

UNIVERSITE DE NANTES
UNITE DE FORMATION ET DE RECHERCHE D'ODONTOLOGIE

Année 2013

N° 039

**APPORT DES SURFACES NANOSTRUCTUREES
EN IMPLANTOLOGIE**

THESE POUR LE DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR
EN CHIRURGIE DENTAIRE

Présentée et soutenue publiquement par

Adèle MENARD

Née le 22/11/1988

Le 4 juillet 2013 devant le jury ci-dessous :

Président : M. le Professeur Yves AMOURIQ

Assesseur : M. le Docteur Laurent LE GUEHENNEC

Assesseur : M. le Docteur Christophe MARGOTTIN

Invité : M. le Docteur Tony GOURE

Directeur de thèse : M. le Docteur Alain HOORNAERT

UNIVERSITÉ DE NANTES	
Président	Pr. Olivier LABOUX
FACULTÉ DE CHIRURGIE DENTAIRE	
Doyen	Pr. Yves AMOURIQ
Assesseurs	Dr. Stéphane RENAUDIN Pr. Assem SOUEIDAN Pr. Pierre WEISS
Professeurs des Universités Praticiens hospitaliers des C.S.E.R.D.	
Monsieur Yves AMOURIQ Madame ALLIOT-LICHT Brigitte Monsieur GIUMELLI Bernard Monsieur JEAN Alain	Monsieur Philippe LESCLOUS Madame PEREZ Fabienne Monsieur SOUEIDAN Assem Monsieur WEISS Pierre
Professeurs des Universités	
Monsieur BOHNE Wolf (<i>Professeur Emérite</i>)	Monsieur BOULER Jean-Michel
Praticiens Hospitaliers	
Madame Cécile DUPAS	Madame Emmanuelle LEROUXEL
Maîtres de Conférences Praticiens hospitaliers des C.S.E.R.D.	Assistants hospitaliers universitaires des C.S.E.R.D.
Monsieur AMADOR DEL VALLE Gilles Madame ARMENGOL Valérie Monsieur BODIC François Madame DAJEAN-TRUTAUD Sylvie Monsieur DENIAUD Joël Madame ENKEL Bénédicte Monsieur GAUDIN Alexis Monsieur HOORNAERT Alain Madame HOUCHMAND-CUNY Madline Monsieur KIMAKHE Saïd Monsieur LAGARDE André Monsieur LE BARS Pierre Monsieur LE GUEHENNEC Laurent Madame LOPEZ-CAZAUX Séréna Monsieur MARION Dominique Monsieur NIVET Marc-Henri Monsieur RENAUDIN Stéphane Madame ROY Elisabeth Monsieur STRUILLOU Xavier Monsieur UNGER François Monsieur VERNER Christian	Monsieur BADRAN Zahi Madame BOEDEC Anne Madame BORIES Céline Monsieur CAMPARD Guillaume Madame DAZEL LABOUR Sophie Monsieur DEUMIER Laurent Monsieur FREUCHET Erwan Monsieur FRUCHET Aurélien Madame GOAEMAERE GALIERE Hélène Monsieur LANOISELEE Edouard Madame MALTHIERY Eve Monsieur MARGOTTIN Christophe Madame MERAMETDJIAN Laure Madame ODIER Amélie Monsieur PAISANT Guillaume Madame RICHARD Catherine Monsieur ROLOT Morgan Monsieur TOURE Amadou (Assistant associé)

Février 2013

Par délibération, en date du 6 décembre 1972, le Conseil de la Faculté de Chirurgie Dentaire a arrêté que les opinions émis dans les dissertations qui lui seront présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'il n'entend leur donner aucune approbation, ni improbation.

À Monsieur le Professeur Yves AMOURIQ

Professeur des Universités.

Praticien Hospitalier des Centres de Soins d'Enseignement et de Recherche Dentaires.

Docteur de l'Université de Nantes.

Habilité à diriger des recherches.

Doyen de la Faculté de Chirurgie Dentaire.

Département de Prothèses.

- NANTES –

Pour m'avoir fait l'honneur d'accepter la présidence de ce jury,

Veillez trouver ici le témoignage de mon plus profond respect et de toute ma reconnaissance.

À Monsieur Alain HOORNAERT

Maître de conférences des Universités.

Praticien Hospitalier des Centres de Soins d'Enseignement et de Recherche Dentaires.

Docteur de l'Université d'Orsay.

Département de Sciences Anatomiques et Physiologiques, Occlusodontiques, Biomatériaux, Biophysique, Radiologie.

- NANTES –

Pour m'avoir fait l'honneur d'accepter la place de directeur de ce travail,

Pour m'avoir guidée vers ce sujet d'étude,

Veillez trouver ici le témoignage de mon plus profond respect et de toute ma reconnaissance.

À Monsieur le Docteur Laurent LE GUEHENNEC

Maître de Conférences des Universités.

Praticien Hospitalier des Centres de Soins d'Enseignement et de Recherche Dentaires.

Docteur de l'Université de Nantes.

Département de Prothèses.

- NANTES –

Pour m'avoir fait l'honneur d'accepter de participer à ce jury,

Pour votre disponibilité et votre grand intérêt dans cette thèse,

Veillez trouver ici le témoignage de ma gratitude et de ma considération.

À Monsieur le Docteur Christophe MARGOTTIN

Assistant Hospitalier Universitaire des Centres de Soins d'Enseignement et de Recherche Dentaires.

Département de Chirurgie Buccale, Pathologie et Thérapeutique, Anesthésiologie et Réanimation.

- NANTES -

Pour m'avoir fait le grand plaisir de participer à ce jury,

Veillez trouver ici ma reconnaissance pour votre joie de vivre, votre gentillesse et votre disponibilité.

À Monsieur le Docteur Tony GOURE

Ancien Assistant Hospitalier Universitaire des Centres de Soins d'Enseignement et de Recherche Dentaires.

Département d'Odontologie Conservatrice – Endodontie.

Département de Chirurgie Buccale, Pathologie et Thérapeutique, Anesthésiologie et Réanimation.

- NANTES –

Pour m'avoir fait le grand plaisir de participer à ce jury,

Veillez trouver ici mes remerciements pour ces années passées ensemble qui furent très agréables. Pour votre patience et votre sympathie.

À mes parents qui ont tout mis en œuvre afin que je réussisse mes projets. Merci maman pour les nombreuses heures passées au téléphone car "causer c'est important" et cela m'a permis de m'épanouir socialement et professionnellement. Merci papa de m'avoir inculqué la valeur du travail, et du travail bien fait !!

À Julien, l'amour de ma vie. Merci de m'avoir fait découvrir l'amour et de me faire vivre ce bonheur au quotidien. Aux merveilleuses années qui nous attendent encore.

