d'expérimentations, sur cultures de cellules pulpaires, sur rats, porcs et chiens, montre en particulier la formation de tissus calcifiés de structures différentes en fonction du phosphate de calcium utilisé et en fonction de la granulométrie des poudres. Dans les meilleurs des cas, après formation d'un tissu calcifié ressemblant parfois à celui mis en évidence au niveau osseux (ostéodentine, ostéoconduction?), une dentine d'aspect normal est élaborée. Nous en avons déduit que les phosphates de calcium pourraient être indiqués dans les thérapeutiques de conservation vitale de la pulpe dentaire.

Des indications à d'autres niveaux, radiculaires et périradiculaires, pourraient aussi être envisagées. Cependant, il est apparu, au cours des précédentes expérimentations, que la mise en place des poudres était très difficile : un vecteur est indispensable et sera d'autant plus nécessaire que le site d'implantation endocanalaire sera éloigné de la couronne de la dent. La voie de passage naturelle, le canal radiculaire, peut être élargie mécaniquement : mais son diamètre ne dépassera pas 100 à 120 centièmes de mm, sur une longueur de 15 à 25 mm. Il s'agit donc de mettre au point un matériau injectable dans des conditions d'accès difficile : des céramiques de phosphates de calcium injectables sont-elles envisageables?

Etude du potentiel ostéoconducteur d'un matériau phosphocalcique injectable en site alvéolaire chez le Chien

¹Damien BOIX, ¹ et ²Olivier GAUTHIER, ¹Gaël GRIMANDI, ¹Pierre WEISS, ¹Jean-Michel BOULER, ¹Guy DACULSI.

¹Laboratoire de Recherche sur les Matériaux d'intérêt Biologique, UPRES 2159, Faculté de Chirurgie Dentaire, 1 place Alexis Ricordeau, BP 84215, 44042 Nantes cédex 01.

²Laboratoire de Chirurgie, Ecole Nationale Vétérinaire de Nantes, BP 40706, 44307 Nantes cédex 03.

Résumé

Ce travail présente la préparation et l'étude *in vivo* d'un biomatériau composite injectable, associant un phosphate de calcium biphasé (BCP) à un vecteur polymérique (HPMC = Hydroxy-Propyl-Méthyl-Cellulose). La charge minérale est constituée de granules de BCP de 200 à 500 µm de diamètre dont la taille a été vérifiée par granulométrie laser et par analyse d'image.

Après une phase de caractérisation physico-chimique (rhéologie, injectabilité), le composite a été injecté en site alvéolaire mandibulaire et maxillaire chez 3 chiennes de race Beagle, immédiatement après extraction dentaire. Dix dents par animal ont été extraites et l'étude a porté sur un total de 60 alvéoles, les dents extraites étant biradiculées. Le délai d'implantation a été de 13 semaines.

Un suivi clinique et radiologique a été réalisé. Les analyses histologiques, effectuées en microscopie photonique ainsi qu'en microscopie électronique à balayage (MEB), ont permis de comparer la qualité et la quantité d'os néoformé dans les alvéoles comblées par le matériau testé par rapport aux alvéoles contrôles non comblées.

L'observation des coupes en microscopie optique et au MEB a montré la présence d'un os lamellaire néoformé en contact étroit avec les granules de BCP sur toute la surface des alvéoles ainsi que l'élaboration de ponts osseux à la partie supérieure des alvéoles.

L'étude quantitative de l'os néoformé dans les alvéoles comblées et dans les alvéoles non comblées a été réalisée par analyse d'image semi-automatique couplée au MEB. La quantité d'os néoformé est significativement plus élevée ($p < 0.05$) dans les alvéoles non comblées. Cette différence disparaît si la surface occupée par l'os néoformé dans les sites non comblés est comparée à la surface occupée par l'ensemble (BCP + os néoformé) dans les alvéoles comblées. De même, il n'existe pas de différence significative entre la surface occupée par les espaces cellulaires dans les sites comblés et dans les sites contrôles.

