

---

## Les biomatériaux et le tissu osseux

Depuis le III<sup>ème</sup> siècle avant J.C., l'Homme a essayé de remplacer en partie ou en totalité des parties lésées du corps humain : par exemple, on a retrouvé dans la bouche de Ramsès II, la plus ancienne forme de prothèse dentaire réalisée à partir de dent naturelle, préalablement traitée de façon à éviter le pourrissement, puis ligaturée, aux dents voisines du Pharaon, avec du fil d'or. Il s'agira plus tard de substituer des membres, des tissus biologiques, des organes... Le remplacement de ces organes était alors réalisé par des matériaux biologiques naturels. De nos jours, ces greffes proviennent soit du patient lui-même (autogreffe), soit d'un autre patient (allogreffe), soit d'un animal (xéno greffe). Dans ces deux derniers cas, des traitements préalables de purification sont nécessaires afin d'éliminer tout risque de contamination ou de rejet dû à d'éventuels résidus de nature organique. Les traitements envisageables sont la congélation, la stérilisation par rayonnement gamma, la lyophilisation ou le chauffage [Ranz1996]. Parmi ces options, le recours à la greffe autogène est privilégié car celle-ci permet de s'affranchir des risques de transmission de pathologies induites par des greffons étrangers (xéno greffes ou allogreffes). Néanmoins, l'autogreffe nécessite un second site d'intervention qui induit une augmentation des risques d'infection, d'où l'intérêt de recourir aux allogreffes, bien que des risques immunologiques peuvent entraîner le rejet de l'allogreffe. Malgré leurs risques immunologiques, les allogreffes d'organes sont une nécessité, comme cela est reporté dans le rapport d'activité 2009 de l'Agence de la Biomédecine [Agence de la biomédecine 2009]. En France, en 2009, 13403 patients ont eu besoin d'une greffe, 4580 greffes ont été réalisées, 437 personnes sont décédées faute de greffons, et 403 ont dû être sorties de la liste d'attente en raison d'une aggravation de la maladie ou de complications médicales rendant la greffe incompatible avec leur état. Parmi les 108 donneurs décédés après arrêt cardiaque et les 3081 personnes en état de mort encéphalique, seules 1543 personnes ont été prélevées. A ces chiffres s'ajoutent 247 donneurs vivants qui ont été prélevés d'un organe. Parmi les organes greffés sur 4580 personnes, le rein

reste la première opération de greffe réalisée en France avec 2826 patients greffés en 2009, tandis que la greffe d'intestin reste anecdotique avec 7 interventions (Figure 1).

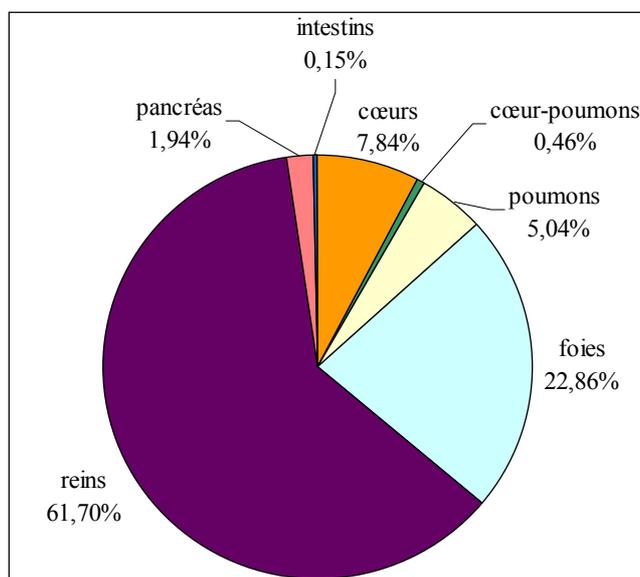


Figure 1. Répartition des greffes d'organes réalisées en 2009, selon le rapport annuel 2009 de l'Agence de la Biomédecine [Agence de la biomédecine2009]

Du point de vue des conditions médicales, psychologiques et éthiques, les greffes de tissus composites vascularisés s'apparentent aux greffes d'organes. En 2009, les banques de tissus ont réceptionné 8880 cornées, 34,55 m<sup>2</sup> de peau, 2463 membranes amniotiques, 610 artères, 2832 veines, 199 cœurs, 659 valves cardiaques, 181 os massifs et 16319 têtes fémorales.

Ce rapport met en évidence le problème majeur des greffes, leur rareté. Les problèmes de tolérance et la pénurie de greffes expliquent pourquoi les matériaux synthétiques sont l'objet d'études de plus en plus nombreuses.

### I.1.1. Définition générale des biomatériaux

Le terme « biomatériau » est polysémique. Une définition a été retenue en 1986 par la Société Européenne des Biomatériaux (European Society for Biomaterials, ESB) puis complétée en 1991, lors de la conférence de Chester (GB), dite de consensus : un biomatériau est un « matériau non vivant utilisé dans un dispositif médical, destiné à interagir avec les systèmes

biologiques, qu'il participe à la constitution d'un dispositif à visée diagnostique ou à celle d'un substitut de tissu ou d'organe ou encore à celle d'un dispositif de suppléance (ou d'assistance) fonctionnelle ». Cette notion de biomatériaux est donc très vaste et regroupe de nombreux produits d'origine naturelle ou issus de la synthèse de matériaux. Le biomatériau est destiné à être implanté dans le corps humain où il sera, à moyen ou à long terme, en contact avec les tissus (tissus mous et durs) et fluides biologiques. Une qualité essentielle est l'absence d'effet délétère pour l'organisme [Williams1987] c'est-à-dire sa biocompatibilité. Depuis les années 1980, cette notion est en perpétuelle évolution. Afin de lui donner un sens plus précis, les scientifiques enrichissent le vocabulaire et font intervenir les notions de biofonctionnalité, bioactivité, biodégradation. De façon encore plus précise, les biomatériaux peuvent également être classés en fonction de leur réactivité biologique après implantation : ils sont alors biocompatibles ou biotolérés, bioinertes ou bioactifs, biorésorbables ou non-résorbables, ou encore ostéoconducteurs ou ostéoinducteurs [Osborn1980].

Etant donné l'étendue de la définition des biomatériaux, il est coutumier de les classer en 4 groupes en fonction de leur nature chimique : les métaux et alliages métalliques, les céramiques, les polymères et les matériaux d'origine naturelle [Ratner2004].

Le champ d'applications médicales des biomatériaux est très large. Le Tableau 1 mentionne les différents systèmes physiologiques susceptibles d'être suppléés, réparés ou assistés par un biomatériau. La Figure 2, quant à elle, regroupe les principales utilisations de matériaux synthétiques comme implants.

**Tableau 1. Systèmes physiologiques concernés par les biomatériaux [Lemaître2004]**

Système physiologique	Organe ou tissu
Système cardio-vasculaire	Vaisseaux sanguins (artères, veines, capillaires), sang
	Cœur (valves cardiaques, stimulateurs...)
	Circulation extracorporelle (dialyse rénale, oxygénateur...)
Système squelettique	Os : longs (tibia...), plats (crâne...), complexes (vertèbres...)
	Articulations (épaule, hanche, genou...)
	Cartilages (oreille, nez, articulations...)
Système musculaire	Muscles lisses (intestins...), striés (appareil locomoteur)
Système nerveux	Cerveau, moelle épinière, terminaisons nerveuses
	Organes des sens (oreille, œil, peau...)
Système digestif	Bouche (mâchoire, dents...)
	Tractus digestif (œsophage, estomac, intestins...)
	Foie (cirrhose...), pancréas (diabète...)
	Reins (insuffisance rénale, calculs...)
Système tégumentaire	Peau (brûlures, mélanomes...)

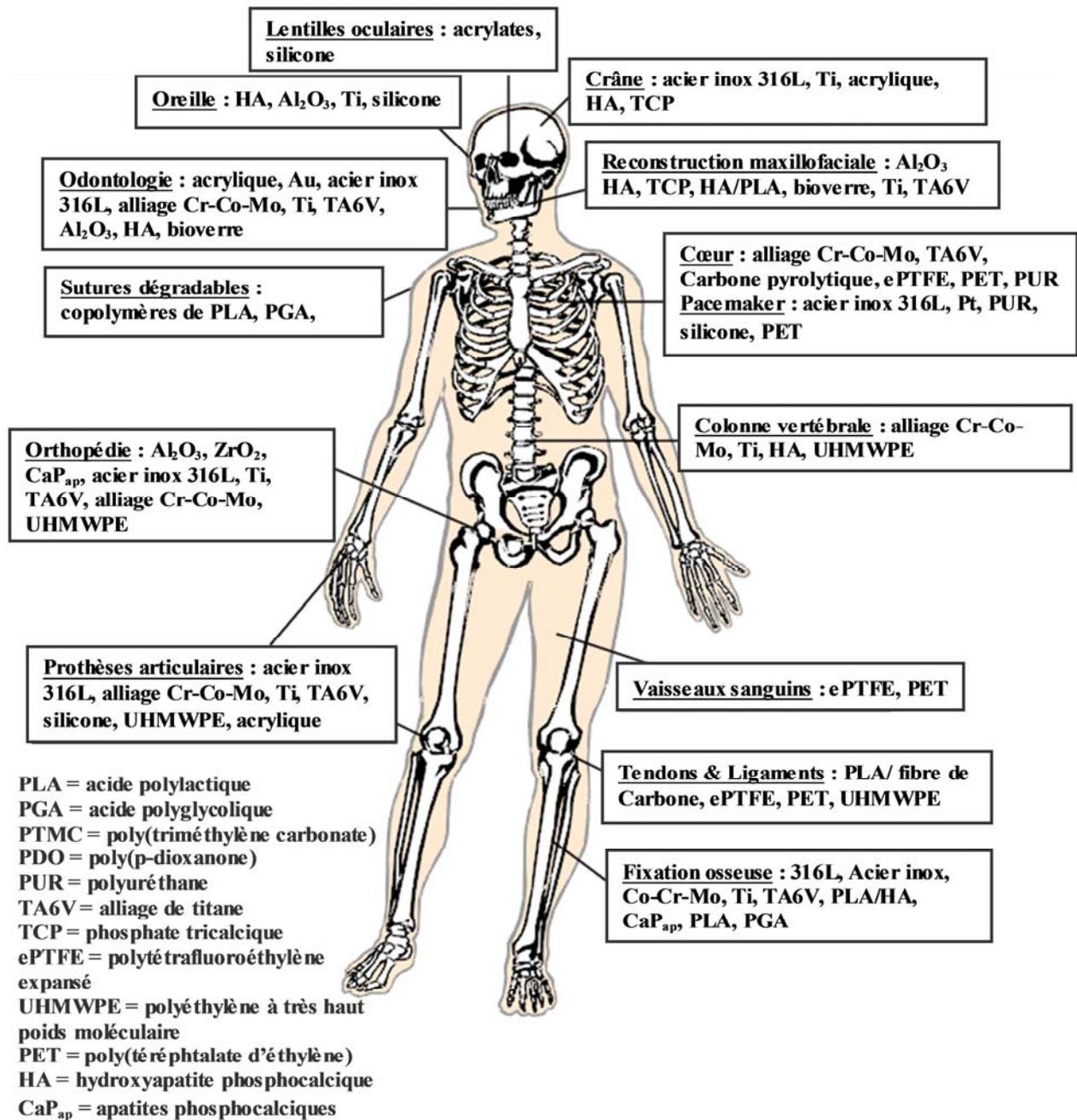


Figure 2. Exemples d'applications médicales de matériaux synthétiques implantables  
 [Taniguchi2006]

Il n'est pas possible d'utiliser n'importe quel type de matériau pour n'importe quelle application : le choix du matériau est une tâche souvent critique dans le processus de développement d'un dispositif biomédical dont les performances sont largement déterminées par celles du matériau utilisé. Ce choix dépend de la fonction envisagée (en lien avec les caractéristiques mécaniques, physico-chimiques et biologiques) et de l'environnement biologique dans lequel il sera implanté.

### I.1.2. Le tissu osseux

A l'âge adulte, le squelette du corps humain (représenté sur la Figure 3) comptabilise 206 os constants et d'autres inconstants (les sésamoïdes par exemple), dont le nombre peut varier entre les individus, contre un total de 350 os à la naissance. Cette différence vient de la fusion ultérieure de petits os au niveau du crâne, de la colonne vertébrale et du bassin.