À Eugénie, ma chouchoute. Merci petite sœur préférée d'être toujours présente et de me faire autant rire ! Et bien sûr deux fois plus de rires avec Victor, merci à toi aussi.

À Elodie, ma sœur globe trotteuse. Merci de me faire voyager à chaque périple ! Et car les conseils de filles sont parfois bien utiles : merci Skype ! Merci Koki d'être là pour elle.

À mes amies de toujours et pour toujours : Coralie, Céline, Hélène et Lisa.

À mes amis d'ici qui ont réussi à me supporter pendant ces longues années d'étude : Margaux, Marion, Estelle et Davy, Magalie et Vincent, Manu notre Homme. Mais aussi Max, Jean, Jonathan et le beau Tony.

À mes amis par alliance qui ont su m'intégrer dans leur meute : Alex, Bastien, Cédric, Alain, Alice, Alex et Juliette, Thomas et Florence.

SOMMAIRE

Introduction

1-Généralités sur l'ostéointégration sur Titane

<u>1-1. Le Titane</u>	14
<u>1-2. L'ostéointégration à l'échelle biologique</u>	23

2- Modifications des surfaces implantaires à l'échelle nanométrique

<u>2-1. Anodisation</u>	34
<u>2-2. Revêtement en phosphate de calcium</u>	38
2-2-1. Projection d'HA par torche à plasma.....	41
2-2-2. Procédés biomimétiques.....	43
2-2-2-1. Electrodéposition.....	44
2-2-2-2. Méthode sol-gel.....	48
2-2-2-3. Immersion dans une solution de SBF.....	51
2-2-3. Dépôt de cristaux discrets.....	52
2-2-4. Autres.....	53
<u>2-3. Traitements Chimiques</u>	54
2-3-1. Photolithographie.....	54
2-3-2. Gravures chimiques.....	55
<u>2-4. Traitements Physique</u>	57
2-4-1. Évaporation en phase gazeuse.....	57
2-4-2. Traitement par radio fréquence.....	58
2-4-3. Autres.....	60

<u>2-5. Implantations ioniques</u>	61
<u>2-6. Fonctionnalisation des surfaces</u>	66
2-6-1. Auto-Assemblage Monocouche (SAM).....	75
2-6-2. Auto-Assemblage Multicouches.....	77
2-6-3. Greffage par liaisons covalentes.....	79

3- Apports de la nanotopographie sur le comportement biologique

<u>3-1. Adhésion cellulaire</u>	82
<u>3-2. Etalement et morphologie cellulaire</u>	84
<u>3-3. Prolifération et différenciation cellulaire</u>	87
<u>3-4. Contact os/implant</u>	89
<u>3-5. Expression génique</u>	92
<u>3-6. Influence sur les tissus mous</u>	97
<u>3-7. Colonisation bactérienne</u>	98
<u>3-8. Manifestations cliniques</u>	101

Conclusion

Tableau récapitulatif

Lexique des abréviations

Introduction

Dès la fin du XX^e siècle, l'implantologie orale est devenue une thérapeutique sûre, avec des résultats prévisibles et reproductibles. Depuis, les chercheurs mettent tout en œuvre afin de développer des surfaces toujours plus innovantes. Différentes catégories d'implants et de surfaces implantaire sont proposées, chacune devant permettre d'obtenir un taux d'ostéointégration et une mise en charge les plus rapides possible.

Après les phases initiales d'ostéointégration, les facteurs biomécaniques de la prothèse ainsi que l'hygiène du patient sont des points cruciaux pour un succès à long terme de l'implant. La longévité implantaire est limitée du fait de la fragilité de l'ostéointégration et le succès dépend aussi de l'état de santé général du patient. Le bénéfice d'une meilleure mastication offert par la prothèse implantaire portée, n'améliore pas seulement la qualité de vie mais a aussi un impact sur l'état de santé général du patient.

Un des défis de l'implantologie est de réaliser et de conserver l'ostéointégration ainsi que la jonction épithéliale entre l'implant et la gencive. Il a été montré qu'une ostéointégration réussie est directement reliée à un succès clinique à long terme. Le phénomène d'ostéointégration d'un implant est très délicat à obtenir mais aussi très facile à perdre.

Toutes les interactions entre une cellule et un substrat se produisent au niveau nanométrique activant ainsi les voies de signalisation intra cellulaires qui contrôlent le devenir de la cellule. C'est sur cette base de recherche que différents auteurs se sont penchés.

Les rugosités nanométriques simulent la nano architecture naturelle de la matrice extra cellulaire osseuse donc influencent positivement le comportement cellulaire. Les surfaces traitées par nano ingénierie possèdent la capacité unique d'affecter directement les événements cellulaires et moléculaires qui finalement déterminent la réponse biologique au complet vis-à-vis du matériau implanté.

Depuis plusieurs dizaines d'années, les modifications de surface étaient limitées à la dimension micrométrique. Désormais, il existe une toute autre approche qui consiste à modifier la surface implantaire à l'échelle nanométrique dans le but d'apporter au titane des propriétés biologiques et de favoriser l'adsorption protéique, l'adhésion ostéoblastique et la repousse osseuse.

Dans ce travail, nous verrons les différentes techniques actuellement disponibles ainsi que leurs apports sur l'ostéointégration des implants.

1 – Généralités sur l'ostéointégration sur Titane

1-1. Le Titane

La responsabilité du praticien est engagée dans l'utilisation d'un biomatériau. Par conséquent, il est donc important de connaître les conditions légales de validation d'un biomatériau, ses propriétés et ses applications en pratique clinique. (2)

La plupart des implants disponibles sur le marché sont en titane commercialement pur (Ti cp) de grade 4, c'est-à-dire le moins pur. Il existe plusieurs grades de pureté du titane de 1 à 4 en fonction de la quantité d'O₂ et du taux de carbone et de fer qu'il contient. Les propriétés mécaniques de titane sont fortement influencées par ces impuretés atomiques qui augmentent la dureté du matériau, la résistance à la traction et élasticité : le grade 4 est le plus dur. (12), (21), (29)

Peu importe le traitement de surface du titane on y trouve toujours de l'oxyde de titane (TiO₂) et de la pollution sous forme de contaminants carbonatés. Les principaux constituants atomiques sont le titane (Ti), le carbone (C), l'oxygène (O) et des traces d'azote (N). (31)

Le titane peut se présenter sous forme amorphe ou sous 3 formes cristallines principales : anatase, rutile, brushite. Elles présentent toutes des propriétés chimiques différentes. (12), (49)