Le composite injectable (BCP + HPMC) étudié dans ces travaux remplit correctement son rôle de substitut osseux. En situation non pathologique, il permet le comblement d'alvéoles dentaires par un tissu osseux lamellaire, correctement minéralisé, en contact étroit avec le BCP. La mise en évidence des ponts osseux montre que ce matériau injectable permet le maintien de la hauteur de crête et que sa résorption et sa transformation en os permettent une restitution *ad integrum* de la hauteur de l'alvéole après plusieurs mois d'implantation.

Adresse pour correspondance :

Olivier GAUTHIER, docteur vétérinaire. Laboratoire de Recherche sur les Matériaux d'intérêt Biologique, UPRES 2159, Faculté de Chirurgie Dentaire, 1 place Alexis Ricordeau, BP 84215, 44042 Nantes cédex 01.

Tél : 02 40 41 29 16

Fax : 02 40 08 37 12

Ciments à os acryliques radio-opaques: étude thermique et mécanique.

L.Attias(1,2), A.Nzhiou(1), A.Ricard(1), P.Sharroock(2) et J.J.Railhac(3)

(1)Laboratoire des procédés de polymérisation, Ecole Nationale Supérieure d'Ingénieurs de Génie Chimique, Institut National Polytechnique, Toulouse.

(2)Laboratoire de Chimie Inorganique, Université P.Sabatier, IUTA, Castres.

(3)Service Central de Radiologie, Centre Hospitalier Universitaire, Toulouse-Purpan.

Les ciments à os acryliques ont été optimisés pour assurer un temps de prise, une maniabilité et une radio-opacité adéquate pour l'utilisation la plus usuelle: le scellement de prothèse totale de hanche. Les praticiens modifient les formulations des ciments dans le but de les adapter à d'autres applications. En particulier, les vertébroplasties percutanées demandent un ciment à la fois plus radio-opaque et plus fluide.

Nous avons procédé à une analyse comparative du facteur radio-opacifiant de charges minérales de diverses densités (phosphate de calcium, oxyde de titane, oxyde de zinc, oxyde de zirconium, sulfate de barium et oxyde de tantale). Il s'avère que la charge la plus dense (Ta_2O_3) est aussi la plus radio-opaque et celle qui a le plus tendance à sédimenter dans un ciment fluide. Le phosphate de calcium et l'oxyde de titane ont une radio-opacité faible. L'oxyde de zirconium semble présenter le meilleur compromis entre l'homogénéité et la radio-opacité.

Le suivi thermique de la polymérisation des ciments avec divers rapports solide/liquide permet de déterminer avec précision la température maximale et la durée de réaction. L'augmentation de la proportion de monomère liquide dans le mélange conduit à l'abaissement de la viscosité mais aussi à un accroissement du pic exothermique. L'augmentation en masse du % de charges minérales tend à retarder le temps d'apparition des pics et à abaisser la température maximale atteinte. Les résultats sont présentés pour 10, 20 et 30 % de ZrO_2 et des rapports liquide/solide de 0.5, 0.7 et 1.

Les propriétés mécaniques de ciments usuels ont été mesurées. Les valeurs moyennes sont: résistance en compression: 96 MPa; résistance en traction: 25 MPa; module d'élasticité: 2.9 GPa. En faisant varier le taux de charges de 5% à 50%, le module d'élasticité passe de 1.1 à 4.6 GPa. L'ajout de charges minérales rigidifie le ciment et améliore aussi la résistance en compression et en traction à des concentrations autour de 20 à 30%. Le méthacrylate de butyle améliore la souplesse du ciment ce qui augmente légèrement sa résistance en traction.

Dans l'ensemble, nos résultats montrent qu'il est possible de maîtriser les formulations pour obtenir un ciment fluide et radio-opaque qui conserve ses propriétés mécaniques statiques.

