

LA FONCTIONNALISATION DE LA SURFACE DES BIOMATERIAUX (PAR EXEMPLE DU TITANE)

Prof. Dr. Corneliu ZAHARIA
Dr. Gabriel BHRIN

En vue de l'amélioration du procès de guérison et d'intégration du biomatériau dans le tissu hôte, après l'implantation aux patients, notamment à ceux avec déficiences à cause de l'ostéoporose et du diabète, ont été décrites et appliquées diverses stratégies de modification de la surface du titane, basées sur des principes biologiques, notamment par l'application des films biomimétiques ultraminces.

Du point de vue traditionnel, la modification de la surface du titane s'est basée sur le contrôle de la topographie de la surface. Les plus fréquentes techniques de modification utilisées antérieurement pour produire des topographies macro-micro et nano-structurées, j'inclue la micromanipulation du titane à Laser pour obtenir le film d'oxyde et pour traiter le matériau écumeux de Ti par « powder metallurgy ».

La surface des biomatériaux est modifiée biologiquement (fonctionnalisée) par la greffe des molécules bio-actives (peptides, protéines, facteurs de croissance, etc.). Le procès offre l'avantage de l'amélioration de la biocompatibilité sans affecter de manière massive les propriétés et de présenter un nouveau concept de « surface biomimétique ». Des modifications physiques complémentaires peuvent augmenter l'énergie de surface de l'implant et peuvent améliorer le rendement de l'ostéo-intégration.

a) Surfaces modifiées par liaison des protéines de MEC (matrice extracellulaire).

Il y a deux modalités d'immobiliser les (macro) molécules biologiques sur la surface d'un implant: par adsorption passive et par liaisons covalentes.

Ku et les collab. (2005) ont réalisé l'adsorption passive de quelques fragments de fibronectine et vitronectine sur des surfaces de titane, procès qui a amélioré l'établissement et la prolifération des cellules cultivées sur ce support par rapport aux cellules cultivées sur titane simple. Toujours par l'adsorption passive ont été immobilisées sur les surfaces de Ti ou de Ti-6AL-4V, des molécules de collagène type I et III et fibronectine (Becker et les collab. 2002) et on a observé que la prolifération et la différenciation des cellules de la moelle osseuse des rats a été stimulée par la présence du collagène et de la fibronectine sur ces surfaces.

Morra et les collab. (2003) ont utilisé la technique du sédiment d'une couche ultrafine de plasma de hydrocarbure, suivie par la greffe de l'acide acrylique, pour lier de manière covalente le collagène à la surface du titane.

Endo et les collab. (1995) ont réalisé la liaison covalente de la fibronectine humaine plasmatisque sur un substrat NiTi fonctionnalisé avec gamma-aminopropyltriméthoxysilane en utilisant la glutaraldéhyde pour la formation d'une base

Schiff.

Les plus nombreuses recherches d'amélioration de l'interaction implant - tissu hôte par l'immobilisation des protéines de MEC ont utilisé les biomolécules suivantes: le collagène, la fibronectine, la laminine, la vitronectine et le tropocollagène.

b) Surfaces modifiées par liaison des peptides

Ayant en vue la structure compliquée des protéines, par la suite de leur accouplement à des surfaces implantables, a lieu souvent la modification des structures 3D de la molécule, phénomène qui peut conduire au déclenchement d'une réponse immunitaire et à une durée de vie limitée de la couche protéique. C'est pour cela qu'on utilise des peptides qui dérivent des protéines natives.

Il existe la possibilité du greffage de certaines séquences peptidiques courtes de la structure des protéines, qui interagissent de manière spécifique avec les récepteurs de la membrane cellulaire (intégrines).

Le peptide Arg-Gly-Asp (RGD) localisé dans la boucle du dixième domaine de la fibronectine représente une telle fréquence, qui est reconnue par différents types de récepteurs.

Les peptides de liaison de l'héparane sulfate Lys-Arg-Ser-Arg (KRSR) présents dans MEC des ostéoblastes présentent un intérêt potentiel pour des applications orthopédiques.

RGD et KRSR, des peptides polycationiques, se lient aux charges négatives des glycosaminoglycanes de la structure des protéoglycanes existants dans la membrane cellulaire.