La forme rutile est la plus fréquente et la plus stable, elle améliore la réponse cellulaire et joue un rôle important dans l'induction de la déposition d'apatite du fait de sa relation de correspondance spatiale avec l'apatite. (8), (12). Une couche d'oxyde contenant du rutile est considérée comme plus dense par rapport à l'anatase, à structure d'assemblage plus étroite avec tout de même quelques chemins d'accès pour la diffusion des ions. Donc la présence de rutile améliore la résistance à la dissolution. (62)

Les processus de recuisson et/ou d'oxydation thermique sont utilisés pour améliorer la bioactivité du titane en changeant la structure cristallographique de la couche d'oxyde native. Les traitements de surface, en général, influencent considérablement la composition cristalline et la structure de surface. (68)

Une faible énergie libre, d'une surface d'anatase, facilite une nucléation plus rapide de l'apatite par rapport à une surface d'anatase et de rutile de haute énergie libre. (10)

Une observation métallographique de l'implant montre que la méthode de fabrication génère une structure cristalline en forme d'aiguille près de la surface qui a été en contact avec le moule. Les conditions de coulée peuvent être modifiées pour améliorer les implants. Par exemple, le fait d'approcher la température du moule de la température de la coulée entraîne un effet sur la fluidité du matériel et sur la structure de l'implant près des parois du moule. Une coulée sous centrifugation peut aussi améliorer la qualité de la pièce. (42)

Alors que les propriétés mécaniques d'un matériau sont principalement déterminées par la composition globale, les interactions chimiques et biologiques entre le matériau et les tissus de l'hôte sont intimement associées aux propriétés de surface. C'est en effet, celle-ci qui est à l'interface avec les tissus vivants. Nous pouvons donc en déduire que les interactions d'un biomatériau avec son environnement sont largement gouvernées par ses propriétés de surface. (12), (45), (49), (56)

Les propriétés de surface de n'importe quel matériau seront différentes de celles de la masse globale pour plusieurs raisons :

→ La création d'une surface à proprement parlé implique inévitablement la rupture des liaisons chimiques permettant le maintien du matériau à l'échelle atomique. La surface néoformée est dans une situation énergétiquement défavorable avec souvent une énergie libre de surface augmentée. Quand la surface est exposée à l'environnement ambiant, l'énergie libre diminue rapidement par des liaisons et réactions avec les molécules de l'environnement. (49)

→ Les caractéristiques de surface sont fortement influencées par les méthodes de préparation des surfaces, de manutention et de stockage. Lors de la préparation, les procédés chimiques peuvent laisser des résidus sur la surface. (49) De plus, certaines techniques de stérilisation, comme l'autoclave, peuvent induire un nombre important de contaminants et masquer les propriétés du titane sous jacent. (56) Il peut aussi y avoir un transfert de molécules du matériau d'emballage vers la surface de l'implant. Donc dans le but d'obtenir des surfaces implantaires reproductibles, tous les aspects du processus de manufacture et de la logistique qui s'en suivent doivent être contrôlés avec précaution. (49)

Le titane présente des propriétés mécaniques supérieures à celles de n'importe quel autre métal utilisé dans la fabrication des implants mais aussi très supérieures à celles de l'os. Résistance à la fatigue : 275 MPa, résistance maximale à la rupture : 545 MPa. Le titane a une charge de rupture et une limite élastique élevées ce qui élimine les risques de déformation permanente. (40)

Le module d'élasticité ou module de Young (E) est la capacité du matériau à retrouver sa forme d'avant la contrainte. (2) Plus E est faible, plus la déformation augmente pour une même contrainte. Celui du titane est très supérieur à celui de l'os, mais quand le titane est poreux on observe une diminution du module de Young qui devient alors plus proche de celui de l'os. (42) $E=17.7$ GPa pour un os cortical, 1 à 14 GPa pour un os trabéculaire, $E=110$ GPa pour le titane. (40)

Il présente une excellente résistance à la corrosion et des contraintes mécaniques peu importantes. C'est le seul métal passivé qui peut être utilisé pur ou comme constituant majoritaire d'alliage. (2)

Grâce à sa couche externe de TiO_2 , le titane est bioinerte c'est-à-dire qu'il n'a pas d'effet nocif apparent. Cependant, cette bioinertie est insuffisante pour permettre une ostéointégration rapide. La surface doit présenter des propriétés physico chimiques favorables à la nucléation du phosphate de calcium (PCa) et à l'interaction des cellules. (1), (43)

De plus, il est biocompatible c'est-à-dire qu'il va déclencher chez l'hôte une réaction biologique souhaitée sans réaction toxique et sans effet défavorable sur l'organisme receveur. (68) Ce concept est toutefois relatif car un matériau implanté provoque toujours une réaction. Cependant, le titane n'est pas bioactif sauf s'il est traité par traitement alcalin ou revêtu de PCa. (43) C'est-à-dire qu'il n'accélère pas le processus de réparation tissulaire, le contact entre le tissu et le matériau n'est pas direct. Un implant, de part sa présence, agit lui-même comme un substrat ostéoconducteur en diminuant la taille du défaut à combler par du tissu nouveau. (49)

Cependant, le titane est sensible à l'usure ce qui génère des particules de TiO_2 et d'alliage. Usure qui peut être due à des micro-mouvements entre le fut osseux et l'implant. Les forces de cisaillement à l'interface os/titane limitent la durée de vie clinique des implants et peuvent générer une résorption osseuse à l'interface. Le module d'élasticité bas du titane poreux peut diminuer les effets de cisaillement à l'interface os/implant. (2)

➤ La passivation

Le titane est très réactif avec le milieu extérieur, lorsqu'il est exposé à l'air il se produit spontanément un phénomène de passivation. C'est la formation d'une couche superficielle formée en général par un oxyde (TiO_2 pour le Titane) en à peine 30 ms. (1)

Tout métal implanté a une perte ionique à sa surface en raison des échanges avec son environnement, des diffusions d'ions à travers la couche de passivation et parfois de la modification de celle-ci. Le titane réagit facilement avec l'oxygène, l'atome d' O_2 diffuse rapidement dans le titane et s'y dissout pour fragiliser le métal. C'est pourquoi l'usinage et la coulée du titane doivent se faire dans une atmosphère inerte ou sous vide à $925^\circ C$. (40)

La couche de passivation fait de 3 à 6 nm d'épaisseur mais peut faire jusqu'à plusieurs micromètres en fonction des méthodes de préparation et de la température utilisées. Une préparation impliquant une température élevée entraîne une augmentation de l'épaisseur de la couche de TiO₂. (1), (49)

Le traumatisme chirurgical dû à l'implantation provoque un stress oxydatif sévère. Il en résulte une surproduction de radicaux libres et de dérivés oxygénés à la surface du titane ce qui contribue à épaissir la couche de TiO₂. (12)