APPORT D'UN BIOMATERIAU A BASE DE CORAIL NATUREL DANS LE TRAITEMENT DES FRACTURES D'OS OSTEOPOROTIQUES

Y. CIROTTEAU, SARKIS G., PATAT J.L

Une étude rétrospective a été menée sur 46 patients présentant une ostéoporose et victimes d'une fracture instable du col fémoral. Ils ont été traités par ostéosynthèse, à l'aide d'un clou plaque associé à un comblement de la métaphyse par un biomatériau capable de favoriser la réparation osseuse et de s'ostéointégrer. Le biomatériau (Biocoral®) permet ainsi le comblement des espaces liés à l'effondrement trabéculaire et la stabilisation immédiate du matériel d'ostéosynthèse et de la fracture.

De 1992 à 1996, l'évolution de la mise au point de la procédure chirurgicale et le suivi des patients ont permis de diminuer le délai de remise en charge du membre blessé allant de 26,3 jours en 1992 à 11,2 jours en 1996. La stabilisation primaire de la fracture a été obtenue sur 42 patients (91,3 %), seuls 4 impactions sont rapportées, 2 faibles de 3 et 4 mm, 2 moyennes de 10 mm chacune. La consolidation basée sur l'absence de douleur, l'appui et l'examen radiographique a été observée chez 45 patients. Le délai de consolidation pour plus de la moitié des patients (53,3 %) a été court, inférieur ou égal à 45 jours.

Y. Cirotteau : Centre Hospitalier de Neuilly, 36 Boulevard du Général Leclerc,
92200 Neuilly sur Seine, France.

ELABORATION D'UNE BIOCERAMIQUE PAR VOIE LIQUIDE, A MACROPOROSITE INTERCONNECTEE ET EVALUATION BIOLOGIQUE "IN VITRO"

F. MONCHAU¹, A. GALLUR², J.C. HORNEZ¹, O. RICHART², B. FLAUTRE³,
M. DESCAMPS², H.F. HILDEBRAND¹

¹ G.R.B., Laboratoire de Biophysique, Faculté de Médecine, Lille

² C.R.I.T.T. "CERAMIQUES FINES", Maubeuge

³ I.R.M.S., Institut Calot, Berck/Mer

L'hydroxyapatite a fait l'objet de multiples investigations et a permis d'entrevoir de nouvelles possibilités pour les comblements osseux. Le but de notre étude est de fabriquer une céramique poreuse dont l'architecture est contrôlée (taille des pores, volume poreux, présence d'interconnexions) et d'évaluer le comportement biologique *in vitro* vis-à-vis du type de structure étudié.

La méthode classique pour fabriquer des échantillons macroporeux est la voie solide. Elle est basée sur le pressage isostatique d'un mélange composé de particules d'hydroxyapatite et de porogène. On obtient alors un comprimé qui devra subir un traitement thermique afin d'éliminer le porogène et de conférer à la pièce toute sa cohésion et sa tenue mécanique.

Une autre technique, beaucoup moins utilisée, est la voie liquide qui consiste à élaborer une barbotine (pâte liquide où les particules d'hydroxyapatite sont en suspension) qui est coulée dans un moule en plâtre contenant les granulés de porogène, dans notre cas le naphthalène. Après séchage, la pièce coulée devra aussi suivre un cycle thermique. Cette technique nous a permis d'obtenir différents types d'échantillons dont le diamètre des pores reste constant et compris entre 200 et 300 μm . L'avantage de cette méthode est d'obtenir des échantillons présentant une structure poreuse interconnectée. La présence de communications entre les macropores est fondamentale pour faciliter le passage et la progression des cellules jusqu'au coeur du substitut. Les diamètres d'interconnexion obtenus par cette technique peuvent varier de 10 à 50 μm .

L'évaluation biologique a mis en évidence la cytocompatibilité des échantillons (qui étaient intimement en contact avec le naphthalène durant le process de fabrication) par la méthode du clonage. Dans le cas particulier des substitus osseux, il nous a paru intéressant d'effectuer cette technique avec les cellules cibles : les ostéoblastes MC3T3-E1 très sensibles aux agents toxiques.