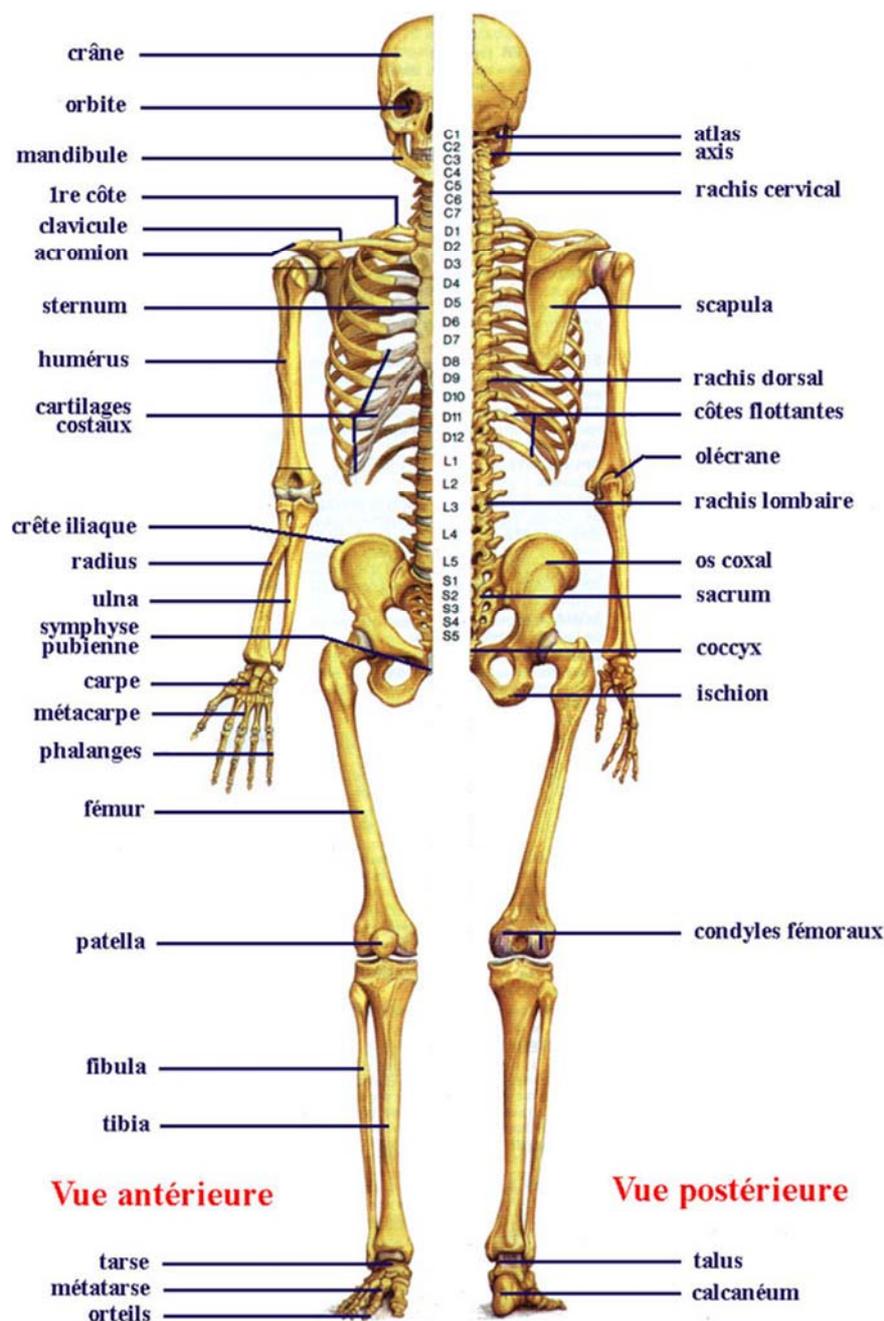


Figure 3. Squelette humain [Boutillier2011]

Les os du squelette remplissent plusieurs fonctions : [Posner1985, Marieb2007, Thomas2008]

→ Protection des organes vitaux : cette fonction concerne les os de la cage thoracique, du bassin, ceux du crâne, et de la colonne vertébrale

→ Soutien des organes mous : les os jouent un rôle de charpente du corps. Ils répondent aux contraintes et aux déformations en remodelant le tissu osseux.

→ Biomécanique : les os possèdent des propriétés mécaniques qui leur permettent de supporter les effets de la pesanteur, de résister aux contraintes mécaniques externes et de résister aux forces de contraction musculaires (les muscles s'attachant sur les os, via les tendons). Les os assurent le mouvement au niveau des articulations. Ils sont articulés entre eux et des ligaments les relient afin de maintenir l'articulation en place lors des mouvements.

→ Métabolique : les os sont des réservoirs métaboliques et chimiques. Ils participent à la régulation de minéraux (homéostasie), en particulier du calcium (98 % du calcium de l'organisme) et du phosphore (90 % du phosphore de l'organisme) qui jouent un rôle biologique prépondérant dans la vie cellulaire, la transmission nerveuse et la coagulation sanguine. Inversement le minéral osseux sert de lieu de stockage aux ions toxiques, tels le plomb, le strontium,... éventuellement présents dans l'organisme.

→ Hématopoïétique : les cellules de la moelle osseuse rouge qui remplissent les lamelles osseuses de l'os spongieux, produisent les globules rouges. De plus, la moelle osseuse jaune renferme un tissu adipeux de réserve.

#### *I.1.2.a. La morphologie des os*

Les os peuvent être classifiés en 4 catégories en fonction de leur morphologie [Marieb2004].

La répartition des os du squelette dans cette classification anatomique est la suivante :

- Les os long : os des membres (fémur, radius, cubitus...)
- Les os plats : le sternum, les côtes, les vertèbres, les os du bassin, les os du crâne,
- Les os courts : os des phalanges, poignets, chevilles...,
- Les os irréguliers : vertèbres, os iliaques, ...

L'os peut être considéré comme un matériau subdivisé en deux types d'architecture [Marieb2007]. On distingue ainsi :

→ L'os compact (ou cortical) : 80 % du squelette : paroi externe, solide, continue, dense de l'os (5 à 30 % de porosité [Toppets2004]) [Thomas2008].

→ L'os spongieux (ou trabéculaire) [Thomas2008] : 20 % du squelette adulte : partie interne, poreuse (30 à 90 % de porosité [Toppets2004]), située sous la corticale, et constitué de lamelles osseuses, les trabécules.

D'un point de vue biologique, la structure de l'os spongieux lui fournit une surface d'échange plus importante avec les liquides interstitiels et un renouvellement plus rapide que l'os compact. Par conséquent l'os spongieux joue un rôle majeur dans l'équilibre phosphocalcique. Du fait du taux élevé de porosité, les propriétés mécaniques de l'os spongieux sont nettement inférieures à celles de l'os compact, mais restent malgré tout élevées (Tableau 4, p27).

Notons qu'il n'existe pas de limite franche entre ces deux types de tissu osseux. Le passage de l'un à l'autre se fait par une transition progressive. Tandis que les os longs sont essentiellement constitués d'os compact et les os courts d'os spongieux, les os plats sont formés d'une couche d'os spongieux entre deux couches d'os compact.

Prenons comme exemple un os long (Figure 4) afin d'examiner les différentes régions qui forment sa structure :

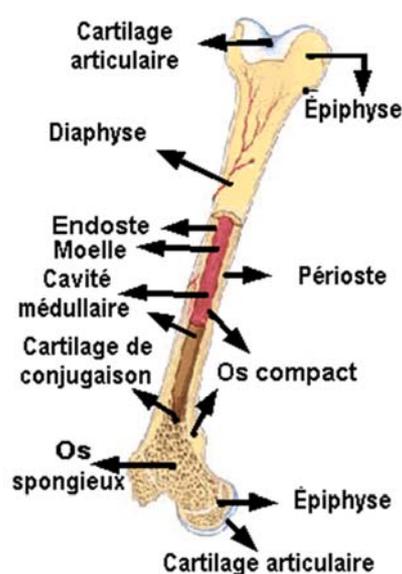


Figure 4. Schéma d'un os long

→ Diaphyse

La diaphyse est le corps de l'os long (entre les épiphyses). Elle occupe presque toute la longueur de l'os et est constituée d'os compact délimitant une cavité centrale appelée canal ou cavité médullaire, remplie de moelle osseuse jaune lipidique.

→ Épiphyses

Les épiphyses sont les extrémités de l'os long. Elles sont formées d'une fine couche d'os compact entourant la région centrale faite d'os spongieux et emplie de moelle osseuse rouge où se forment les cellules sanguines.

→ Cartilage épiphysaire (de conjugaison)

Cartilage situé dans la métaphyse, région à la jonction de l'épiphyse et de la diaphyse chez les enfants, qui assure la croissance en longueur de l'os long, en direction de la diaphyse sous l'influence d'hormones. A la fin de la puberté, la croissance cesse et ce cartilage sera remplacé chez l'adulte par de l'os spongieux [Toppets2004] qui symbolise la fusion de l'épiphyse et de la diaphyse.

→ Cavité médullaire

Cavité au centre de la diaphyse remplie de moelle jaune (tissu adipeux de réserve) chez l'adulte.

→ Périoste

Membrane qui revêt la surface externe de tous les os, sauf au niveau des cartilages articulaires et aux sites d'insertion des tendons et ligaments. Le périoste est constitué de tissu conjonctif spécialisé, organisé en deux couches : la couche externe fibreuse, dense, qui sert d'attache à de nombreux tendons et ligaments, et la couche interne riche en cellules qui assurent la croissance de l'os en épaisseur ou sa cicatrisation lors des fractures. On y trouve aussi des capillaires sanguins et une riche innervation.

→ Endoste

Fine membrane de tissu conjonctif qui tapisse les parois de toutes les cavités vascularisées (cavité médullaire de la diaphyse des os longs, les canaux de Havers, les espaces médullaires de l'os spongieux) du tissu osseux. Cette membrane renferme des cellules produisant ou détruisant la substance osseuse (ostéoblastes et ostéoclastes) et pouvant former les éléments sanguins.

→ Cartilage articulaire

Membrane faite de cartilage hyalin lisse (translucide, constitué de cellules cartilagineuses, et qui constitue le squelette de l'embryon avant ossification) qui recouvre la face externe des épiphyses (il n'y a pas de périoste à ce niveau). Dans une articulation, lors du mouvement, ce cartilage a pour fonction de réduire la friction et la pression entre les os.

*I.1.2.b. La composition chimique du tissu osseux*

L'os est un tissu conjonctif, constitué de 2 éléments de base :

★ **les cellules**

Deux types de cellules se distinguent selon qu'elles jouent un rôle dans la construction du tissu osseux (les ostéoblastes ou cellules ostéoformatrices) ou dans sa destruction (les ostéoclastes ou cellules ostéorésorbantes).

Deux autres types cellulaires qui correspondent à des ostéoblastes différenciés, les ostéocytes et les cellules bordantes de l'os, sont présents dans l'os et ont un rôle majeur dans la régulation de ces phénomènes. Toutes ces cellules agissent de manière coordonnée lors du remodelage osseux [Matsuo2008].

★ **la matrice osseuse (matrice extra-cellulaire, MEC)**

Elle est formée en moyenne à 69 % en masse d'une partie minérale inorganique et à 22 % d'éléments organiques. Après l'émail des dents, le tissu osseux est un des tissus les moins

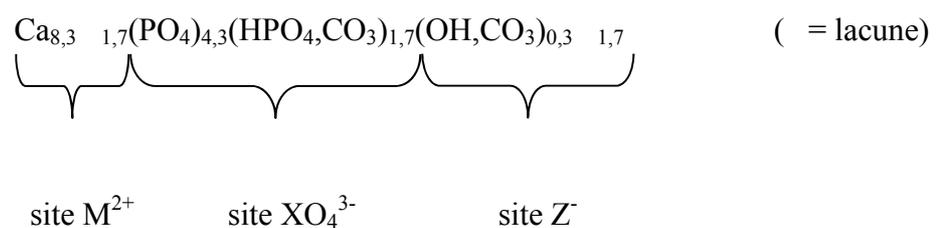
hydratés : seulement 9 % d'eau est contenu dans sa matrice extra-cellulaire [Bank1993]. Ce taux d'hydratation varie en fonction de l'âge et du degré de minéralisation [Toppets2004].

La partie organique de la MEC est composée à 85-90 % de fibres de collagène de type I [Posner1985, Thomas2008], de 10 % de protéoglycans, et d'une grande variété de protéines non collagéniques intervenant dans de nombreux mécanismes de la physiologie osseuse [Thomas2008]. Par exemple, les cytokines et les facteurs de croissance, sécrétés par les ostéoblastes, jouent un rôle fondamental dans la régulation du remodelage du tissu osseux et de la minéralisation [Toppets2004].

Tandis que la partie minérale apporte dureté et rigidité, la partie organique confère élasticité et flexibilité [Thomas2008]. Par conséquent, c'est l'association des composantes minérale et organique qui confère la résistance mécanique nécessaire au soutien du corps [Posner1985, Thomas2008].

Le calcium et le phosphore, avec respectivement 27 % et 12 % en masse, sont les éléments minéraux les plus abondants de la MEC, les autres ions minéraux sont le magnésium, les carbonates, le sodium, et divers autres éléments à l'état de trace, ainsi que de l'eau. Les sels minéraux contenus dans la phase minérale de l'os prennent progressivement la place de l'eau au cours de la minéralisation qui a lieu pendant la croissance osseuse [Toppets2004].

La composition du minéral osseux varie en fonction des espèces vertébrées (facteurs génétiques), de l'âge, de la contrainte (facteurs environnementaux), du type d'os, des apports alimentaires et médicamenteux, nerveux, vasculaires et hormonaux [Rey1998, Toppets2004, Thomas2008]. Elle est constituée de phosphate de calcium carbonaté et présente globalement une structure apatitique (se rapprochant de la formule générique  $M_{10}(XO_4)_6Z_2$ ) mais non-stœchiométrique et faiblement cristallisée. Selon les travaux de Legros, la composition chimique globale pour un os long peut être moyennée par la formule chimique suivante [Legros1987] :



Les ions carbonate sont les ions de substitution prépondérants dans le minéral osseux apatitique. Au sein de la structure, ils peuvent se placer soit dans les sites habituellement occupés par les ions hydroxyde (substitution de type A) soit dans ceux habituellement occupés par les ions phosphate (substitution de type B). Les deux types de substitutions peuvent avoir lieu simultanément, ce qui conduit à des apatites carbonatées de type AB, telles que celles de la phase minérale des tissus osseux, contenant par ailleurs des espèces carbonatées labiles.

La quantité d'ions hydrogénophosphate et d'ions carbonate peut varier considérablement mais la somme de ces ions divalents reste relativement constante dans l'ensemble des tissus osseux [Rey1998]. Dans ses travaux, Elliot a comparé la composition chimique du minéral osseux avec celle de l'hydroxyapatite phosphocalcique stœchiométrique de formule  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$  (notée HA) [Elliot1994]. Ces données sont rassemblées dans le Tableau 2.

**Tableau 2. Composition chimique du minéral osseux et de l'hydroxyapatite stœchiométrique [Elliot1994]**

Constituant	Minéral osseux	HA stœchiométrique
Ca (%massique)	36,6	39
P (%massique)	17,1	18,5
CO <sub>2</sub> (%massique)	4,8	/
Na (%massique)	1,0	/
K (%massique)	0,07	/
Mg (%massique)	0,6	/
Sr (%massique)	0,05	/
Cl (%massique)	0,1	/
F (%massique)	0,1	/
Rapport atomique Ca/P	1,65	1,667
Cristallinité	faible	bonne

Avec un rapport atomique Ca/P inférieur à celui de l'hydroxyapatite stœchiométrique, le tissu osseux admet une grande variété de constituants minoritaires. Les apatites biologiques qui constituent la partie minérale des os n'ont cependant pas la structure cristalline « idéale » de l'HA stœchiométrique. Elle est lacunaire, faiblement cristallisée et carbonatée. La moitié des ions carbonate est localisée en surface des cristaux, l'autre moitié est incorporée dans la structure, dans les sites anioniques trivalents et monovalents. Notons également la présence des ions hydrogénophosphate  $\text{HPO}_4^{2-}$  qui induit une distorsion de la maille cristallographique

[Mackay1953]. Dans les années 80, les travaux de Grynpas [Grynpas1984] ont suggéré que le minéral osseux était composé d'une phase nanocristalline et d'une phase amorphe non détectable. Cette phase amorphe, probablement du phosphate octocalcique triclinique selon Brown [Brown1987b], pourrait être à l'origine de la formation de l'apatite biologique [Termine1966].