Cette couche a une composition assez simple et les espèces chimiques susceptibles d'être relarguées sont les ions H⁺, OH⁻ et les ions liés au titane. Ils pourraient s'accumuler dans l'espace confiné entre les deux surfaces en contact (os/implant) où les liquides biologiques sont stagnants. (73)

L'accumulation d'ions OH⁻ sur la surface mène à une charge négative qui est nécessaire à la nucléation de l'apatite et facilite sa déposition. (67), (73) De plus le TiO₂ forme des groupements TiOH en solution aqueuse qui servent de sites de nucléation pour les cristaux d'apatite et favorisent leur déposition. La réaction qui en résulte change la charge de surface qui devient positive. (10)

Puis la surface interagit avec des ions Ca²⁺ et P de la matrice osseuse, ils sont alors incorporés au sein de la couche de TiO₂ rendant l'interface os/implant hautement dynamique. (12) Se forme alors du PCa amorphe qui peut éventuellement cristalliser en apatite. (10)

La couche de passivation rend le titane et ses alliages beaucoup plus stables sur le plan thermodynamique, elle est adhérente, isolante et résistante à la corrosion. Elle prodigue la stabilité chimique et donc la biocompatibilité du titane. De ce fait, la résistance à l'infection des implants en titane est meilleure. (43)

Une rupture localisée du film de passivation entraîne une corrosion par piqure mais en général il se reforme spontanément après lésion de la surface. On observe une faible diffusion d'ions titane dans les tissus même en cas d'usure localisée ; ces produits de dégradation sont bien tolérés. Mais une corrosion trop importante entraîne une diminution de la résistance à la fatigue et une possible libération des éléments présents dans le matériel susceptible de causer une réponse toxique. (2)

La contamination ou la destruction de la couche de TiO₂ mène à la perte pathologique de l'ostéointégration. (12) Dans certains cas, la pathologie associée est appelée péri implantite.

➤ Les alliages

La particularité des matériaux métalliques est de pouvoir s'ioniser facilement ce qui explique leur facilité à se combiner à d'autres atomes. La combinaison d'un ou plusieurs autres éléments définit un alliage. Ils sont soumis à d'étroites spécifications qui précisent leur composition, toute variation peut provoquer une modification des propriétés mécaniques à la fatigue ou la corrosion. (2)

Les alliages à base de titane possèdent deux phases allotropiques c'est-à-dire deux agencements cristallins différents qui apparaissent en fonction de la température. L'ajout de 6% d'Aluminium et de 4% de Vanadium permet à ces deux phases de cohabiter à la même température. Il en résulte l'alliage de Ti6Al4V. (2)

L'alliage Ti6Al4V de grade 5 a des propriétés mécaniques supérieures au Ti cp (de flexion et de résistance à la fatigue), sa rigidité est dix fois supérieure à celle de l'os cortical. (40) Nous obtenons donc une augmentation de la résistance mécanique et une diminution de la ductilité. De plus, le Ti6Al4V présente une excellente résistance à la corrosion et à la fatigue. Les alliages de titane sont faciles à usiner et permettent ainsi la fabrication de pièces complexes. Cependant, leur composition métallurgique rend leurs traitements de surface plus difficiles. La température de fusion d'un alliage en général est plus basse que celle du matériau pur dont il est issu. (2)

Il est communément accepté que le titane et ses alliages soient biocompatibles, cependant certains alliages de titane montrent un certain degré de cytotoxicité dû à leurs éléments constitutifs. Par exemple l'Aluminium (Al) et le Vanadium (V) sont associés à des désordres neurologiques et de forts taux de Cr, Ni et Co entraînent un risque de carcinogénicité. Toutefois le lien entre la concentration précise de ces ions métalliques et les phénomènes adverses n'ont pas encore été clairement élucidés. (68)

De nouveaux matériaux implantaires sont envisageables comme Straumann® qui propose des implants fabriqués dans un nouvel alliage composé de titane et de zirconium : le Roxolid® qui associerait une plus grande solidité et une excellente ostéointégration. Des implants en zircone sont aussi disponibles et sont le plus souvent composés d'Y-TZP (Yttria-Stabilized Tetragonal Zirconia Polycrystal) ou d'Y-PSZ (Yttria-Partially Stabilized Zirconia). (12)

Les matériaux céramiques de ce genre ont leurs inconvénients : ils présentent une faible résistance à la fracture et un module d'élasticité très élevé (380 GPa) comparé à de l'os spongieux. Afin d'obtenir une connexion stable et sûre entre l'implant en céramique et l'os environnant, ils doivent être extrêmement poreux. Ainsi la croissance osseuse est favorisée vers l'intérieur de l'implant, il faut toutefois garder à l'esprit que le risque d'effondrement mécanique augmente proportionnellement à la porosité. (70)

Les propriétés physiques d'un matériau sont très différentes de celles d'un nano matériau. On observe une augmentation du nombre d'atomes à la surface comparé au centre. (61)

Nous pouvons constater une plus grande quantité de grains de surface et par conséquent une augmentation de la quantité de joints de grains due à la petite taille des particules. Ceci peut expliquer l'augmentation de l'adhésion ostéoblastique qui se fait préférentiellement aux joints de grains des particules. (75)

Dans des métaux nanophasés, les dimensions des nanoreliefs donnent lieu à un grand nombre de vides inter particulaires et de distribution homogène au niveau nanophasique, par rapport à du titane et autres alliages conventionnels, qui comportent moins de vides et de distribution non homogène. En conséquence, les métaux purs sont plus compacts. (75)

D'autres observations portent sur une amélioration de l'aire de surface par augmentation des défauts, comparables aux joints de grains des particules, qui peuvent augmenter jusqu'à 25% sur des substrats nanophasiques comparé à ce même substrat sous une forme compacte conventionnelle. L'énergie de surface est elle aussi améliorée et pourrait promouvoir la précipitation de Ca^{2+} et de P d'un milieu de culture. Ces métaux nanophasés présentent une plus grande proportion à la délocalisation des électrons de surface. (74), (75)

Comparé aux mêmes métaux avec des micro grains, du Ticp et du Ti6Al4V, comportant des nanograins, possèdent de meilleures propriétés mécaniques ce qui peut être attractif dans le cadre d'applications orthopédiques. Ces propriétés uniques des nanomatériaux sont indépendantes de leur chimie. (74)

➤ Propriétés de surface

La mouillabilité est la capacité de contenir, sur une surface, un film liquidien. La mesure de l'angle fait par la tangente d'une goutte déposée sur le substrat, avec la surface du substrat, est appelée angle de contact. En utilisant cette mesure, il est possible d'en déduire le caractère hydrophobe ou hydrophile du matériau. (40) Plus l'angle est important, moins le liquide a tendance à former un film. La surface est donc hydrophobe. Le titane est hydrophobe, son angle de contact est d'environ 80° . (21)