Les tests classiques de prolifération cellulaire ne sont pas toujours applicables car l'architecture poreuse des échantillons est parfois trop friable et ces fines particules risquent de fausser les résultats. L'activité cellulaire a donc été mesurée par la méthode MTT qui est basée sur la transformation des sels jaunes de tétrazolium de MTT en cristaux pourpres de formazan. Cette réaction est assurée par l'activité des déhydrogénases mitochondriales : cette transformation n'est donc possible que pour des cellules vivantes. Les résultats obtenus sur les différents échantillons montrent une forte activité cellulaire au troisième comme au sixième jour de prolifération.

L'étude de la morphologie cellulaire par microscopie électronique à balayage montre des ostéoblastes comportant de nombreuses expansions cytoplasmiques et un grand nombre de villosités témoignant d'une bonne adhésion. La colonisation cellulaire des pastilles macroporeuses est étudiée par microcoupes cytologiques sur des échantillons non décalcifiés afin de mettre en évidence le passage des ostéoblastes d'un pore à l'autre par l'intermédiaire des interconnexions.

Physiopathologie de l'ostéoporose. Facteurs de risque locaux et généraux.

Jean-Yves REGINSTER, Unité d'Exploration de l'Os et du Cartilage, CHU Brull,
4020 LIEGE, Belgique

L'ostéoporose se définit comme une maladie caractérisée par une masse osseuse basse et une détérioration micro-architecturale du squelette contribuant à accroître la fragilité osseuse et le risque de fracture.

La susceptibilité du squelette à présenter un épisode fracturaire est la résultante de l'association de facteurs de risque généraux et locaux. Durant l'enfance et l'adolescence, des mesures hygiéno-diététiques appropriées permettent d'optimiser les déterminants génétiques du pic de masse osseuse. Ce capital squelettique sera progressivement érodé par l'âge et, chez la femme, par les modifications hormonales résultant de la ménopause. A ce jour, la méthode la plus performante pour prédire le risque fracturaire d'un individu, quel que soit le site osseux considéré, reste la mesure du contenu minéral du squelette. Les marqueurs biologiques du remodelage osseux permettent également d'obtenir une idée précise de la vitesse de destruction de l'os trabéculaire et cortical. A côté de ces facteurs reflétant le niveau général du remodelage du squelette, des modifications micro-architecturales locales peuvent également avoir une influence essentielle sur la survenue d'épisodes fracturaires cliniques. La perforation focale de l'os trabéculaire, occasionnée par la résorption ostéoclastique, diminue la connectivité des travées osseuses, favorisant le risque de collapsus de ces structures. De même, une augmentation du nombre des travées non-connectées empêche une éventuelle néostimulation osseuse de se traduire en une amélioration des compétences biomécaniques du squelette. Enfin, la géométrie du col fémoral peut également être un prédicteur important du

Etude rhéologique de polymères améliorant l'injectabilité des ciments phospho-calciques.

P. Van Landuyt, M. Roulin, J. Lemaître

Laboratoire de Technologie des Poudres, Ecole Polytechnique Fédérale de Lausanne, MX - Ecublens, 1015 Lausanne, Suisse.

Les propriétés in-vivo du ciment phospho-calcique de type brushite, à savoir sa biocompatibilité et sa résorbabilité, en font un matériau idéal pour le comblement osseux temporaire. La mise en place par injection permettrait l'utilisation de techniques chirurgicales mini-invasives. La notion d'injectabilité comprend deux concepts : le ciment doit pouvoir être extrudé facilement à travers une seringue et il doit rester cohérent au contact du liquide physiologique. Une bonne injectabilité du ciment brushite peut être obtenue en jouant sur 2 paramètres : le rapport solide/liquide et la concentration en polymère dans le liquide de gâchage. Le polymère utilisé pour contrôler la rhéologie de la pâte de ciment doit posséder un certain nombre de caractéristiques. Outre le caractère rhéofluidifiant de la solution polymérique, sa sensibilité aux variations de température entre 20 et 40 °C et au caractère acide de la solution de gâchage constituent des critères pour le choix d'un polymère.