Zreigat et les collab. (2003) ont réalisé une étude qui a visé non seulement l'effet du peptide RGD sur l'adhésion et la différenciation des ostéoblastes, mais aussi sur le procès de remodelage osseux. Un peptide RGD formé de 13 aminés a été lié aux surfaces par Ti-6AL-4V aminées avec silane, par l'accouplement avec le groupe thiol du reste de cystéine dans la présence de l'agent d'accouplement maléimide. La caractérisation des surfaces a été réalisée par l'analyse XPS (X-ray photoelectron spectroscopy) et la densité des peptides à la surface a été estimée par le radiomarquage. Les cellules humaines dérivées de la tête fémorale ont été cultivées sur des surfaces contrôle et couvertes avec des peptides RGD. On a démontré le fait que le support de Ti-6AL-4V qu'on a immobilisé le tripeptide RGD, promeut la différenciation des ostéoblastes. Cela a résulté d'une expression augmentée de mRNA pour l'ostéocalcine (à 7 jours), pour le pro-collagène I (à 7 jours) et pour la phosphatase alcaline (à 14 jours).

c) Surfaces modifiées avec des facteurs de croissance et des protéines morphogéniques osseuse

Puleo et les collab. (2002) ont rapporté la liaison

covalente de certaines protéines morphogéniques osseuses (BMP) de la surface de l'alliage métallique Ti-6Al-4V, en utilisant la polymérisation en état de plasma de l'allylamine. Les cellules pluripotentes cultivées sur ces surfaces ont synthétisé la phosphatase alcaline en concentration grande. De plus, de nombreuses recherches ont démontré que la liaison covalente de BMP-2 sur des surfaces de Ti a promu l'adhésion et la différenciation ostéogénique des cellules qui viennent en contact avec ces surfaces.

Zaharia et les collab. (2010) démontrent que l'origine des facteurs de croissance (5 sous-types, dont TGF est le plus fort) est assez variable:

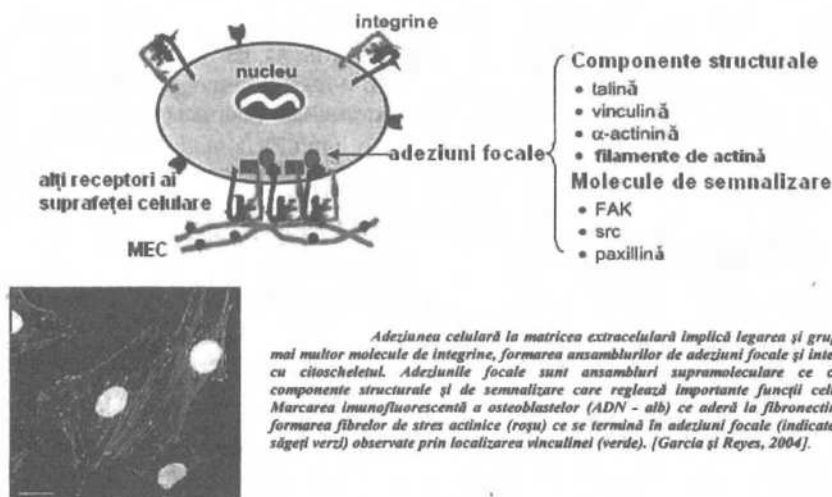
- plaquettes
- ostéocytes – ostéoblastes
- matrice osseuse
- quelques fibroblastes (notamment endostéaux médullaires)
- medulocite
- quelques composants des couches profondes du périoste
- produits humoraux dérivés des phases de la lyse du caillot

Récemment, les gènes BMP ont été clonés et la modalité d'action par la recombinaison des protéines a été clarifiée: initiateurs pléiotropiques des précurseurs des cellules inductives de manière ostéogénique.

Conclusions

On peut affirmer le fait que les recherches actuelles de la science des biomatériaux souligne le rôle essentiel de la phase précoce d'intégration tissulaire de l'implant et place l'interaction dispositif -tissu dans le cadre plus large du procès de guérison des lésions. En réalité, les cellules osseuses atteignent la surface de l'implant après les cellules inflammatoires et après une série d'étapes des cascades d'événements qui caractérisent les procès d'inflammation et de guérison des lésions.

Donc, même si les résultats obtenus sont interprétés par le prisme de l'interaction des cellules osseuses – surface du biomatériau, il ne faut pas ignorer la contribution importante des autres mécanismes. Par exemple, l'activité pro-coagulante du collagène peut accomplir un rôle important, puisqu'il stimule l'activité des plaquettes et la libération des facteurs de croissance et, par conséquent, il détermine la formation d'un réseau de fibrine, nécessaire à la migration des cellules osseuses vers la surface de l'implant.