Les surfaces hydrophiles possèdent des propriétés hautement thrombogéniques par rapport aux surfaces hydrophobes, de ce fait elles jouent un rôle crucial dans les stades précoces de la cicatrisation. (23) Si l'angle de contact est faible ou que l'énergie de surface est élevée, il y a une augmentation de l'adsorption protéique, de l'adhésion cellulaire et de la prolifération et différenciation ostéoblastique. Les cellules adhèrent, s'étalent et croissent mieux sur des surfaces modérément hydrophiles, avec un maximum d'adhésion cellulaire pour un angle de contact de l'eau d'approximativement 57° , dépendant du type de cellule utilisé. Les protéines sériques adhèrent mieux aussi sur ce type de surface. (16)

Le caractère hydrophobe d'une surface ralentit probablement les interactions avec le biosystème aqueux ainsi que l'adhésion cellulaire. (29), (57) La présence de groupements OH dans la couche d'oxyde entraîne des variations de la mouillabilité de surface. (21)

L'énergie libre de surface donne une mesure des forces attractives qui opèrent à la surface d'un substrat. Elle est ensuite utilisée pour donner une mesure quantitative de la magnitude de leur hydrophobie/philie dans une unité scientifique internationale ($\text{mJ}\cdot\text{m}^{-2}$). On a une estimation de l'énergie libre de surface par la mesure de l'angle de contact. C'est un paramètre important qui guide les premiers événements se produisant à l'interface biomatériau/biologie, comme l'interaction de l'eau et des protéines avec le biomatériau. (16), (57)

Si l'énergie libre de surface est élevée, le substrat est hydrophile et inversement si elle est faible, il est hydrophobe. (21) Les matériaux avec une énergie de surface élevée induisent une augmentation de la différenciation des cellules ostéoblastiques comparé aux substrats de faible énergie de surface. Les surfaces avec plus de sites accepteurs d'électrons (composants acides) encouragent aussi la différenciation ostéoblastique. (10), (16)

Les surfaces avec une forte énergie libre de surface (angle de contact de moins de 90°) sont plus adhésives que celles avec de basses énergies (plus de 90°). L'adsorption de protéines salivaires réduit les différences initialement présentes dans les énergies libres de surface. (15), (16)

Le potentiel zéta est la mesure de la charge de surface d'un substrat. (40) Sa valeur est affectée par plusieurs facteurs comme la morphologie de surface, la composition chimique et la polarité des polymères de surface. Par exemple des groupements chimiques contenant de l' O_2 augmentent l'énergie, la polarité, la mouillabilité et prennent en charge adhésion et croissance cellulaire sur cette surface. (3)

Le titane présente une charge de surface négative à pH physiologique : son potentiel zéta est de -8 mV . (21), (53) Il faut noter que la majorité des protéines du sang sont négatives à pH physiologique et que des charges positives en surface vont interagir plus spécifiquement avec des protéines chargées négativement à pH physiologique. Donc une charge de surface négative réduit l'adhésion cellule/matériau et cellule/cellule. (21)

On obtient une meilleure adhésion cellulaire sur des surfaces chargées positivement, ce n'est pas le cas lorsqu'elles sont chargées négativement. En effet, les molécules de la matrice extra cellulaire médiant l'adhésion (vitronectine et fibronectine) sont chargées négativement et leur conformation géométrique est, dans ce cas, plus avantageuse. Les ostéoblastes sont plus aplatis sur une surface chargée positivement et les tissus minéralisés sont préférentiellement localisés sur ces régions. (3)

La conductivité électrique du matériau améliore les performances cellulaires sans stimulation électrique active des cellules. Cependant la colonisation et les fonctions cellulaires sont favorisées par une stimulation, par un courant électrique et un champ magnétique. (3)

La composition chimique de la surface d'un matériau est un facteur important qui détermine l'énergie de surface, la polarité, la mouillabilité et le potentiel zéta. Par conséquent, le caractère de l'interaction cellule/matériau, ainsi que les interactions protéines/surface, est aussi dépendant de la composition chimique : nature, quantité, densité, orientation des protéines, en modifiant le caractère d'attraction/répulsion de la surface lié à la chimie et à la topographie. (3)

La rugosité (Ra) apprécie les différences topographiques de la surface du matériau. Elle est exprimée par la distance moyenne entre l'aspérité la plus importante et la dépression la plus profonde. (2)

Une porosité interconnectée dans les trois dimensions de l'espace autorise une invasion des fluides biologiques, cellules, tissus, croissance osseuse vers l'intérieur de l'implant. Ce type de porosité favorise une redistribution des contraintes mécaniques sur une plus grande surface. Les propriétés mécaniques des implants poreux peuvent être améliorées par le design de la porosité, par la taille et la forme des pores et par les traitements réalisés après la fabrication de ceux-ci. (40)

Comparé aux surfaces avec des nano protrusions, les nano pores sont très intéressants car ils augmentent l'aire de surface ce qui se traduit par une meilleure réactivité de surface et par la production de volumes nano confinés qui déterminent les taux de réaction catalytique et les échanges de substances extra cellulaires. Les volumes nano confinés influencent des événements physico chimiques comme la mobilité des fluides. (68)

Texturer un implant dentaire améliore l'adhésion mécanique de l'os et en même temps les aspérités et creux peuvent être des sites préférentiels pour l'adsorption des protéines. Même si les aspérités sont plus larges que la taille d'une protéine, alors la rugosité va simplement ajouter de l'aire de surface. (57)

Les propriétés mécaniques, topographiques et physico-chimiques sont trois paramètres interconnectés. La variation de l'un déstabilise les deux autres. Il est très difficile mais très important de distinguer les effets dus spécifiquement à la topographie des effets liés à l'énergie de surface ou à la réactivité chimique. (45)

La dureté du substrat sur lequel une cellule adhère est un facteur décisif pour sa différenciation vers un certain phénotype. En effet le comportement des cellules diffère fortement quand elles sont cultivées sur des substrats de même composition chimique mais présentant une élasticité différente. (3)

Sur un substrat très mou, imitant les propriétés mécaniques d'un tissu cérébral, les cellules se différencient en un phénotype neuronal. Sur un substrat plus dur, imitant le tissu musculaire, les cellules mésenchymateuses acquièrent un phénotype myogénique. Finalement, le substrat le plus dur est ostéogénique avec une augmentation de la régulation de l'ostéocalcine et des facteurs de transcription dans les cellules mésenchymateuses. (3)