La composition chimique, ainsi que la structure et la microstructure de l'os complexifient sa caractérisation physico-chimique et rendent potentiellement délicate la synthèse d'une apatite biomimétique ; par conséquent, l'HA stœchiométrique a longtemps été, à tort, considérée comme un matériau « idéal » pour l'élaboration de substituts osseux. La synthèse, la caractérisation et l'élaboration de matériaux de comblement osseux à base d'apatites carbonatées, nanocristallines et non-stœchiométriques, analogues au minéral osseux, est beaucoup plus récente [Eichert2007].

L'utilisation de techniques spectroscopiques telles la spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR) [Boskey1992a, Boskey1992b, Rey1989, Rey1990, Rey1991a, Rey1991b], et la spectroscopie de résonance magnétique nucléaire (RMN) appliquée au solide, en particulier du phosphore 31 ( $^{31}\text{P}$ ) [Herzfeld1980, Aue1984, Wu1994] ont permis de renseigner sur l'ordre à courte distance et sur l'environnement cristallin des ions dans l'os :

→ L'existence d'environnements ioniques dits « non-apatitiques » a été mise en évidence. Ces environnements sont différents de ceux présents dans les apatites bien cristallisées, et sont spécifiques aux cristaux du minéral osseux et aux apatites biomimétiques de synthèse, préparées dans des conditions proches des conditions physiologiques.

→ Le minéral osseux nouvellement formé présente certaines caractéristiques : un taux bas d'ions carbonate (entre 4 % et 8 %) et un taux élevé d'ions hydrogénophosphate [Legros1987, Vallet-Regi2004]. Au cours du vieillissement de l'os, les quantités d'espèces chimiques non-apatitiques et d'ions hydrogénophosphate diminuent, alors que la proportion en ions carbonate augmente [Vallet-Regi2004]. De plus le minéral osseux évolue vers une apatite carbonatée avec un meilleur état de cristallinité et probablement vers un rapport atomique calcium sur phosphore plus carbonate, noté  $\text{Ca}/(\text{P}+\text{C})$ , plus proche de sa valeur stœchiométrique (10/6). Ce processus s'appelle la maturation [Rey1998].

→ Les cristaux sont de taille nanométrique, avec des dimensions moyennes de 50 nm de long, 25 nm de large et 2 à 5 nm d'épaisseur. Leur petite taille est un paramètre très

important en relation directe avec la solubilité des apatites biologiques, contrairement aux apatites bien cristallisées [Vallet-Regi2004].

Les dimensions nanométriques et la faible cristallinité sont deux particularités spécifiques aux apatites biologiques. Ces particularités, en plus de la non-stœchiométrie, du désordre cristallin interne et de la présence des ions carbonate, permettent de comprendre leur comportement distinctif.

### *I.1.2.c. Le mécanisme de remodelage osseux*

Une caractéristique majeure du tissu osseux est sa capacité à se renouveler, tout au long de la vie. Ce processus lui permet de réguler l'équilibre minéral, de s'adapter à son environnement mécanique, et de s'auto-régénérer (ou s'auto-réparer suite à une fracture) grâce à l'activité continue des cellules osseuses.

Le remodelage résulte de l'activité de multiples unités cellulaires, les *basal multicellular units* (BMU). Cette activité est l'enchevêtrement dans le temps et l'espace de cycles de résorption (par les ostéoclastes) et de croissance (par les ostéoblastes) [Thomas2008]. Chez l'adulte, le remodelage a une durée de 3 à 6 mois, la phase de croissance étant plus longue que la phase de résorption.

La vie de la BMU est régie en 3 étapes [Thomas2008] :

- naissance en un lieu et à un moment donné d'une BMU (ou *origination*).
- déplacement sur la surface osseuse de la BMU (ou **progression**). Les cellules précurseurs des ostéoclastes agissent en amont de la progression, tandis que celles précurseurs des ostéoblastes agissent en aval.
- disparition de la BMU une fois la zone osseuse remplacée (ou **termination**).

Le remodelage osseux a lieu au sein de la BMU et se déroule selon les 5 étapes illustrées sur la Figure 5 :

→ Phase d'activation ① : les cellules bordantes qui recouvrent une surface osseuse inactive sont activées. Dans un premier temps elles se rétractent, ce qui engendre la

dégradation de la couche collagénique sous-jacente, puis attirent par chimiotactisme les préostéoclastes sur la zone osseuse ainsi exposée.

→ Phase de résorption ② : les préostéoclastes fusionnent et se différencient en ostéoclastes actifs qui se fixent à la matrice osseuse pour commencer la résorption. Ils dissolvent la partie minérale, dégradent la partie organique. Un défaut de matrice osseuse se forme et les ostéoclastes viennent s'y déposer.

→ Phase d'inversion ③ : remplacement des ostéoclastes par des cellules mononucléées de type macrophages qui nettoient le défaut osseux. Par leur action, ces cellules amorceraient le comblement du défaut osseux : des lignes cémentantes (cellules ostéoprogénitrices) viennent recouvrir le fond du défaut.

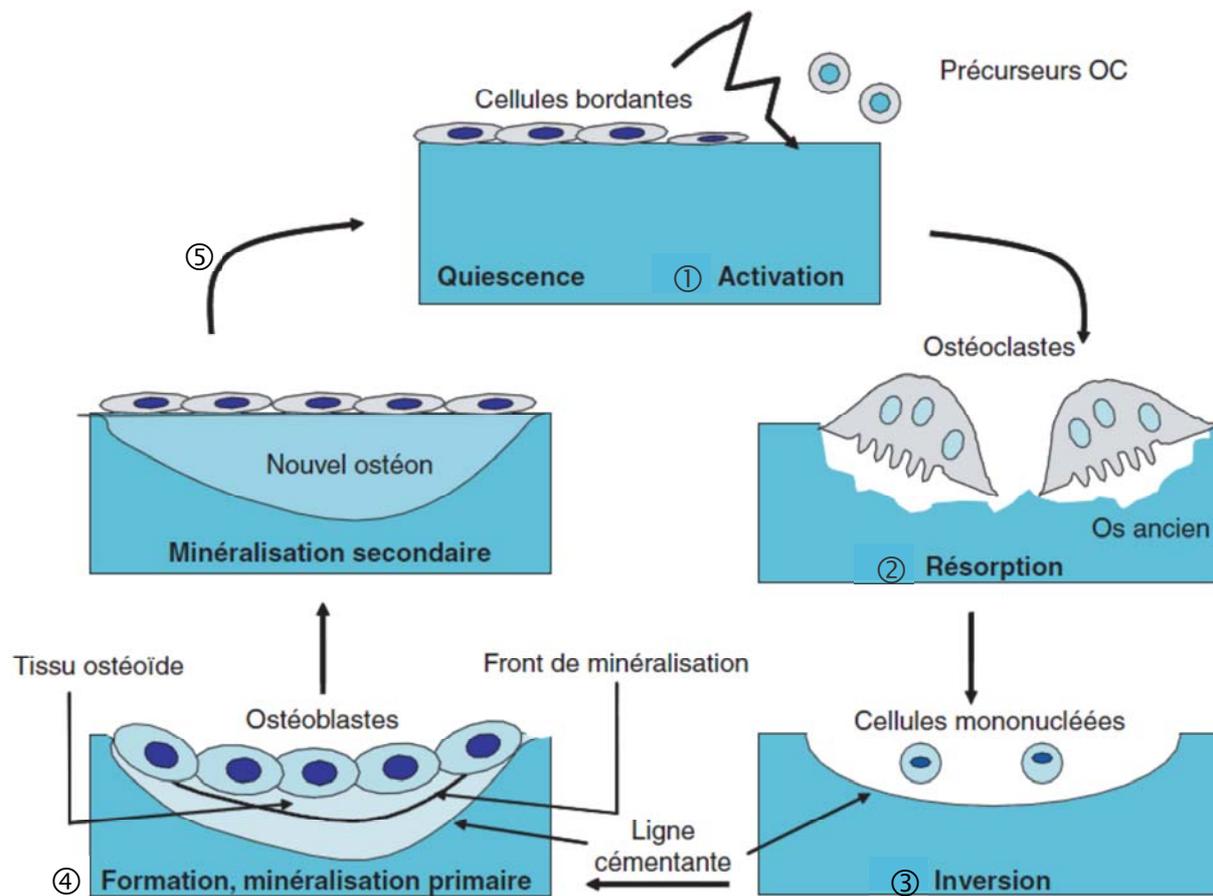


Figure 5. Les différentes séquences du remodelage osseux [Thomas2008]

→ Phase de formation ④ : les ostéoblastes issus de la différenciation des cellules ostéoprogénitrices interviennent et comblent le défaut osseux en formant une nouvelle matrice organique (l'ostéoïde). La minéralisation progressive s'ensuit depuis l'interface de l'ostéoïde

néoformée avec la partie minérale initialement présente et progresse jusqu'à la surface de la matrice organique. Au fur et à mesure que l'ostéoïde est minéralisé, les ostéoblastes deviennent moins actifs. Certains sont incorporés à la matrice organique minéralisée et deviennent des ostéocytes, d'autres se différencient et donnent des cellules bordantes, et les derniers sont éliminés par apoptose (mort cellulaire programmée).

→ Phase de quiescence ⑤ : cette étape appelée minéralisation secondaire, correspond à une accumulation de minéral dans la matrice alors que les cellules bordantes forment déjà une couche cellulaire attachée et alignée le long de la surface osseuse inactive.

L'auto-réparation du tissu osseux par remodelage est possible lorsque le défaut est de taille inférieure à une taille critique. Cette taille est définie comme « *la plus petite taille de plaie intraosseuse, dans un os donné et dans le cas d'une certaine espèce animale, qui ne peut cicatriser spontanément au cours de la vie de cet animal* » [Schmitz1986, Holliger1990]. L'usage de biomatériaux de comblement devient alors nécessaire pour les défauts osseux de taille plus importante.

### I.1.3. Comment remplacer l'os : les biomatériaux de substitution osseuse

Les pertes de substances osseuses peuvent avoir plusieurs origines. En effet, elles peuvent être congénitales, traumatiques, orthopédiques, infectieuses ou tumorales [Mainard2007]. Les chirurgiens (chirurgie orthopédique, maxillo-faciale, dentaire) doivent minimiser voire supprimer les conséquences par un comblement adéquat et satisfaisant afin d'obtenir, à terme, une bonne consolidation osseuse et la meilleure récupération fonctionnelle possible. Les premières tentatives de reconstruction datent de plusieurs siècles, mais c'est en 1810 à Amsterdam que le premier succès fut publié par Van Merren [Poitout1985]. Les premiers essais de substitution avec des matériaux non-osseux tels l'ivoire, le bois, l'or, sont également apparus au XIXe siècle, mais l'unique succès fut le plâtre de Paris [Dreesman1892], encore d'actualité.

La greffe d'os autogène (du même individu) est longtemps apparue comme la meilleure méthode de reconstruction face à une perte osseuse, en termes de biocompatibilité,

d'ostéointégration (connexion structurelle et fonctionnelle de l'os avec la surface du matériau), d'ostéoconduction (permettant la colonisation cellulaire puis le repousse osseuse), d'ostéoinduction (induisant la repousse osseuse), de performances mécaniques et de résorption (remplacement progressif du matériau de substitution par du tissu osseux sans limiter le processus de régénération). Selon le glossaire médical, ce type de greffe est défini comme un procédé consistant à prélever un « petit morceau » d'os d'une partie du corps pour réduire une lésion osseuse située dans une autre partie du corps. Cependant cela induit un second site opératoire pouvant potentiellement être infecté et ainsi un risque accru de morbidité. De plus, en fonction de la taille du défaut osseux ou de la qualité osseuse du patient, la quantité d'os disponible à prélever est limitée. En 1942, [Inclan1942] Inclan découvre comment conserver par le froid, les prélèvements d'os. Il est ainsi le précurseur des premières banques d'os, créées dans les années 1950, qui offrent une quantité de greffes osseuses (allogreffes) plus importante. Néanmoins le nombre de greffons disponibles reste également limité.

Pour remédier aux contraintes de prélèvement et de conservation de l'os, de nombreux biomatériaux sont élaborés depuis les années 1960. Ils se présentent sous forme de poudre, granules, blocs denses, ciments, gels ou matrices poreuses afin de répondre aux besoins chirurgicaux [Bongio2010].

### *I.1.3.a. Les caractéristiques des substituts osseux*

Comme nous l'avons évoqué précédemment, les substituts osseux peuvent être amenés à remplir différentes fonctions. En vue de leur utilisation en clinique, ils doivent répondre à certains critères. Ces caractéristiques définissent les qualités et l'efficacité du matériau de comblement.

#### ★ **Biocompatibilité**

La biocompatibilité des substituts employés est primordiale. Ces matériaux ainsi que leurs produits de dégradation ne doivent, en effet, ni présenter de cytotoxicité ni s'accompagner d'une forte réaction inflammatoire.

### ★ **Résistance mécanique**

Selon le site d'implantation du substitut osseux, le matériau sera plus ou moins sous charge et doit répondre à des critères mécaniques variés permettant au squelette de continuer de jouer par exemple son rôle de charpente osseuse. Il est donc important que ces matériaux présentent des propriétés mécaniques adéquates afin d'éviter leur effritement lors de la mise en place durant l'opération chirurgicale, ou leur fracture au moment de la mise en charge (cas des substituts implantés en sites porteurs).

La résistance mécanique des substituts osseux est dépendante principalement de leur nature chimique, de leur mode de fabrication et de leur architecture (structure, microstructure).