Notes:

Noyau

Intégrines

Autres récepteurs de la surface cellulaire

MEC

Adhésions focales Composants structuraux

- taline

vinculine

- Alpha- actinine

- filaments d'actine

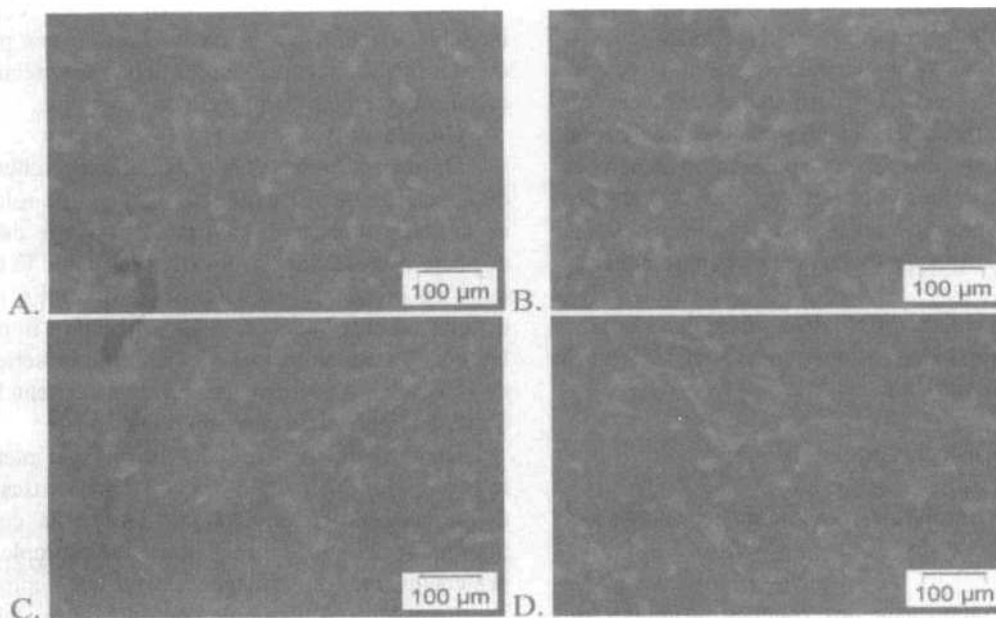
Molécules de signalisation

- FAK

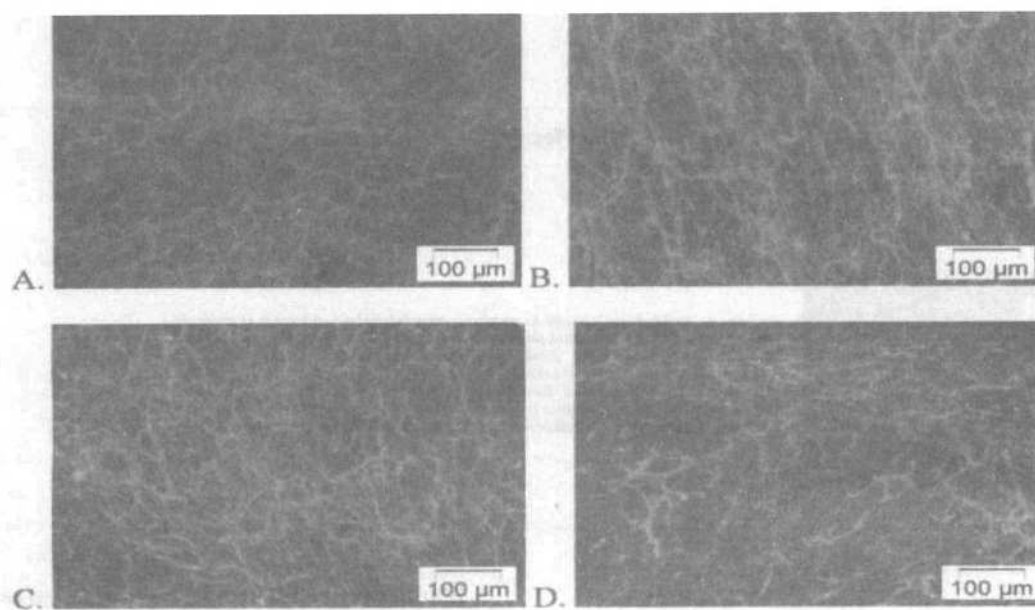
- src

- paxilline

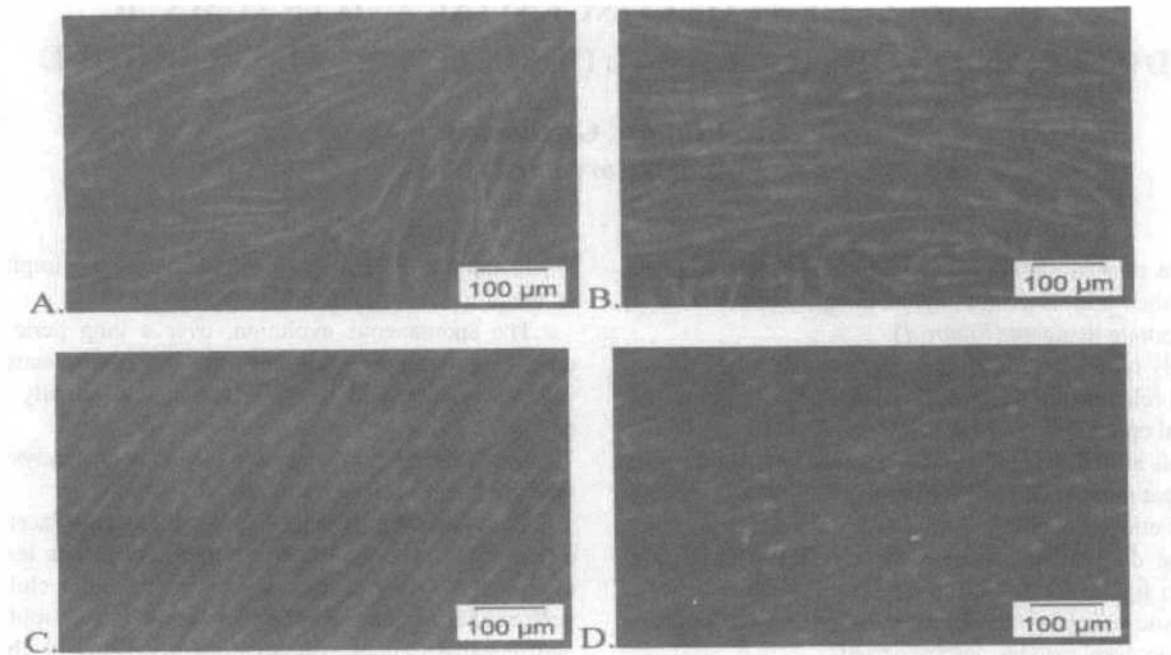
L'adhésion cellulaire à la matrice extracellulaire implique la liaison et le groupe de plusieurs molécules d'intégrines, la formation des ensembles d'adhésions focales et des interactions avec le cytosquelette. Les adhésions focales sont des ensembles supramoléculaires qui contiennent des composants structuraux et de signalisation qui règlent des fonctions importantes cellulaires. Le marquage d'immunofluorescence des ostéoblastes (ADN-blanc) qui adhèrent à la fibronectine avec la formation des fibres de stress actiniques (rouge) qui s'achèvent dans des adhésions focales (indiquées par des flèches vertes) observées par la localisation de la vinculine (vert). [Garcia et Reyes, 2004].