Des matériaux très mous ne permettent pas d'établir un équilibre entre les forces de traction cellulaire et la résistance de la matrice extra cellulaire à ces forces. Cet équilibre est nécessaire à l'étalement cellulaire. Des matériaux plus durs sont mieux tolérés par les cellules par rapport à des substrats extrêmement mous et irréversiblement déformables. (3)

Les substrats durs favorisent la croissance d'adhésions focales et d'élongations et par conséquent l'augmentation de l'expression des composants de l'adhésion focale (paxilline, taline, kinase). Sur des matériaux expérimentaux avec un gradient d'élasticité, les cellules migrent de la région la plus molle vers la plus dure, la vitesse de migration augmente avec la dureté du substrat et ce même si le module d'élasticité de la zone la plus molle permet l'étalement cellulaire. (3)

La dureté des substrats peut aussi contrôler la disponibilité et l'efficacité de divers facteurs solubles, régulant le comportement cellulaire. Sur un substrat dur, la cellule qui se déforme est plus dure et de plus en plus tendue, elle rencontre une résistance venant du matériau, et nous observons une déformation du réservoir de TGF β de la cellule qui entraîne un relargage du facteur. La réponse cellulaire à divers médicaments dépend aussi de la dureté du substrat, certaines molécules sont plus efficaces sur des cellules fortement adhérentes ou non. (3)

1-2. L'ostéointégration à l'échelle biologique

Branemark introduit, dans le début des années 1980, le concept d'ostéointégration avec l'utilisation d'implants en titane. L'ostéointégration est définie comme la jonction anatomique et fonctionnelle directe entre l'os vivant remanié et la surface de l'implant mis en charge. Ce type d'interface permet l'obtention de résultats favorables à long terme. Cliniquement c'est l'ankylose et l'absence de mobilité de l'implant. (27)

L'ostéointégration est un phénomène difficile à obtenir et facile à perdre d'où l'importance d'utiliser des systèmes implantaires reconnus et un protocole rigoureux. Une fois l'ostéointégration perdue la réostéointégration paraît quasi impossible, même si certains traitements de surface assez complexes permettent désormais d'envisager le traitement de certaines lésions. (27)

Pendant la chirurgie implantaire, les vaisseaux sanguins sont lésés, un hématome se forme stagnant entre l'os et l'implant. La surface implantaire est donc en contact avec les composants sanguins, c'est-à-dire un grand nombre de protéines et différents types cellulaires. (23), (55) Suite au traumatisme osseux, des protéines de la matrice extra cellulaire et des facteurs de croissance et de différenciation stockés dans la matrice osseuse deviennent solubles et actifs. (66)

Le premier évènement qui se produit quand une surface est en contact avec un environnement biologique est l'absorption de l'eau et d'ions dans les premières nano secondes, avant même l'adsorption protéique. (68) Ceci peut entraîner un changement de la charge de surface car des ions bivalents, comme le Ca^{2+} , peuvent potentiellement se lier avec des charges négatives. (70)

Ensuite, plusieurs protéines du plasma sont adsorbées par le matériau, en à peine une minute, modifiant ainsi sa surface. Le matériau qui adsorbe le plus de protéines d'adhésion peut produire plus de sites pour les précurseurs ostéoblastiques. Ce type de matériau mène à une croissance osseuse plus rapide au contact de l'implant et à une stabilisation implantaire. (34)

S'en suit la formation d'un caillot plasmatique au niveau de la plaie. Il est constitué de tissu conjonctif lâche servant de support à l'angiogénèse. L'ancrage du caillot de fibrine, situé à la surface de l'implant, sert de lieu de stockage pour les molécules de fibrine et des facteurs bioactifs incluant des facteurs de croissance qui vont attirer les cellules souches mésenchymateuses (CSM). Ce processus va permettre leur migration et leur prolifération puis induire leur différenciation vers des lignées cellulaires spécifiques. (21), (23)

La stabilisation du caillot de fibrine, sur la surface de l'implant, est favorisée par les microrugosités de surface qui améliorent donc l'ostéointégration. L'interaction physique des fibres de fibrine avec les caractéristiques de surface promeut directement la croissance des cellules ostéoblastiques à l'interface os/implant. (45)

L'adhésion des plaquettes aux vaisseaux lésés et la formation du réseau de fibrine associés à la topographie de surface mènent au processus d'activation des plaquettes. Elles forment un thrombus blanc qui permet l'hémostase du sang. Cet agrégat est une source importante pour le relargage localisé de facteurs de croissance (PDGF, TGF β , PDEGF, IGF1...). Ils peuvent accélérer le processus de cicatrisation grâce au recrutement et à la différenciation de CSM pour établir une interface osseuse à la surface de l'implant. (23), (61)

Le facteur TGF β (Transforming Growth Factor β), plus particulièrement, initie l'expression de protéines de la matrice osseuse et de l'angiogénèse. Il est considéré comme un inhibiteur de l'activité ostéoclastique en induisant leur apoptose. (66)

L'hémostase est assurée par des substances vasoactives, comme la sérotonine et la thromboxane, toutes deux sécrétées par les plaquettes. Elles induisent une vasoconstriction. S'ajoute un recrutement de cellules inflammatoires sur le site lésé qui fournissent, elles aussi, de nombreux facteurs de croissance, chémokines et cytokines à cette région interfaciale. (66)

Les cellules souches circulent dans le flux sanguin vers leur niche, elles vont se greffer, dans ce contexte, et se différencier en fonction du micro environnement tissulaire afin de régénérer le tissu lésé. L'adhésion des CSM, sur des substrats ayant différentes propriétés de surface, peut entraîner la différenciation vers les lignées cellulaires spécifiques. (23), (25)

La première étape de l'ostéointégration passe par la stabilité primaire liée à l'ancrage mécanique et au design de l'implant. Cet ancrage diminue avec le temps, et au bout de quatre semaines, on observe la plus faible stabilité implantaire du processus de cicatrisation. Ceci est dû à la résorption de l'os cortical et justifie que les premières semaines post-implantation sont les plus vulnérables. Donc une deuxième étape se produit : l'ancrage secondaire qui se traduit par le remodelage osseux à l'interface tissu osseux/surface implantaire. La stabilité de l'implant dépend aussi beaucoup de la qualité de l'os environnant. (23), (66), (70), (71)

L'interaction du sang avec l'implant mène à l'adsorption de protéines, les premières à se lier sont les plus mobiles et celles présentes en plus forte concentration dans le sang, comme l'albumine. (23) Elles seront ensuite remplacées par des protéines moins mobiles et en moins grande concentration, mais ayant une plus forte affinité pour la surface, comme la fibronectine ou la vitronectine. (21) Le mécanisme d'adsorption de ces deux molécules est complexe et connu sous le nom de l'effet Vroman. (23)