### ★ **Porosité**

L'architecture des substituts osseux est un paramètre majeur qui conditionne leur efficacité. La présence de pores interconnectés est en effet nécessaire afin de permettre la colonisation du matériau par les cellules (ostéogéniques et endothéliales) et les fluides physiologiques, et ainsi favoriser la formation de nouveaux tissus osseux au sein du matériau. Il a été montré que deux gammes de porosités doivent être présentes pour assurer une reconstruction osseuse optimale :

#### → Une macroporosité

La macroporosité correspond en général à des pores de diamètre supérieur à 100  $\mu\text{m}$ , et classiquement compris entre 300 et 600  $\mu\text{m}$ . La présence de ces macropores assure l'envahissement du matériau par les cellules, avec mise en place de la vascularisation [Hulbert1987] permettant un apport des fluides biologiques nécessaires à la survie et à la différenciation cellulaire. Une porosité minimale de 40-70  $\mu\text{m}$  est indispensable pour l'envahissement de vaisseaux et la formation d'os. Klenke et al. ont montré que la taille des macropores était directement corrélée à la quantité d'os et au nombre de vaisseaux formés après implantation de céramiques de phosphates de calcium biphasiques sur des crânes de rats. Les valeurs obtenues sont significativement plus importantes pour des gammes de porosités supérieures à 140  $\mu\text{m}$  et augmentent avec la taille des pores [Klenke2008].

→ Une microporosité

La présence de mésopores de diamètre inférieur à 10  $\mu\text{m}$ , communément appelés micropores dans le domaine des biomatériaux, joue un rôle important dans l'efficacité de reconstruction osseuse, notamment sur leurs propriétés ostéoconductrices et/ou ostéoinductrices. Il a été évoqué que ces micropores étaient susceptibles de jouer un rôle à plusieurs niveaux : augmentation de la surface spécifique des matériaux, création d'un microenvironnement spécifique à l'intérieur de ces pores, augmentation de la rugosité, augmentation de la résorbabilité. Ces différents paramètres, associés à la réactivité du matériau, pourraient donc avoir une influence sur la bioactivité du matériau ou ses capacités d'adsorption [Habibovic2008, Zhu2009].

Un matériau de substitution osseuse doit donc servir à la fois de « charpente » (qui stabilise mécaniquement l'intégrité structurale osseuse, le temps du remodelage osseux) et d'« architecture » avec une porosité interconnectée afin de faciliter la croissance osseuse en même temps que la biodégradabilité du matériau, assurant ainsi le remplacement par du tissu osseux nouvellement formé [Babis2005].

★ **Bioactivité**

Les matériaux utilisés sont en contact intime avec des tissus calcifiés qui se régénèrent spontanément. Les réactions entre le biomatériau et l'os varient en fonction des propriétés physico-chimiques, mécaniques, morphologiques et biologiques du matériau implanté. Dans les années 1990, Hench proposait de classer ces biomatériaux de substitution osseuse suivant les différents phénomènes observés à l'interface os/matériau [Hench1991, Cao1996] comme indiqué dans le Tableau 3. Dans son étude, Bongio conforte ce classement et situe les matériaux inertes dans les biomatériaux de 1<sup>ère</sup> génération, et les matériaux bioactifs, ostéointégrateurs et ostéoconducteurs dans la 2<sup>ème</sup> génération [Bongio2010]. Les biomatériaux biodégradables viennent élargir la gamme des substituts osseux de la seconde génération, et esquissent la 3<sup>ème</sup> et toute récente génération, en cours de développement.

Les matériaux de 1<sup>ère</sup> génération [Bongio2010] ou matériaux « inertes » [Hench1991, Cao1996] sont liés aux tissus via une couche fibreuse dont l'épaisseur dépend de l'implant, du tissu hôte, des mouvements, de l'ajustement de l'implant et de la charge mécanique. Du point de vue de l'efficacité de la reconstruction, dans le cas extrême d'un matériau dense (non-

poreux), utilisé sous charge tel qu'il supporte des mouvements à l'interface os/matériau, le descellement rapide de l'implant peut être observé, causé par la fissure de l'implant ou des tissus adjacents.

Tableau 3. **Classification des matériaux de substitution osseuse [Hench1991 ; Cao1996 ; Bongio2010]**

Génération*	Type de matériaux	Exemples	Attachement implant/tissu
1 <sup>ère</sup> génération*	Matériaux inertes**	alliage de titane (TA6V), alliage de Cr-Co-Mo, alumine (Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub> ), zircon (ZrO <sub>2</sub> ), polyméthacrylate de méthyle (PMMA), polyéthylène (PE)	« <b>fixation morphologique</b> » : formation d'une capsule fibreuse non adhérente
2 <sup>ème</sup> génération*	Matériaux bioactifs**	hydroxyapatite (HA), bioverres, vitrocéramiques, vitrocéramique Apatite/Wollastonite (A/W), composites, bioverre renforcé avec des fibres d'acier inox, mélanges polyéthylène (PE)-HA	« <b>fixation bioactive</b> » : formation de liaisons chimiques à l'interface implant/tissu
	Matériaux biorésorbables**	<u>Céramiques phosphocalciques</u> : phosphate tricalcique β (β-TCP), phosphate de calcium carbonaté, céramiques phosphocalciques biphasiques, <u>Matériaux à base de polymère</u> : <i>Origine synthétique</i> : acide polylactique (PLA), acide polyglycolique (PGA) <i>Origine biologique</i> : Allogreffe de matrice osseuse déminéralisée (DBM) seule ou intégrée sur différents supports (lécithine, gélatine, hydrogel, glycérol, amidon, collagène, hyaluronate de sodium) <u>Matériaux hybrides</u> composés à la fois de phosphate de calcium et de collagène ou de DBM	<b>absence de fixation</b> : remplacement progressif par du tissu régénéré
3 <sup>ème</sup> génération*	Matériaux ostéoinducteur*	Biomatériaux du génie tissulaire, biomatériaux intelligents, biomatériaux biomimétiques : matériaux céramiques et matériaux polymériques	<b>fixation cellulaire</b>

\*[Bongio2010], \*\*[Hench1991, Cao1996]

Les matériaux de 2<sup>ème</sup> génération [Bongio2010] ou matériaux « bioactifs » [Hench1991, Cao1996] entraînent des réactions biophysiques et biochimiques à l'interface avec les tissus, et créent un environnement minéral favorable à la croissance osseuse. Cette définition donnée par Hench [Hench1972] situe les matériaux bioactifs dans un état intermédiaire entre les matériaux inertes et les matériaux résorbables [Hench 1991]. L'efficacité de la reconstruction osseuse est liée au temps de formation de la fixation dite bioactive, à la résistance de la

fixation, au mécanisme de formation des liaisons et à l'épaisseur de la zone de fixation. L'ensemble de ces paramètres est propre à chaque matériau. Dans la plupart des cas, la résistance d'adhésion à l'interface est au moins équivalente à la résistance de cohésion de l'implant ou des tissus liés à l'implant bioactif. Ainsi dans le cas d'un échec, la rupture a toujours lieu dans l'os, ou dans l'implant, mais jamais au niveau de la jonction interfaciale.

Les matériaux « résorbables » [Hench1991, Cao1996] font la transition entre la 2<sup>ème</sup> génération et la 3<sup>ème</sup> génération [Bongio2010]. Ils se dégradent avec le temps et sont progressivement remplacés par du tissu osseux régénéré. Les produits de dégradation sont métabolisés par l'organisme. Pour obtenir une reconstruction osseuse performante, ces matériaux doivent posséder une cinétique de résorption voisine de la cinétique d'ossification [de Groot1983]. De plus, l'interface doit rester stable et résistante pendant toute cette période de résorption/régénération. Ces matériaux sont généralement utilisés avec succès dans le cas où l'implant est soumis à de faibles contraintes mécaniques (en sites non-porteurs). Les matériaux de substitution osseuse commercialisés jusqu'en 2009 [Bongio2010] sont de 2<sup>ème</sup> génération, ostéoconducteurs et résorbables. Parmi ceux-ci, les matrices osseuses déminéralisées (DBM) présentent l'avantage d'être ostéoinductrices [Lee2005], néanmoins leur performance ostéogénique est variable en fonction de la méthode de préparation, du support, de la technique de stérilisation, du stockage et du donneur.

La recherche sur les biomatériaux est d'autant plus importante que leur nécessité croît en raison du vieillissement régulier de la population et du refus de l'homme d'accepter la douleur ou le handicap. La préservation de l'intégrité corporelle et de l'autonomie des personnes est en effet un enjeu majeur de notre société. Plusieurs axes de recherche sont élaborés pour concevoir et développer de nouveaux matériaux destinés à remplir des tâches que le corps n'est plus capable d'assurer seul. Aujourd'hui, un grand nombre de professions travaillent dans ce domaine et l'approche interdisciplinaire est essentielle. La 3<sup>ème</sup> génération de matériaux de substitution osseuse doit être capable d'amorcer activement le processus de formation du tissu osseux (ostéoinduction) et du système vasculaire (angiogénèse) [Bongio2010]. Ces matériaux de dernière génération devront intégrer l'ensemble des considérations multidisciplinaires élaborées par de nombreux experts du milieu médical (médecins, biologistes et chirurgiens) et ceux du milieu scientifique (ingénieurs en mécanique, scientifiques en matériaux, physico-chimistes) afin d'influencer l'environnement physiologique du site d'implantation pour obtenir une réponse biologique spécifique en vue d'une réelle intégration du matériau au sein

du tissu osseux hôte [Hutmacher2007]. Pour cela la composition chimique ne doit pas être considérée seule, les propriétés mécaniques au moment de l'implantation, l'évolution de ces propriétés après implantation, ainsi que les propriétés physiques influencent les réponses biologiques et l'efficacité de la reconstruction osseuse du matériau de substitution.

Toute la difficulté de cette tâche, mais qui en fait également sa noblesse, consiste ainsi à faire évoluer et communiquer tous ces acteurs de façon à atteindre le but fixé par tous : faire progresser la médecine de l'os au service du patient.

#### *I.1.3.b. Les biocéramiques de substitution osseuse*

Sur le marché des matériaux de substitution osseuse, les céramiques tiennent une place importante. Leur biocompatibilité et ostéoconductivité leur permettent d'être utilisées au niveau de diverses lésions du squelette, comme comblement osseux pour le traitement de défauts osseux, traitement de fracture, en particulier en orthopédie et en reconstruction maxillo-faciale [Rahaman2007, Best2008]. Du point de vue clinique, il est reconnu que le succès d'une biocéramique requiert à la fois une interface stable avec les tissus en contact et un comportement mécanique de l'implant similaire à celui des tissus lésés [Hench1991]. Le Tableau 4 donne quelques exemples de biocéramiques avec leurs propriétés mécaniques, en comparaison avec celles des os humains.

Outre une bioactivité souvent limitée, l'un des problèmes des céramiques actuelles concerne les propriétés mécaniques : tandis que la ténacité à la rupture est trop faible, le module d'Young est trop élevé, comme par exemple celui de l'HA stœchiométrique qui est 3 à 16 fois supérieur à celui de l'os cortical [Kokubo2003].

**Tableau 4. Propriétés mécaniques de biocéramiques et de l'os cortical et spongieux humain [Kokubo1998,2003, Hench1991,1998, Rho1998]**

	Densité	Résistance (MPa)			Module d'Young (GPa)	Ténacité à la rupture (MPa.m <sup>1/2</sup> )
		Compression	Tension			
Alumine >99.8 wt%	>3,93	4500	550	380		5-6
Zircone partiellement stabilisée	5,6-6,12		1200	200		15
Bioglass® (45S5)	2,6572	–	42	35		–
HA >99.2 wt%	3,156	500-1000	115-200	80-110		1,0
Whitlockite >99.7 wt%	3,07	460-687	140-154	33-90		
Vitrocéramique Bioverit	2,8	500	100-160	70-88		0,5-1,0
Vitrocéramique Ceravital		500		100-150		
Vitrocéramique Cerabone A-W	3,07	1080	215	218		2,0
Os humain	spongieux		2-12	10-20	0,05-0,5	–
	cortical	1,6-2,1	100-230	50-150	7-30	2-12

#### I.1.4. Les biocéramiques phosphocalciques

Ces matériaux sont étudiés depuis 1920 avec la première implantation du phosphate tricalcique (TCP) réalisée par Albee et Morrison [Albee1920]. Tandis que la biocéramique phosphocalcique industrielle la moins coûteuse reste l'hydroxyapatite (HA), le phosphate tricalcique (TCP) est facilement disponible à l'échelle industrielle [Rey1998]. L'intérêt porté à ces matériaux, accru dès les années 1970, est dû à leur ressemblance chimique voire structurale avec le minéral osseux.

##### I.1.4.a. *Généralités sur les orthophosphates de calcium*

Les phosphates de calcium existent sous de nombreuses phases comme le montre le diagramme de phases CaO-P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> proposé par Kreidler et Hummel (Figure 6) [Kreidler1967].

A l'exception du pyrophosphate de calcium, de formule chimique  $\text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7$ , la majeure partie des phosphates de calcium utilisés *in vivo* sont des orthophosphates de calcium (que nous noterons CaP). En effet ils contiennent le groupement orthophosphate  $\text{PO}_4$ , éventuellement protoné. Les CaP sont les sels de l'acide orthophosphorique ( $\text{H}_3\text{PO}_4$ ) et constituent une grande famille de composés, dont le plus connu est l'hydroxyapatite phosphocalcique stœchiométrique (HA) de rapport atomique Calcium sur Phosphore, que nous écrirons Ca/P, égal à  $10/6 = 1,67$ .

Le Tableau 5 regroupe les différents orthophosphates de calcium que comprend le système  $\text{Ca}(\text{OH})_2 - \text{H}_3\text{PO}_4$  et donne leur rapport atomique Ca/P. Parmi ces composés, on distingue ceux obtenus par voie humide (précipitation) et ceux obtenus par voie sèche (décomposition ou synthèse à haute température) [Bohner2000].