La mise en relief immunochimique de l'expression $\beta 1$ des intégrines par les cellules hFOB 1.19 cultivées sur: A – Support contrôle ; B – Support de Ti couvert avec un film de TiO_2 modéré de manière hydrophile, compact, composé exclusivement de rutile ; C – Support de Ti avec un film de TiO_2 fortement hydrophile, composition de rutile et morphologie colonnaire ; D – Support de Ti avec un film de TiO_2 modéré de manière hydrophile, composition majoritaire d'anatase et morphologie compacte. L'ADN cellulaire est marqué avec DAPI.



L'expression de la fibronectine par les ostéoblastes fœtales humaines évolués sur: A – Support de plastique (contrôle) ; B – Support de Ti avec un film de TiO_2 modéré de manière hydrophile, à morphologie compacte et composition allotropique majoritaire d'anatase ; C – Ti analysé ; D - Support de Ti avec un film de TiO_2 fortement hydrophile, à morphologie colonnaire et composition allotropique majoritaire de rutile.



La mise en relief par microscopie en fluorescence de l'expression de la tubuline α dans le cytosquelette des cellules HGF-1 évoluées sur: A – Support contrôle ; B – Support de Ti avec une surface lisse ; C – Support de Ti avec un film compact de TiO_2 et avec une rugosité minimale ; D – Support de Ti avec un film de TiO_2 à morphologie colonnaire et degré de rugosité élevé. Les noyaux sont marqués avec DAPI.