Il y a quatre étapes dans la liaison os/implant. L'adsorption de ces protéines osseuses non collagéniques est l'étape critique car c'est l'initiation de la minéralisation par les protéines adsorbées. (45)

Les surfaces nanostructurées doivent préférentiellement adsorber ces protéines de taille importante. Le poids moléculaire de la fibronectine est de 220 kDa et celui de la vitronectine de 65 kDa. (32)

La séquence RGD est une séquence tripeptidique d'Arg-Gly-Asp servant à la médiation de l'adhésion cellulaire. (32) Elle est présente dans de nombreuses protéines de la matrice extra cellulaire (fibrine, fibronectine, vitronectine, ostéopontine, BSP). L'adhésion cellulaire est souvent médiée par les intégrines membranaires qui lient le motif RGD des protéines d'attachement. (23), (26), (28), (32), (45), (61)

Au delà de l'adsorption des protéines, leur orientation et conformation sur la surface doivent permettre l'accessibilité aux séquences RGD pour les cellules ostéoblastiques : c'est un pré requis pour l'adhésion cellulaire. L'adhésion cellulaire n'est pas seulement permise par le nombre absolu mais surtout par la conformation spatiale des molécules adsorbées. (3) Ainsi, les protéines de conformation étalée présentent une plus grande surface, exposent plus de sites d'interactions et peuvent se lier plus solidement que les protéines de forme globuleuse. (70)

Sur des surfaces mouillables les molécules sont adsorbées sous une forme flexible leur permettant d'être réorganisées par les cellules et d'exposer leurs motifs d'adhésion. (3) L'adsorption protéique est influencée par les propriétés de surface dont la composition chimique, la mouillabilité, la charge de surface, la nano et microtopographie. Les différences de mouillabilité et d'hydrophobicité résultent des modifications dans l'adsorption protéiques des implants. (21), (45)

Une surface nanostructurée avec un diamètre de pores de 180 nm et une profondeur moyenne de 25 nm est en adéquation avec la taille de la molécule de fibronectine. Ainsi, son adsorption sur ces surfaces peut être favorisée. (32) De plus, la dimension verticale des reliefs nanométriques de la surface semble être critique pour son profil d'adsorption. De leurs cotés, les nanophases ont la capacité d'adsorber sélectivement la vitronectine. (21), (68)

Une couche rigide de protéines adsorbées se forme sur les surfaces hydrophobes. Sur une surface hydrophile, les protéines sont adsorbées en moins grande concentration et les interactions entre elles ne sont pas considérables mais elles sont adsorbées dans leur état natif. (3) Les surfaces de titane hydrophiles permettent de mieux préserver la conformation et la fonction des protéines. L'adhésion cellulaire est meilleure en présence de protéines sériques adsorbées car elles changent la mouillabilité du substrat en augmentant les paramètres de base. Par exemple, un ostéoblaste n'adhère jamais directement au métal, il se lie à la couche protéique qui le recouvre. (71)

Les charges et leur distribution doivent être prises en compte dans le processus d'adhésion cellulaire. Par exemple on observe une meilleure apposition et formation osseuse sur des surfaces d'HA chargées négativement. Toutefois les cellules peuvent adhérer et croître sur des surfaces négatives ou positives, donc la densité des charges semble être plus importante que la polarité de la surface. Il est à noter que la charge d'une surface se modifie au cours du processus d'ostéointégration du fait de l'adsorption de protéines d'adhésion cellulaire. (32)

Les premières cellules qui colonisent la surface implantaire sont les CSM, au troisième jour, attirées par des molécules chimio attractantes. Ces cellules sont capables de migrer à travers le clou plaquettaire pour coloniser la surface implantaire. Elles ont la capacité de se différencier en cellules de différents types sous l'influence de différents facteurs de transcription perçus dans le micro environnement. Ces cellules, non spécifiques, sont capables d'auto renouvellement même après une longue période d'inactivité. (21), (22), (23)

Les CSM se différencient en cellules ostéoblastiques au contact du tissu osseux, et en cellules fibroblastiques au contact du tissu gingival. On a alors une compétition entre les deux types cellulaires : soit ostéointégration avec contact direct os/implant sans interposition de tissu fibreux ou encapsulation fibreuse qui se traduit par un échec implantaire dû à l'ancrage mécanique insuffisant. Par contre l'adhésion et la différenciation des CSM en cellules fibroblastiques, sont souhaitées au niveau du col de l'implant au contact du tissu gingival. (21), (23), (29), (33)

L'ostéointégration dépend de l'adhésion, de la prolifération et de la différenciation des CSM en cellules ostéoformatrices (ostéoblastes) ou ostéorésorbantes (ostéoclastes). (29)

Nous sommes, ensuite, face à la migration de plusieurs types de cellules qui viennent interagir avec la surface. Il y a donc coexistence de nombreux types cellulaires sur la surface : des cellules immunitaires, des CSM mais aussi des cellules endothéliales qui permettent l'angiogénèse. L'os néoformé ne peut se construire qu'en connexion directe avec les vaisseaux sanguins. L'angiogénèse est un pré requis pour l'ostéogénèse. (49), (66), (79) Cependant, un nombre important de cellules absorbées peut être désavantageux pour l'adhésion cellulaire à cause de la dénaturation des protéines. (3)

Les cellules se servent des éléments nutritifs du sang pour survivre (glucose, hormones, ...), mais ces substances peuvent elles aussi interagir avec la surface implantaire et modifier ses propriétés chimiques, comme la charge ou l'hydrophobie. (23) Les différents types cellulaires communiquent entre eux par des cytokines solubles (interleukines, facteurs de croissance, facteurs de différenciation), des hormones (histamine, prostaglandine), des molécules de la matrice extra cellulaire ou bien par contact membranaire direct. (66)

Dans un premier temps, les cellules interagissent avec la surface par les forces de Van der Waals. Ensuite, l'ancrage cellulaire se fait par des composants de la matrice extra cellulaire (fibronectine et vitronectine). L'adhésion entre deux cellules, ou entre une cellule et son environnement, nécessite l'approche des surfaces biologiques à une distance compatible avec la création de liaisons entre les molécules adhésives. En réponse à la formation de liens spécifiques, les membranes cellulaires ont la capacité de se déformer de manière à créer une aire de contact qui peut atteindre une surface de quelques μm^2 , ce sont les points focaux. L'expression et l'organisation des contacts focaux et des hémidesmosomes sont le reflet et l'indicateur de l'efficacité de l'adhésion cellulaire. (21)

Par la suite, la cellule produit des filopodes qui vont "sentir" la surface permettant un ancrage optimum et l'étalement cellulaire. (25)