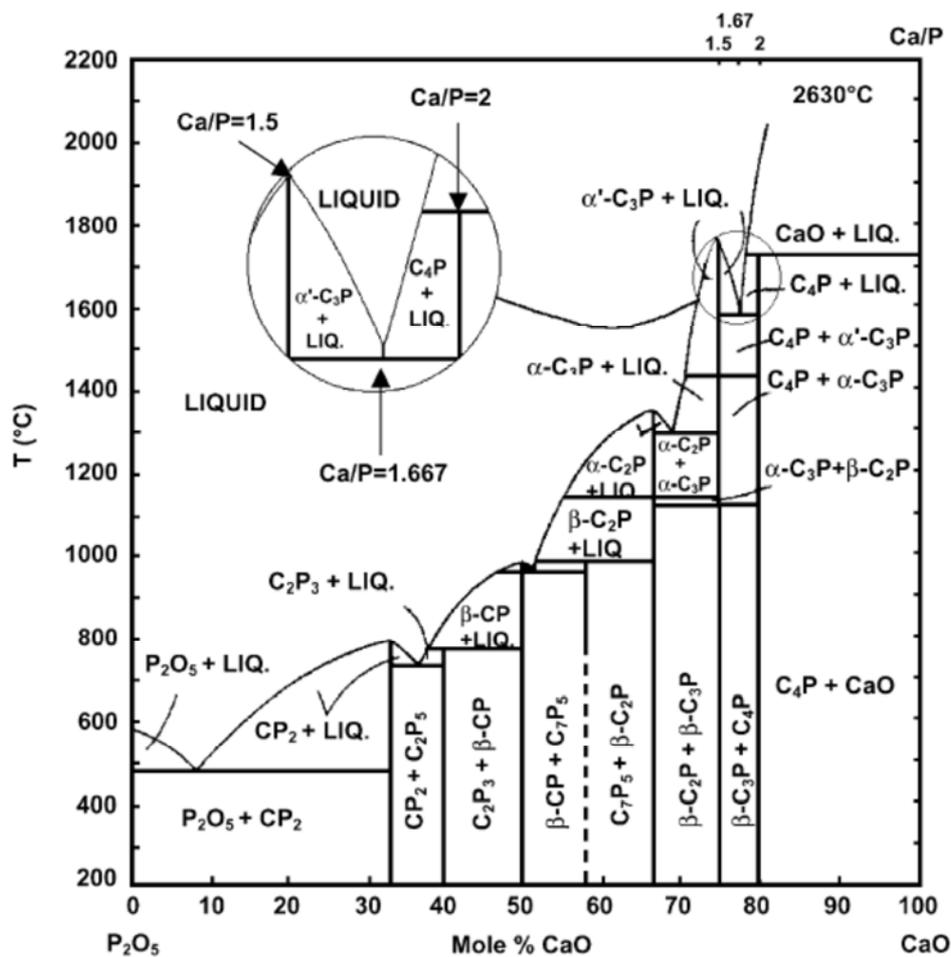


Figure 6. Diagramme de phases du système  $\text{CaO}-\text{P}_2\text{O}_5$  ( $\text{C}=\text{CaO}$ ,  $\text{P}=\text{P}_2\text{O}_5$ ) [Kreidler1967]

Tableau 5. Les différents orthophosphates de calcium [Bohner2000, Banu2005]

Nom	Formule chimique	Ca/P (atomique)	Symbole
Phosphate monocalcique anhydre <sup>1</sup>	Ca(H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub>	0,5	MCPA
Phosphate monocalcique monohydraté <sup>1</sup>	Ca(H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> , H <sub>2</sub> O	0,5	MCPM
Phosphate dicalcique anhydre (monétite) <sup>1</sup>	CaHPO <sub>4</sub>	1,00	DCPA
Phosphate dicalcique dihydraté (brushite) <sup>1</sup>	CaHPO <sub>4</sub> , 2H <sub>2</sub> O	1,00	DCPD
Phosphate octocalcique triclinique <sup>1</sup>	Ca <sub>8</sub> (PO <sub>4</sub> ) <sub>4</sub> (HPO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> , 5H <sub>2</sub> O	1,33	OCPt
Phosphate octocalcique apatitique <sup>1</sup>	Ca <sub>8</sub> (HPO <sub>4</sub> ) <sub>2,5</sub> (PO <sub>4</sub> ) <sub>3,5</sub> (OH) <sub>0,5</sub>	1,33	OCPa
Phosphate octocalcique amorphe <sup>1</sup>	Ca <sub>8</sub> (PO <sub>4</sub> ) <sub>4</sub> (HPO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> , nH <sub>2</sub> O	1,33	OCPam
Phosphate tricalcique apatitique <sup>1</sup>	Ca <sub>9</sub> (PO <sub>4</sub> ) <sub>5</sub> (HPO <sub>4</sub> )(OH)	1,50	TCPa
Phosphate tricalcique amorphe <sup>1</sup>	Ca <sub>9</sub> (PO <sub>4</sub> ) <sub>6</sub> , nH <sub>2</sub> O	1,50	TCPam
Phosphate tricalcique α, α' ou β <sup>2</sup>	Ca <sub>3</sub> (PO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub>	1,50	α- (β-) TCP
(Hydroxy)apatite non-stœchiométrique <sup>1</sup>	Ca <sub>10-x</sub> (PO <sub>4</sub> ) <sub>6-x</sub> (HPO <sub>4</sub> ) <sub>x</sub> (OH) <sub>2-x</sub>	1,33-1,67	PCA
Hydroxyapatite stœchiométrique <sup>1,2</sup>	Ca <sub>10</sub> (PO <sub>4</sub> ) <sub>6</sub> (OH) <sub>2</sub>	1,67	HA
Oxyapatite <sup>2</sup>	Ca <sub>10</sub> (PO <sub>4</sub> ) <sub>6</sub> O	1,67	OXA
Phosphate tétracalcique (hilgenstockite) <sup>2</sup>	Ca <sub>4</sub> (PO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> O	2,00	TTCP

<sup>1</sup>: Orthophosphates obtenus par voie humide

<sup>2</sup>: Orthophosphates obtenus à haute température (>650°C) par voie sèche

Différentes phases peuvent être utilisées, selon leur capacité à se résorber dans le corps. Une caractéristique fondamentale des phosphates de calcium résorbables est leur solubilité dans l'eau car leur comportement *in vivo* peut être pressenti en grande partie à partir de ce paramètre [Driessens1988]. Si dans l'eau, le CaP se solubilise moins vite que la partie minérale de l'os, alors *in vivo*, sa dégradation sera extrêmement lente. En revanche, si le CaP se solubilise plus rapidement que le minéral osseux, alors *in vivo* sa dégradation sera effective. Même si la solubilité dans l'eau ne permet pas de prédire exactement la vitesse de dégradation *in vivo*, il est possible de classer les CaP en fonction de leur vitesse de dégradation attendue (à pH 7,0). En 2000, Bohner proposait notamment l'ordre suivant : TTCP ≈ α-TCP > DCPD > DCPA > OCPt > β-TCP > HA [Bohner2000].

Le classement des phosphates de calcium en fonction de leur rapport atomique Ca/P est très courant. Cette valeur est un paramètre important des céramiques phosphocalciques, et joue un rôle sur la vitesse de résorption *in vivo*, de même que la valeur du pH, les concentrations ioniques de la solution environnante (fluides biologiques), la température et l'état de surface du matériau [Schmidt1999].

Dans la suite de cette présentation, nous allons approfondir les phosphates de calcium que nous avons rencontrés au cours de ce travail, leurs caractéristiques et leur voie de synthèse.

#### *I.1.4.b. Le phosphate dicalcique anhydre*

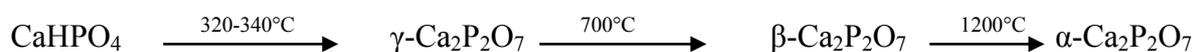
Le DCPA ou monétite, de composition chimique  $\text{CaHPO}_4$ , peut être obtenu à partir de solutions de calcium et d'acide phosphorique par neutralisation de la première acidité de  $\text{H}_3\text{PO}_4$  [Mooney1961], double décomposition de solutions de calcium et de phosphate à pH acide ( $\approx 3$ ),  $T \approx 85^\circ\text{C}$  [Frèche1989, Martin1997], voie sol-gel [Eshtiagh-Hosseini2008], ou décomposition thermique du DCPD entre  $60^\circ\text{C}$  et  $100^\circ\text{C}$  [Kanazawa1989].

La monétite cristallise dans le système triclinique dans le groupe spatial P-1 [Catti1980].

Elle est utilisée dans la formulation de ciments orthopédiques [Brown1987a], et peut être rencontrée associée à d'autres CaP.

#### *I.1.4.c. Le pyrophosphate de calcium*

Les pyrophosphates de calcium, que nous nommerons CPP, répondent à la formule chimique  $\text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7$ , et ont un rapport atomique Ca/P = 1. Ils proviennent notamment de la condensation du DCPA. Les CPP cristallisent sous 3 formes allotropiques  $\alpha$ ,  $\beta$  et  $\gamma$  en fonction de la température :



La forme  $\gamma$  est orthorhombique, la forme  $\beta$  est tétragonale (groupe d'espace  $\text{P4}_1$ ) [Webb1966] et la forme  $\alpha$  est monoclinique (groupe d'espace  $\text{P2}_1/\text{n}$ ) [Safronova2007].

Comme précisé dans le paragraphe I.1.4.a, les CPP n'appartiennent pas à la famille des orthophosphates puisqu'ils sont composés de groupements  $\text{P}_2\text{O}_7^{4-}$ .

Les CPP sont naturellement présents dans les articulations des personnes souffrant d'arthrite et d'arthrose. Ceci explique que la communauté scientifique ne prête pas beaucoup d'intérêt à leur utilisation en tant que substitut osseux. Néanmoins, les ions pyrophosphate s'apparentent à l'unité structurale principale des biphosphonates [Tanko2003], c'est-à-dire la base des médicaments pour certains traitements actuels de l'ostéoporose et de diabète [Mattano2004].

#### I.1.4.d. Les phosphates tricalciques

Comme l'indique le Tableau 5, l'appellation phosphate tricalcique regroupe une famille de composés dont le rapport atomique Ca/P est égal à 1,5. Cette famille comprend :

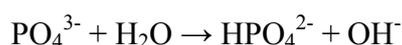
- Le phosphate tricalcique amorphe :  $\text{Ca}_9(\text{PO}_4)_6, n\text{H}_2\text{O}$
- Le phosphate tricalcique apatitique :  $\text{Ca}_9(\text{PO}_4)_5(\text{HPO}_4)(\text{OH})$
- Les phosphates tricalciques cristallisés  $\alpha$ ,  $\alpha'$  ou  $\beta$  :  $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$

##### ★ Le phosphate tricalcique amorphe (TCPam)

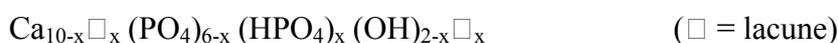
Le TCPam de formule  $\text{Ca}_9(\text{PO}_4)_6, n\text{H}_2\text{O}$  peut être une phase de transition avant la cristallisation d'apatite non-stœchiométrique. Il peut être obtenu par hydrolyse de la brushite (DCPD) [Montel1953] en milieu aqueux, ou par double décomposition de solutions de calcium et de phosphate en milieu aqueux [Heughebaert1977] ou en milieu hydroalcoolique [Zahidi1984].

##### ★ Le phosphate tricalcique apatitique (TCPap)

Le TCPap est la forme (mal) cristallisée basse température du TCPam. Lors de la cristallisation, l'hydrolyse interne d'un groupe  $\text{PO}_4^{3-}$  par unité formulaire [Heughebaert1977] conduit à une composition chimique différente de celle du TCPam, selon l'équation chimique suivante :



Il se forme alors un composé de formule générale suivante :

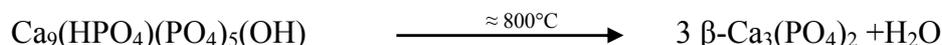


Dans le cas du TCPap, x est égal à 1 et le composé répond à la formule  $\text{Ca}_9(\text{HPO}_4)(\text{PO}_4)_5(\text{OH})$ .

Il peut être obtenu à partir des mêmes voies de synthèse que le TCPam, le gel étant séché à l'étuve (ex : à 70°C) au lieu d'être lyophilisé.

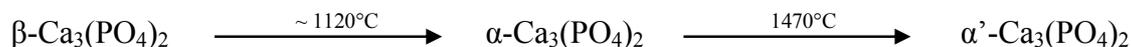
★ **Les phosphates tricalciques cristallisés  $\alpha$ ,  $\alpha'$  ou  $\beta$**

Les phosphates tricalciques  $\alpha$ ,  $\alpha'$  ou  $\beta$  sont des composés anhydres obtenus par calcination du TCPap au-dessus de 800°C [Macarovic1966, Heughebaert1977].



Le phosphate tricalcique cristallise sous trois formes allotropiques :  $\alpha$ ,  $\beta$  et  $\alpha'$  de même composition chimique  $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ , mais avec des structures cristallographiques différentes. La stabilité de chaque forme dépend de la température.

La forme  $\beta$ , rhomboédrique (groupe d'espace R3c) [Dickens1974], (notée  $\beta$ -TCP) est la plus utilisée pour la fabrication de substituts osseux en raison de sa vitesse de résorption adaptée à la vitesse de repousse osseuse *in vivo*. Elle est stable à température ambiante, jusqu'à 930°C, 1120°C ou 1200°C selon les publications [Ababou1994, Bignon2002, Mathew1977, Monma1983, Royer1992, Tampieri1997, Yubao1993]. Cette température définit la transition métastable-stable du TCP en phase  $\alpha$ , monoclinique (groupe d'espace P2<sub>1</sub>/a), qui est stable jusqu'à 1470°C. Au-delà de 1470°C, la phase  $\alpha'$ , orthorhombique, est stable [Nurse1959].



Immergé en milieu aqueux, l' $\alpha$ -TCP se transforme en apatite par hydrolyse [Bohner2000]. Cette propriété lui permet d'être utilisé dans la composition de ciments phosphocalciques.

*I.1.4.e. L'hydroxyapatite*

L'hydroxyapatite (HA) est une apatite de la famille des orthophosphates de calcium. En raison de sa ressemblance avec le minéral osseux, sa structure cristalline, sa composition chimique, l'HA, de formule chimique  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$  est le phosphate de calcium le plus utilisé pour la fabrication des dispositifs implantables phosphocalciques, sous forme de céramiques, de revêtements, de ciments ou de composites. Néanmoins, en raison de sa stoechiométrie, l'HA pure, avec un rapport atomique Ca/P = 1,667 n'est pas rencontrée dans les systèmes biologiques, et malgré son excellente biocompatibilité, elle montre une bioactivité très faible.

## ★ Les voies de synthèse

Plusieurs méthodes de préparation de l'HA ont été reportées dans la littérature scientifique. Il est possible de les classer selon deux familles, à savoir l'utilisation de la voie humide et les réactions à l'état solide [Kurosawa1986]. D'autres méthodes alternatives sont également envisageables.

En fonction de la technique utilisée, le produit final sera différent en termes de morphologie, stœchiométrie et cristallinité [Young1982].