Lors de cette étude, le comportement rhéologique de différentes solutions de polymères ont été comparées : Hydroxypropylmethyl cellulose (HPMC), Xanthane et Chitosane. Des mesures rhéologiques sur les polymères en solution aqueuse montrent que la viscosité de l'HPMC diminue, tandis que celles du Xanthane et du Chitosane restent constantes entre 20 et 40 °C. L'addition de poudre de β -TCP aux solutions polymériques provoque une augmentation de viscosité proportionnelle à la quantité ajoutée. Cette augmentation est variable d'un polymère à l'autre, ce qui souligne l'importance des interactions β -TCP/polymère.

La mesure du comportement rhéologique du polymère en solution dans le liquide de gâchage complet (contenant de l' H_2SO_4 (0.1 M) et du pyrophosphate) a permis de mettre en évidence la sensibilité des différents polymères aux ions en solution. La viscosité des solutions de Chitosane diminue de moitié en présence d' H_2SO_4 (0.1 M), celle de l'HPMC diminue légèrement tandis que celle du Xanthane reste constante.

Suite à ces résultats, le Xanthane paraît le polymère le plus adéquat en raison de sa bonne résistance aux variations de température et de pH.

risque fracturaire, principalement au niveau de la hanche. L'ostéoporose et sa traduction clinique la plus importante, la fracture, sont donc la résultante d'interactions systémiques hormonales et de modifications micro-architecturales locales auxquelles il convient d'ajouter les déterminants biomécaniques constitutionnels de l'individu.

**FRACTAL SIGNATURE ANALYSIS OF MACRORADIOGRAPHS
MEASURES TRABECULAR ORGANISATION IN POST-MENOPAUSAL
LUMBAR VERTEBRAE AND IN OSTEOARTHRITIC KNEES**

J.C. Buckland-Wright, J. A. Lynch

Division of Anatomy and Cell Biology, U.M.D.S. Guy's Hospital, London, SE1 9RT,
U.K.

We report the results of two studies which examined cancellous bone organisation associated with reduced and increased bone formation respectively. High definition macroradiography were used to provide an image of the detailed structural organization of the cancellous bone in human lumbar vertebrae and in patients with knee osteoarthritis (OA). The fractal signature analysis (FSA) method was used to quantify the horizontal and vertical trabecular organization recorded within the image.

In the first study, comparison of the FSA of the posteroanterior and lateral macroradiographs in post mortem lumbar vertebrae showed that neither the superimposition of the neural arch nor the radiographic angle affected the trabecular measurement within the vertebral body.

FSA analysis of the trabecular structure measured from the macroradiographs of lumbar vertebrae in two groups of post-menopausal women, with high and low bone mineral density (BMD), showed that the large vertical trabecular structures correlated with the women's body weight ($P < 0.01-0.03$) and body mass index ($P < 0.005-0.05$), the fine horizontal structures correlated with the women's age ($P < 0.005-0.05$), and fine vertical trabecular structures were significantly greater ($P < 0.005-0.05$) in the low compared to the high BMD group.

In the second study, FSA quantified alterations in trabecular structure in the tibial cancellous bone of OA patients with either early or definite joint space narrowing (JSN) compared with non-arthritic subjects. Compared to the non-arthritic joints, FSA of the trabecular structure of the medial diseased compartment of the tibia was significantly different and correlated with the degree of JSN ($p < 0.003$); FSA of horizontal trabecular structures decreased significantly ($p < 0.001$) in knees with early OA (joint space > 3 mm) and vertical trabecular FSA increased in knees with marked JSN (joint space < 3 mm). In the lateral compartment of the tibia, FSA did not show a difference between any of the categories. With increasing age of all subjects the changes in FSA indicated a significant increase in the number of fine horizontal and vertical trabeculae. No correlation was found between the subjects body weight and changes in the subarticular cancellous bone organisation.

Detection of differences in the horizontal and vertical trabecular organization by FSA revealed information about disease and ageing processes.