- Les réactions à l'état solide

Les réactions à l'état solide, telle la synthèse par traitement mécano-chimique [Rhee2002], conduisent majoritairement à des composés stœchiométriques et bien cristallisés. Le frittage de ces poudres est simple, mais le point négatif est le besoin d'effectuer un long traitement thermique à haute température (au-delà de 1000°C) [Suchanek1998].

- La synthèse par voie humide

Différentes méthodes d'obtention par voie humide sont envisageables :

→ La précipitation en voie aqueuse par double décomposition de sels de calcium et de phosphate [Hayek1963, Trombe1972, Arends1987, Rodriguez-Lorenzo2000] ou par neutralisation de la chaux par de l'acide phosphorique [Trombe1972, saka1991]

Le taux de cristallinité et le rapport Ca/P dépendent fortement des conditions de synthèse. Cependant, les apatites obtenues par précipitation sont parfois déficitaires en calcium avec un rapport Ca/P légèrement inférieur à celui de l'HA stœchiométrique bien cristallisée (Ca/P = 1,667).

→ L'hydrolyse d'autres phosphates de calcium, tel l' $\alpha$ -TCP [Sinitsyna2005]

→ La synthèse par voie hydrothermale [Raynaud2002]

- L'élaboration par des techniques alternatives

Voici quelques exemples qui conduisent à l'élaboration de poudres d'HA pure :

- La voie sol-gel [Deptula1992]
- L'irradiation micro-onde [Lerner1991]
- La méthode de l'émulsion [Lim1997]
- La pyrolyse d'un aérosol [Vallet-Regi1993]

Notons que les voies de synthèse de choix qui conduisent à une apatite qui, contrairement à l'HA stœchiométrique, imite l'apatite biologique, permettent l'obtention de particules de taille nanométrique. Ces synthèses impliquent généralement la voie humide telle la technique de pyrolyse d'un aérosol ou la précipitation en solution aqueuse. Cette dernière est par ailleurs la base de la synthèse des apatites biomimétiques qui font l'objet de ce travail.

#### ★ **Structure de l'HA**

L'HA cristallise dans une structure cristallographique hexagonale du groupe spatial  $P6_3/m$  [Elliot1994]. Ses paramètres de maille sont les suivants [ICDD-PDF 00-09-0432] :

$$a = b = 9,418 \text{ \AA} ; c = 6,884 \text{ \AA} \quad \beta = 120^\circ$$

La maille cristalline de l'HA représentée sur la Figure 7 contient un motif  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ . La structure cristallographique consiste en un empilement de groupements phosphate qui forment deux types de tunnels. Un premier type de tunnels est occupé par 4 des 10 cations calcium contenus dans la maille élémentaire hexagonale, notés Ca(I). Les 6 autres cations calcium, notés Ca(II) forment par ailleurs des triangles équilatéraux bordant le second type de tunnels dits « tunnels apatitiques ». Les ions  $\text{OH}^-$  sont localisés au centre de ces tunnels en position légèrement décalée du barycentre de chaque triangle équilatéral formé par les cations Ca(II). La taille de ce second type de tunnels confère aux apatites des propriétés remarquables d'échangeur d'ions et d'accepteur de petites molécules [Montrejaud1973, Rey1978, Rey1984]. Les ions qui se trouvent dans ces tunnels sont peu liés au reste du réseau qui constitue l'édifice stable [Boyer1998].

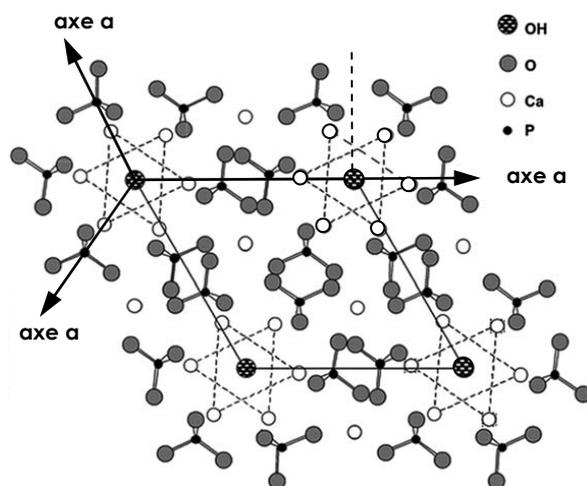


Figure 7. Structure cristalline de l'HA (Projection sur le plan de base (004) de la maille de l'HA selon [Young1973])

### I.1.5. Les apatites lacunaires

#### I.1.5.a. *L'écart à la stœchiométrie*

Il y a 150 ans, le nom « apatite », d'origine grecque, a été donné à un groupe de minéraux. Il signifie « décevant » car ces minéraux avaient été confondus avec des améthystes. Cette famille de composés peut être représentée en termes de cations bivalents ( $M^{2+}$ ), d'anions trivalents ( $XO_4^{3-}$ ), et d'anions monovalents ( $Z^-$ ), par la formule  $M_{10}(XO_4)_6Z_2$ . La plupart des apatites cristallisent dans le système hexagonal (groupe d'espace  $P6_3/m$ ) qui est celui de l'hydroxyapatite phosphocalcique stœchiométrique (HA), mais la majorité des apatites sont non-stœchiométriques, avec notamment un défaut de calcium, contrairement à l'HA. Le rapport atomique  $M/X$ , compris entre 1,33 et 1,667 caractérise alors cet écart à la stœchiométrie.

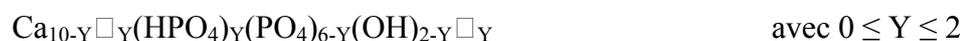
La structure apatitique admet ainsi de larges écarts à la stœchiométrie et permet par ailleurs un grand nombre de substitutions anioniques et cationiques (Tableau 6) [Young1975, LeGeros1980]. Deux cas limites de substitutions ioniques sont possibles. Dans un cas, un ion peut être substitué par un autre ion de même charge mais de taille différente, ce qui aura pour conséquence une déformation de la maille et une variation des paramètres cristallins  $a$  et  $c$ . Dans l'autre cas, l'ion peut être échangé par un ion de charge différente. Par un mécanisme de

compensation des charges [Montel1981], la création de lacunes (notées  $\square$ ) interviendra alors en sites  $M^{2+}$  et en site  $Z$ . Il est à noter qu'aucune apatite possédant des lacunes en site  $XO_4^{3-}$  n'a été décrite dans la littérature à notre connaissance.

**Tableau 6. Exemples de substitutions dans la structure apatitique**

$M^{2+}$			$XO_4^{3-}$			$Z$		
$Ca^{2+}$	$Sr^{2+}$	$Cd^{2+}$						
$Mg^{2+}$	$Ba^{2+}$	$Pb^{2+}$	$PO_4^{3-}$	$SiO_4^{4-}$	$AsO_4^{3-}$	$OH^-$	$F^-$	$Cl^-$
$Cu^{2+}$	$Zn^{2+}$	$Mn^{2+}$	$SO_4^{2-}$	$MnO_4^-$	$VO_4^{3-}$	$Br^-$	$I^-$	$\square$
$Ni^{2+}$	$Co^{2+}$	$Pb^{2+}$	$CrO_4^{2-}$	$CO_3^{2-}$	$HPO_4^{2-}$	$S^{2-}$	$O^{2-}$	$CO_3^{2-}$
$\square$	$Na^+$	$K^+$						
	$Y^{3+}$	$Eu^{3+}$						

L'état de cristallinité est d'autant plus faible et la solubilité d'autant plus grande que l'apatite s'éloigne de la stœchiométrie. Afin de valoriser la présence des ions  $HPO_4^{2-}$ , les apatites non-stœchiométriques de synthèse, de même que les apatites biologiques, s'écrivent fréquemment sous la forme [Winand1961] :



où  $Y = 0$  correspond à l'hydroxyapatite stœchiométrique de rapport  $Ca/P = 1,667$ . Certains auteurs ont réussi à synthétiser en milieu hydroalcoolique des apatites de rapport atomique  $Ca/P$  égal à 1,33 [Zahidi1985], ce qui correspond à  $Y = 2$  (OCP apatitique). Néanmoins, cette formule chimique ne prend pas en compte les variations de composition des apatites synthétiques qui ont des lacunes en ions  $Ca^{2+}$  liées au défaut de remplissage des tunnels apatitiques par les ions  $OH^-$ . Un paramètre  $Z$  est alors nécessaire afin de compenser les charges [Kuhl1963] :



#### ★ Le comportement des apatites non-stœchiométriques à haute température

Les apatitiques phosphocalciques non-stœchiométriques se comportent différemment à haute température selon leur composition chimique de départ. Ainsi, lors de la calcination à  $1000^\circ C$  pendant 15h d'un solide de rapport atomique  $Ca/P$  [AFNOR2008] :

→ supérieur à 1,667, on obtient la formation d'hydroxyapatite de rapport Ca/P = 1,667 et la formation de chaux (CaO).

→ égal à 1,667, on obtient la formation d'une hydroxyapatite stœchiométrique de rapport Ca/P = 1,667. Cela revient à dire que l'hydroxyapatite stœchiométrique n'est pas modifiée lors de la calcination.

→ compris entre 1,50 et 1,667, l'apatite non stœchiométrique se décompose en phosphate tricalcique  $\beta$  de rapport Ca/P = 1,50 et en hydroxyapatite stœchiométrique de rapport Ca/P = 1,667 [Gibson2000, Raynaud2002].

→ égal à 1,5, le solide se décompose en phosphate tricalcique  $\beta$  de rapport Ca/P = 1,5.

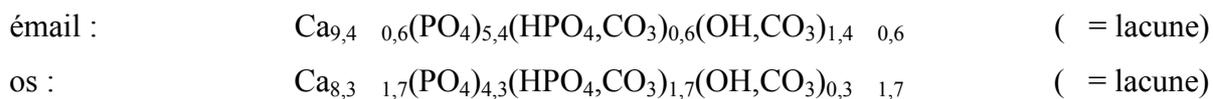
→ inférieur à 1,50, le solide se décompose en pyrophosphate de calcium de rapport Ca/P = 1 et phosphate tricalcique  $\beta$  de rapport Ca/P = 1,5.

#### *I.1.5.b. Les apatites nanocristallines « biomimétiques » analogues au minéral osseux*

##### **★ Quelques rappels sur les apatites biologiques**

Rappelons que les apatites biologiques sont généralement nanocristallines, carbonatées et non-stœchiométriques, avec des lacunes en ions  $\text{Ca}^{2+}$  et  $\text{OH}^-$ . La composition chimique, le taux de minéralisation, la taille et l'orientation des cristaux jouent un rôle dans la faculté d'adaptation des apatites biologiques à leur fonction dans l'organisme [Cazalbou2004c]. Par exemple, l'émail dentaire, dont le taux de dissolution est très faible, possède un taux de minéralisation de 100 %, des cristaux larges avec une faible surface spécifique. En opposition, le minéral osseux offre différents taux de minéralisation, les plus faibles étant présents dans les zones, telle l'épiphyse, où le remodelage osseux est très rapide [Cazalbou2004c]. Les cristaux sont de taille nanométrique avec une surface spécifique élevée qui favorise la dissolution. De plus l'orientation des cristaux est plus aléatoire dans le minéral osseux que dans l'émail dentaire [Camacho1999].

Concernant la composition chimique, la présence de nombreuses lacunes et de substitutions dans les apatites biologiques leur permet un large panel de propriétés physico-chimiques. Par exemple, la composition chimique moyenne de l'émail dentaire [Legros1987], proche de la stœchiométrie [Eanes 1979], contrairement à celle du minéral osseux [Legros1987] :



permet une faible solubilité et favorise une meilleure résistance aux attaques buccales. A l'inverse, le nombre important de lacunes dans la composition chimique du minéral osseux, contribue à améliorer sa capacité de dissolution, et est à l'origine de sa grande capacité de stockage des ions de l'organisme [Cazalbou2004c]. De plus, la teneur en ions OH<sup>-</sup> dans le minéral osseux reste très faible, quel que soit l'âge de l'individu, et ces ions sont à peine détectables [Rey1995, Pasteris2004].

Mais la définition d'une composition moyenne, dans le cas du minéral osseux par exemple, ne reflète pas les variations importantes de compositions au sein même des unités structurales de l'os, voire entre les cristaux d'apatite [Paschalis1996]. De plus, plusieurs propriétés du minéral osseux, telle que leur réactivité ionique, suggèrent l'existence de modifications de la surface et même une composition chimique de la surface des nanocristaux, différente de celle du cœur [Eichert2007].

#### ★ Les apatites nanocristallines biomimétiques

Parmi les différentes voies de synthèse qui conduisent à la formation d'apatites non-stœchiométriques, de rapport Ca/P < 1,667, la synthèse par précipitation conduit à une apatite plus ou moins bien cristallisée et plus ou moins déficitaire (en ions calcium et hydroxyde), en fonction notamment du pH, de la température de synthèse [Eichert2007] et de la méthode de séchage [Lebugle1986, Dabbarh2000].

En l'absence de traitement thermique qui conduit à des composés biphasiques bien cristallisés, comme décrit précédemment, les apatites non-stœchiométriques, de la même façon que les apatites biologiques, sont nanocristallines et faiblement cristallisées comme le montre les diffractogrammes (Figure 8C et D) d'apatites nanocristallines, respectivement biomimétique (que nous nommerons ANB) et biologique, comparées aux diffractogrammes de l'HA (Figure 8A et B), respectivement après (A) et avant (B) traitement thermique à 1000°C pendant 15h.

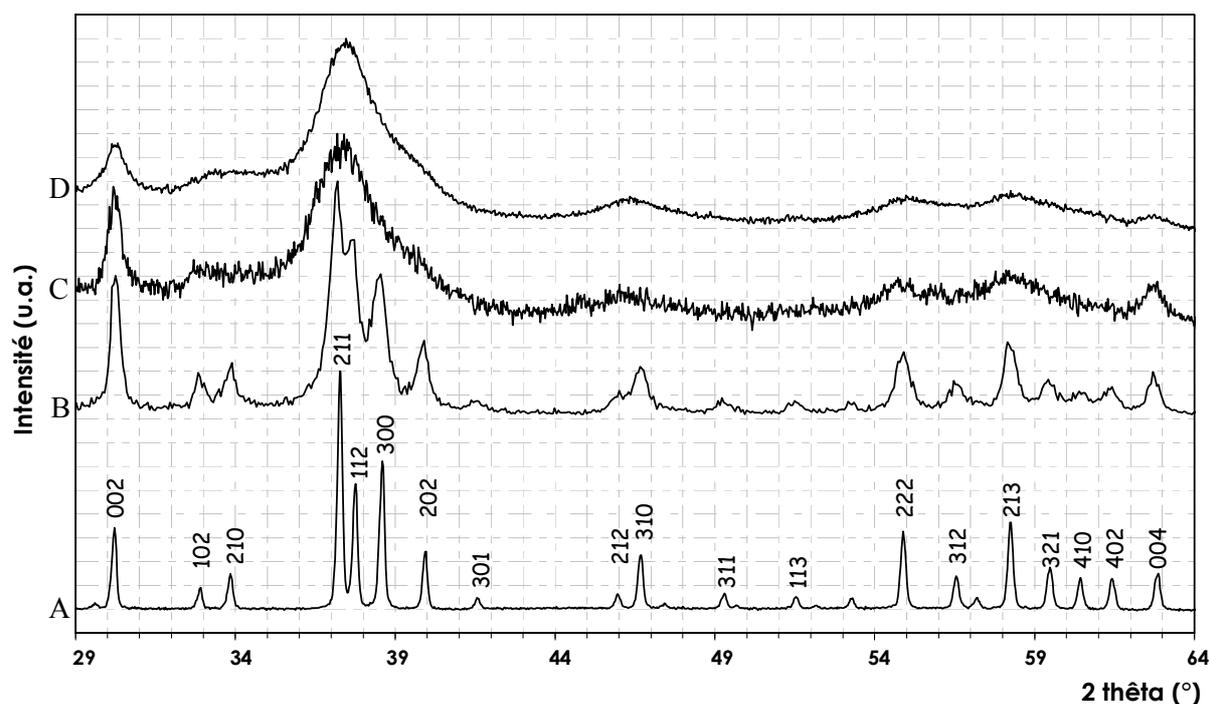


Figure 8. Diagramme de diffraction des rayons X de l'HA stœchiométrique après (A) et avant (B) traitement thermique à 1000°C pendant 15h, d'une apatite nanocristalline biomimétique (ANB) (C) et du minéral osseux de rat âgé d'1 mois (D)

Une caractéristique majeure supplémentaire des apatites biologiques et des ANB est la présence d'environnements ioniques qui n'existent pas dans les apatites bien cristallisées. Ces environnements, dont certains (ions phosphate, carbonate) sont visibles par spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (Figure 9B), ont été attribués à la présence, à la surface des cristaux, d'une couche hydratée organisée contenant des ions minéraux labiles [Rey1989, Eichert2002].

Cette couche hydratée, qui contient des espèces ioniques relativement mobiles et facilement échangeables (Figure 10) [Ouizat1999, Cazalbou2000], évolue au cours du temps. Elle serait responsable de la très grande réactivité de surface des apatites biologiques, qui présentent de très fortes capacités d'échanges ioniques et d'adsorption de protéines (Pr) disponibles dans les fluides biologiques.

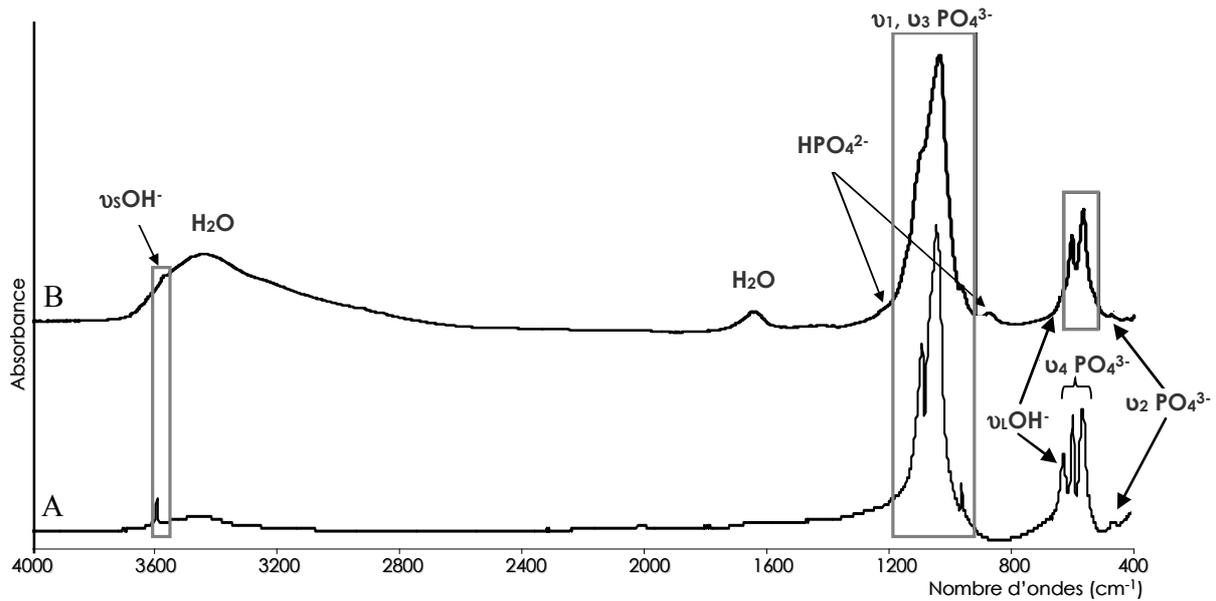


Figure 9. Spectre IR de l'HA stœchiométrique (A) et d'une apatite nanocristalline biomimétique (ANB) non carbonatée (B)

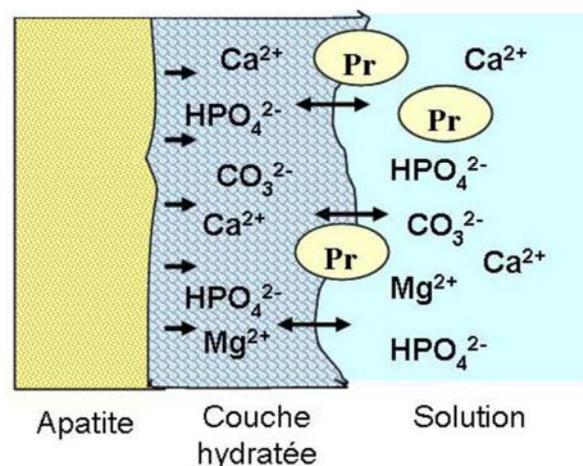


Figure 10. Schéma de la couche hydratée en surface des nanocristaux d'apatite non-stœchiométrique. Les ions présents dans la couche hydratée peuvent être facilement échangés avec les ions présents en solution, et participer à l'adsorption de protéines (Pr) à la surface des cristaux

Ainsi, les apatites non-stœchiométriques de synthèse possèdent des caractéristiques qui miment la composition et la (micro)structure du minéral osseux. Au cours de la synthèse de ces apatites nanocristallines biomimétiques (ANB), les conditions de précipitation et de vieillissement des nanocristaux en milieu aqueux (maturation) influencent directement l'étendue de la couche hydratée à la surface de ces nanocristaux [Rey2007]. Ainsi, au début

de leur formation, grâce à une couche hydratée importante, c'est-à-dire à une grande proportion d'espèces ioniques faiblement liées et mobiles à la surface des nanocristaux, ces apatites biomimétiques sont très réactives. Ce comportement est assimilable à celui de l'os d'enfant qui se renouvellera rapidement, mais qui aura également la capacité d'adsorber aisément, essentiellement au niveau des épiphyses (zone où le remodelage osseux est très rapide), des espèces ioniques toxiques pour l'organisme, tels les ions  $Pb^{2+}$ ... Cette forte réactivité des os des enfants s'explique par leur immaturité osseuse [Eichert2007]. Avec un temps de maturation croissant, la réactivité des apatites biomimétiques va diminuer. Les espèces ioniques mobiles vont s'organiser et s'incorporer dans les domaines apatitiques qui vont croître au détriment de la couche hydratée. Ce comportement est assimilable au remodelage osseux d'une personne adulte qui nécessitera davantage de temps [Cazalbou1999]. La Figure 11 montre cette évolution.

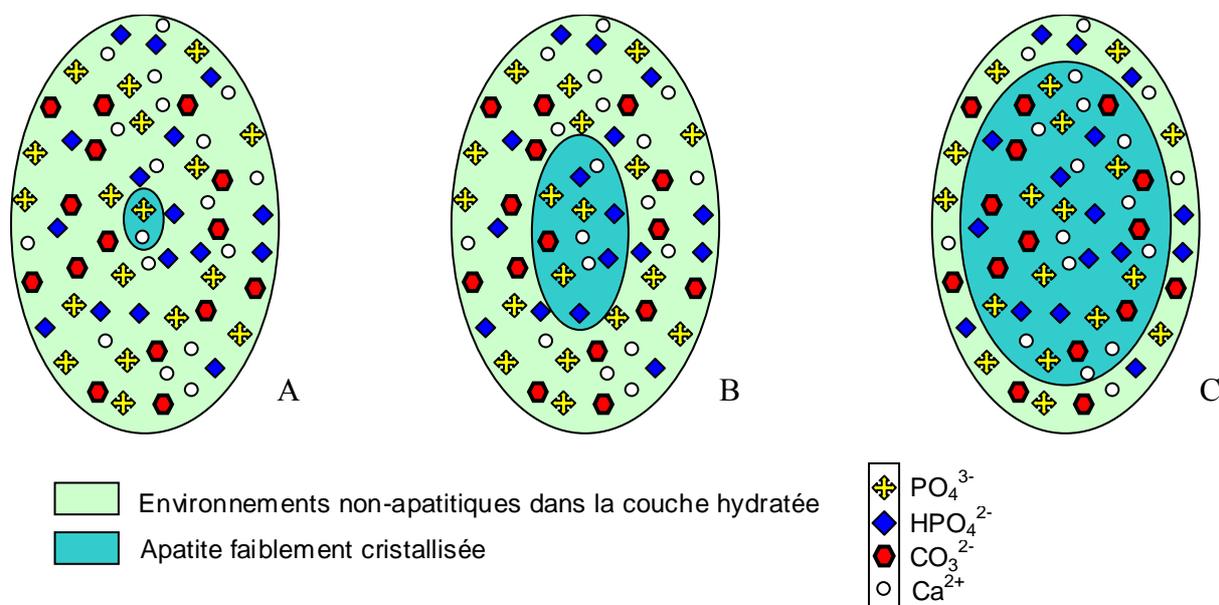


Figure 11. Représentation de l'évolution des environnements non-apatitiques et du cœur apatitique d'un nanocristal, au cours de la maturation d'une ANB [Eichert2001, Banu2005]

Les espèces ioniques qui vont réagir dans la solution mère sont principalement les ions orthophosphate ( $PO_4^{3-}$ ,  $HPO_4^{2-}$ ,  $H_2PO_4^-$ ) et les ions  $Ca^{2+}$  (et carbonate  $CO_3^{2-}$  dans le cas de la synthèse d'ANB carbonatées). Les espèces ioniques précipitent sous forme d'apatite très faiblement cristallisée. Sur la Figure 11A, le centre correspond à la partie cristallisée, au cœur d'un cristal d'apatite qui précipite. Ce cœur est dit « cœur apatitique ». Dans la couche hydratée formée autour du cœur apatitique, les espèces ioniques dans des environnements

chimiques non-apatitiques, sont plus désorganisées, et très mobiles. Cette couche n'est pas thermodynamiquement stable. Par conséquent, au fur et à mesure du vieillissement du précipité en solution, à la surface du cœur apatitique, les espèces non-apatitiques évoluent, et l'apatite se développe en une apatite présentant un meilleur état de cristallinité, plus proche de la stœchiométrie [Cazalbou2004a] (Figure 11C). Ainsi, le cœur apatitique, plus stable, croît au détriment de la couche hydratée. En disparaissant, la couche hydratée (siège des échanges ioniques) responsable de la forte réactivité de surface des ANB, voit sa capacité d'échange s'amenuiser. Bien que les possibilités de substitution dans la couche hydratée ne soient pas encore totalement connues, elles sont nettement plus importantes dans la couche hydratée que dans le cœur apatitique [Rey2006].

Il faut noter que dans la solution de départ, les contre-ions et les ions réactifs excédentaires sont toujours présents lors de la maturation du précipité. En plus de la température et du pH des solutions qui précipitent, la nature des contre-ions a également un impact potentiel sur l'avancement de la maturation, et donc sur l'état cristallin. Certains peuvent inhiber la croissance cristalline des phosphates de calcium [Campbell1991] (les ions  $Mg^{2+}$  ou pyrophosphate  $P_2O_7^{4-}$  par exemple), ou l'accélérer (ex : les ions  $F^-$ ) [Legeros1994].

## **I.2. Méthodes de mise en forme et de frittage des céramiques**

Le procédé d'élaboration d'une céramique passe généralement par trois étapes principales : la synthèse de poudre, la mise en forme et enfin le frittage. Cette dernière étape consiste à densifier le matériau via un traitement thermique adapté à la composition initiale de la poudre.

### I.2.1. La mise en forme

La mise en forme d'une céramique est indépendante et préalable au procédé de frittage. La géométrie ainsi que l'architecture de la pièce céramique sont déterminées au cours de cette étape. Les deux principales voies classiques de mise en forme de céramiques sont le pressage et le coulage en barbotine. D'autres voies se sont développées au cours de ces dernières années, telles l'injection ou les techniques de prototypage rapide par exemple. Le choix de la méthode dépend des dimensions et de la complexité de la pièce.

La mise en forme de l'HA dense se fait par des procédés classiques : coulage de suspension [Yasuda2000], pressage uni-axial [Slosarczyk1996] ou pressage isostatique [Van Landuyt1995]. Ce dernier permet l'obtention d'une bonne densité à cru et donc de bonnes propriétés mécaniques.

Quelle que soit la méthode de mise en forme, la tenue mécanique est dépendante de la porosité.

### I.2.2. Le principe du frittage

Le frittage est un procédé de consolidation d'une poudre (matériau granulaire non cohésif) par acquisition de cohésion entre les grains avec la température. Le milieu devient un matériau cohésif, en même temps qu'il organise la microstructure (taille et forme des grains, taux et nature de la porosité, ...) [Boch2001]. Dans le cas des céramiques phosphocalciques, la microporosité est aussi corrélée à la température de frittage : plus la température de frittage est faible, plus la microporosité sera importante [Wilson2006].

Il existe deux formes de frittage, en phase liquide ou en phase solide en fonction des conditions de réaction. Le frittage en phase liquide est un procédé d'élaboration de poudres ayant au moins deux constituants. Ils doivent former un eutectique « basse » température qui, à la température de frittage, conduit à la présence d'une phase liquide [Chaix1993, German1996] qui permet le réarrangement des grains et la formation de ponts entre les grains afin d'assurer la densification du matériau. Dans le cas du frittage en phase solide, il n'y a

fusion d'aucun des constituants de la poudre de départ au cours du cycle thermique. La consolidation a lieu par diffusion de matière essentiellement à l'état solide.

Le cycle de frittage a une influence décisive aussi bien sur la densité finale obtenue que sur la microstructure, c'est-à-dire la taille des grains et la porosité, et par conséquent sur les propriétés du matériau compact.

Comme indiqué sur la Figure 12, l'étape de frittage peut être réalisée selon divers procédés. D'un point de vue technologique le frittage naturel se distingue du frittage assisté. Dans le premier cas le frittage est effectué par activation thermique seule, sans contrainte mécanique (chauffage sous air ou sous atmosphère contrôlée). Sa mise en œuvre est simple mais nécessite souvent des températures élevées qui peuvent entraîner une croissance granulaire importante et ainsi limiter l'élimination de la porosité. Dans le second cas, le frittage est effectué sous charge (sous charge uniaxiale ou sous pression isostatique) en appliquant une pression extérieure simultanément au chauffage. Ce dernier cas est particulièrement utilisé pour les matériaux difficiles à fritter ou pour obtenir des densités proches de la densité maximale théorique [Bernache-Assollant2005], car l'effet combiné de la température et de la pression prévient une croissance granulaire trop importante.

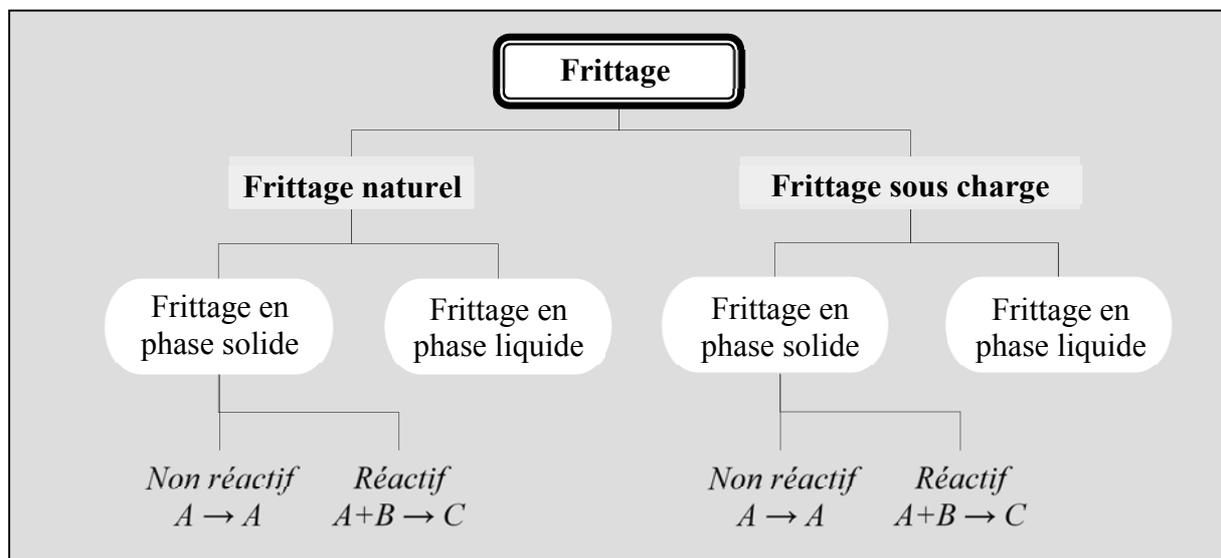


Figure 12. Les différents types de frittage [Bernache-Assollant2005]

Le frittage sous charge engendre un produit dense en combinant deux opérations : une montée et un palier de température, ainsi qu'une mise sous pression.

L'HA est thermodynamiquement très stable. Sa décomposition thermique n'intervient qu'à des températures élevées (1300°C) en l'absence de vapeur d'eau. Du fait de cette très grande stabilité thermique, des céramiques à base d'HA peuvent être élaborées par frittage naturel, sans décomposition thermique, au environ de 1200°C [Raynaud2002].

La technique de pressage à chaud, utilisée par plusieurs auteurs [Halouani1994, Raynaud1997] permet d'abaisser légèrement la température de frittage et de limiter la croissance des grains, même si les propriétés mécaniques ne sont pas véritablement modifiées.

### I.2.3. Mise en forme et consolidation des apatites nanocristallines biomimétiques

Nous avons pu voir précédemment, que les méthodes traditionnelles de frittage nécessitent de chauffer à « haute » température (typiquement avec un palier au-delà de 1000°C) ce qui n'est pas envisageable dans le cas des ANB, puisqu'il est indispensable de minimiser la dégradation de la couche hydratée très sensible à la température. A la fin des années 90, Donazzon [Donazzon1998] a utilisé la voie des ciments, qui est une méthode de consolidation à basse température, afin de mettre en forme les apatites non-stœchiométriques. Toutefois, les propriétés mécaniques obtenues sont très médiocres.

Dans le but d'élaborer une céramique massive possédant la bioactivité des ANB, il ne semblerait pas déraisonnable d'envisager de mettre à contribution la mobilité ionique de surface pour une consolidation à relativement « basse » température (pour le domaine des céramiques), typiquement inférieure ou égale à 300°C, afin de maintenir au maximum l'intégrité de la couche hydratée contenant des environnements labiles non-apatitiques. Il serait alors possible d'imaginer que la réactivité de surface des ANB soit conservée au moins en partie, après consolidation.

### *1.2.3.a. Mise en forme puis consolidation par frittage sous charge à basse température*

En se rapprochant davantage des conditions du frittage sous charge, Banu [Banu2005] a tenté de consolider les ANB en utilisant leur réactivité ionique de surface.

Dans un premier temps, les essais de compaction à froid suivis d'un chauffage à très « basse » température (50°C et 100°C) n'ont pas permis de fritter la poudre d'apatite.

Dans un second temps, les essais de traitement thermique à l'air (précédés d'un préchauffage entre 200°C et 600°C, et d'une étape de compaction à froid) à des températures beaucoup plus élevées (> 700°C) ont conduit à la décomposition des apatites (Ca/P < 1,5) en céramiques biphasiques ( $\beta$ -CPP et  $\beta$ -TCP). Ce frittage à « haute » température, se rapprochant des conditions de frittage naturel couramment utilisées pour réaliser des céramiques de phosphate de calcium denses ou poreuses, ne permet pas de conserver la structure des apatites non-stœchiométriques. L'autre point négatif est la dégradation de la couche hydratée dès  $T \approx 200^\circ\text{C}$ .

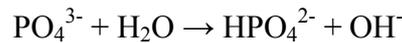
Suite à ces résultats, Banu a mis en place un procédé qui rappelle celui de la méthode de frittage par pressage à chaud, mais réalisé à « basse » température : les apatites nanocristallines non-stœchiométriques sont chauffées sous pression (75MPa) à 150°C. Bien que les céramiques obtenues aient une densification très faible ( $\rho_{\text{relative}} = 0,56$ ), le matériau obtenu est essentiellement apatitique et cohésif avec de bonnes propriétés mécaniques ( $\sigma_{\text{compression MAX}} = 147 \text{ MPa}$ ,  $E = 11 \text{ GPa}$ ), en comparaison avec celles de l'os cortical (Tableau 4, p27).

L'eau contenue dans la couche hydratée à la surface des cristallites semble avoir un rôle prépondérant dans la consolidation des apatites nanocristallines. C'est l'effet de la mise sous charge en continu qui favorise le contact et la mobilité ionique entre les cristallites. Ce phénomène a été décrit comme une « fusion cristalline ».

Néanmoins une décomposition partielle de l'apatite nanocristalline entraîne la formation de monéteite et d'hydroxyapatite stœchiométrique sous l'effet de la pression. Ce phénomène rappelle la décomposition du phosphate octocalcique (OCP) selon l'équation chimique proposée par Brown [Brown1957, 1962b] :



La taille des cristallites augmente également sous l'effet de la température et la couche hydratée est altérée, en faveur des domaines apatitiques, en raison de la réaction d'hydrolyse interne des  $\text{PO}_4^{3-}$  en présence d'eau résiduelle selon la réaction suggérée par Heughebaert [Heughebaert1977] :



Par conséquent, les travaux de Banu [Banu2005] ont montré que la consolidation des apatites nanocristallines non-stœchiométriques était envisageable à « basse » température et sous pression. Afin de modérer l'altération de la couche hydratée et ainsi conserver la réactivité de surface des nanocristaux, les conditions de traitement (alliant mise sous charge et traitement thermique à basse température) doivent résulter d'un compromis entre l'élimination de l'eau de la couche hydratée et la mobilité des espèces non-apatitiques.

Dans cette optique, Drouet [Drouet2006] s'est intéressé à la méthode de frittage flash par *Spark Plasma Sintering*, ou SPS.

### *I.2.3.b. Frittage flash ou Spark Plasma Sintering (SPS)*

Ce procédé non conventionnel permet la densification rapide d'un matériau grâce à la combinaison d'une pression et de trains de courant électrique (pulses). Il présente également l'avantage d'autoriser des vitesses de montée et de descente en température et/ou pression très rapides. Des travaux préliminaires antérieurs [Drouet2006, 2009] ont montré que contrairement à la consolidation par pressage uniaxial à chaud réalisée à basse température [Banu2005], la consolidation par SPS à basse température ( $\leq 200^\circ\text{C}$ ), dans les conditions mises en œuvre par les auteurs, présente les avantages suivants :

- la non-stœchiométrie des nanocristaux d'apatite est préservée,
- la résistance mécanique est qualitativement élevée,
- la couche hydratée est moins altérée,
- l'augmentation des dimensions nanométriques des cristallites est notablement inférieure,

- la perte d'eau est inférieure,
- aucune phase secondaire n'est détectée.

En conséquence, la forte mobilité ionique de surface est non seulement une caractéristique essentielle des apatites nanocristallines non-stœchiométriques biomimétiques (ANB), en terme de bioactivité, mais aussi une particularité qui conduit à un processus de consolidation malgré des températures faibles limitant les phénomènes d'activation thermique. La technique *SPS* de frittage/consolidation laisse ainsi présager l'élaboration de nouvelles céramiques biocompatibles, résorbables et présentant potentiellement une forte bioactivité, contrairement à l'HA.

### **I.3. Objectifs de notre étude**

L'objectif de ce travail a donc été de consolider un matériau présentant de fortes similitudes avec la phase minérale de l'os du point de vue de la structure faiblement cristallisée, composé de cristaux de taille nanométrique, et de la composition physico-chimique ; dans le but de conférer, à terme, une réponse biologique qui mime le comportement du minéral osseux.

L'origine de la bioactivité est la présence d'environnements ioniques non-apatitiques identifiés à la fois dans les apatites biologiques et dans les apatites nanocristallines biomimétiques (ANB) de synthèse. Il s'agit d'espèces ioniques mobiles organisées au sein d'une couche phosphocalcique, hydratée, à la surface d'un cœur apatitique, qui confère au matériau une grande réactivité de surface. Des études antérieures menées au sein du laboratoire CIRIMAT [Cazalbou2000, Eichert2007, Drouet2008] ont montré que les espèces ioniques de la couche hydratée étaient capables de s'échanger avec des protéines ou d'autres espèces ioniques présentes dans les fluides environnants. Des réactions d'échange d'ions calcium d'une part et d'ions hydrogénophosphate d'autre part, ainsi que la réversibilité des échanges ont été testées. Il a été mis en évidence que les réactions d'échange ionique contre d'autres ions et/ou des macromolécules sont faciles et rapides. De plus les espèces restent échangeables tant qu'elles restent présentes dans la couche hydratée de surface [Eichert2007].

Cependant, lors du vieillissement en solution de ces apatites (appelé maturation), les espèces ioniques non-apatitiques s'organisent pour devenir thermodynamiquement plus stables et deviennent « progressivement apatitiques » en faisant croître le cœur apatitique (moins réactif), au détriment de la couche phosphocalcique hydratée. Parallèlement, la structure des nanocristaux évolue vers une plus grande stabilité qui s'accompagne d'une perte de solubilité. Cette évolution a des effets à la fois sur la composition chimique et la structure des ANB et par conséquent sur leurs propriétés [Eichert2007]. Ainsi, la capacité d'échange des ANB biomimétiques évolue avec la maturation.

Au cours de ce travail nous avons synthétisé des poudres d'ANB biomimétiques correspondant à des temps de maturation variés. Puis nous avons mis en œuvre un procédé de consolidation non-conventionnel (frittage flash ou *SPS*) visant à préserver au maximum les caractéristiques « biomimétiques » des ANB synthétisées. Afin de mieux appréhender les mécanismes de consolidation, l'impact du temps de maturation sur les ANB et ses conséquences sur le phénomène de consolidation, une caractérisation physico-chimique détaillée a été réalisée sur ces échantillons.

La première partie de ce travail porte ainsi sur la synthèse et la mise en œuvre de techniques de caractérisation physico-chimique qui nous ont permis de déterminer la composition chimique globale des ANB pour chaque temps de maturation, ainsi que les caractéristiques, physico-chimiques et thermodynamiques, principales des composés. Une étude approfondie par spectroscopie infrarouge a notamment été entreprise à ce stade.

Dans une deuxième partie, nous avons procédé à la consolidation des différentes poudres d'ANB par une méthode non-conventionnelle de frittage : le frittage flash (*SPS*). La composition chimique des échantillons consolidés a été évaluée de la même façon que pour les poudres initiales. La mise en parallèle des compositions et autres caractéristiques, avant et après traitement par *SPS*, nous a permis de mieux comprendre les phénomènes de consolidation lors du traitement par *SPS*.

Une étude de morphologie a par ailleurs été réalisée par microscope électronique à balayage à haute résolution, en mode cryogénique (cryo-MEB-FEG), pour chaque étape de conception des échantillons maturés, depuis la précipitation, jusqu'à la consolidation. Elle nous a permis de suivre l'impact de la maturation en solution, du séchage et de la consolidation sur la microstructure des céramiques d'ANB.