Il y a une adhésion optimale des cellules sur les surfaces modérément hydrophiles. En effet, si elles sont trop hydrophiles l'étalement est limité ou les cellules sont invalides, l'attachement cellulaire est faible menant à leur détachement spontané. En conséquence, ces surfaces ne permettent pas l'adsorption stable des molécules médiant l'adhésion cellulaire. (3)

Un attachement suffisant des cellules aux surfaces est nécessaire pour leur permettre de s'étaler et de se différencier. Néanmoins, une forte adhésion à la surface ne suggère pas nécessairement que ces cellules soient viables et fonctionnelles. (55)

Dans la première phase d'étalement cellulaire, la taille de la zone d'extension est positivement corrélée à l'activité cellulaire de prolifération. (3) La spécificité de l'interaction cellule/surface dérive dans la plus grande partie de la manière dont la couche protéique est composée et organisée ce qui dépend, entre autre, de la façon dont la surface du matériau lie l'eau, les ions et les différentes biomolécules. (22), (68)

L'étalement cellulaire stimule la prolifération des cellules par au moins deux mécanismes : biochimique et mécanique. Ils impliquent chacun des molécules d'adhésion type intégrines et non intégrines. La voie biochimique regroupe toutes les voies de signalisation intra cellulaires qui activent les kinases, les facteurs de croissance, ... (3)

La voie mécanique correspond aux changements de tension des filaments d'actine du cytosquelette car ils sont ancrés à des composants structurels des sites d'adhésion (taline, paxilline, ...). L'augmentation de la tension lors de l'étalement cellulaire peut stimuler la prolifération par expansion du noyau, élargissement des pores nucléaires, formation de larges et nombreuses plaques d'adhésion, synthèse d'une haute concentration de récepteurs à l'intégrine, forte résistance au détachement des cellules, mais il en résulte souvent une plus lente prolifération cellulaire. (3)

Le relargage des cytokines par les plaquettes marque le début de la phase inflammatoire, dix minutes après la chirurgie d'implantation. Le système de défense non spécifique de l'hôte est activé. Il est composé de molécules (système du complément) et d'éléments cellulaires : polynucléaires neutrophiles (PNN) et macrophages. (66)

La croissance rapide des tissus sur le site implantaire requiert une activité immunologique modérée. La migration des macrophages implique des changements dans l'adhésion des cellules et dans l'organisation du cytosquelette et les signaux de transduction sont souvent déclencheurs de la réponse immunitaire. Durant leur migration, toutes les cellules forment et cassent constamment des contacts avec les intégrines. La migration des PNN vers le site lésé est appelée diapédèse. (28)

Plusieurs facteurs présents dans les tissus et secrétés lors de l'inflammation sont capables d'attirer les CSM vers le site lésé, comme des facteurs de croissance (PDGF, EGF, VEGF, TGF β , BMP2, BMP4). La sécrétion de TNF α et Il6 par les monocytes/macrophages peut aussi contribuer à la production de la matrice extra cellulaire. (47)

Cependant, si les cellules inflammatoires rencontrent un grand nombre de bactéries, elles vont recruter plus de PNN, via des cytokines pro-inflammatoires (TNF α , Il8). La réponse immunitaire cellulaire se prolongera et s'amplifiera. Toutefois, si ce phénomène dure trop longtemps, un environnement toxique peut se développer : le réseau de fibrine se dissout, le nombre de bactéries virulentes augmente, les tissus peuvent se liquéfier et du pus se forme. (66), (70), (71)

La phase inflammatoire précoce, lors des trois premières heures, est plutôt décisive pour le sort du site lésé. Afin de limiter la phase inflammatoire, le travail chirurgical doit être le plus propre possible avec très peu d'inoculation bactérienne et des mesures anti bactériennes doivent être prises incluant la désinfection locale et, si nécessaire, la prescription d'antibiotiques. Les PNN ont une durée de vie relativement courte et seront remplacés par des lymphocytes et des macrophages. (66), (70), (71)

Migration, adhésion et prolifération cellulaires sont des pré requis pour l'initiation de la régénération tissulaire. (21), (29) La nature des tissus autour de l'implant dépend de la différenciation des CSM induite par les propriétés de surface. (22)

En 1952, Weiss P. et Gaber B. sont les premiers à utiliser le terme de "contact guidance" pour décrire l'alignement des cellules à la topographie. (9) Des surfaces ayant une nanotopographie aléatoire induisent une différenciation ostéoblastique des CSM sans ajout de facteurs ostéogéniques. Les CSM sont capables de "sentir" l'élasticité du substrat et traduisent cette information en se différenciant en lignée spécifique, différente selon la surface sur laquelle elles croissent. (25), (35)

Le "contact guidance" se réfère à la tendance d'une cellule à être guidée ou dirigée par la direction majoritaire de la topographie de surface sur laquelle elle adhère. La forme de la cellule est donc fonction de la topographie. 90% de la forme d'une cellule sont déterminés par la texture de surface, spécialement les elongations cellulaires. (56), (61)

Par exemple des surfaces avec des sillons orientent les CSM vers une différenciation fibroblastique et épithéliale. Dans le cas où ces sillons sont circonférentiels, les fibroblastes auront une forme en capsule, alors qu'en culture sur une surface poreuse, ils ne montrent pas d'orientation particulière. (21), (56)

Il semblerait que les filipodes soient un des principaux outils sensitifs de la cellule. Une fois que la cellule a localisé le relief approprié en utilisant des filopodes, elle forme des lamellipodes pour se déplacer vers le site désiré. (9)

La transduction d'un signal intra cellulaire médié par les intégrines est conduite par des molécules de signalisation comme la kinase d'adhésion focale (FAK), la protéine kinase régulant le signal extra cellulaire (ERK), la protéine kinase A (PKA), Rho, ... Ces protéines régulent une variété de fonctions cellulaires comme l'adhésion, la prolifération, la migration, la différenciation et l'apoptose. (35)

Runx-2 ou core binding factor α est un facteur de transcription permettant la différenciation ostéoblastique. De plus il régule l'expression des gènes codant pour les protéines de la matrice extra cellulaire comme le BSP, l'ostéocalcine et le collagène de type I. (21), (61) Osterix est un deuxième facteur de transcription décrit pour jouer un rôle clé à la suite de Runx2, son expression est nécessaire pour la différenciation ostéogénique. (47), (61)

Les sialoprotéines, l'ostéonectine et la phosphatase alcaline sont des protéines favorisant la minéralisation. Alors que l'ostéopontine et l'ostéocalcine l'inhibent.

La cicatrisation osseuse qui suit l'insertion implantaire est identique à celle observée au niveau de l'alvéole dentaire : une phase de nécrose et de résorption du tissu osseux est concomitante avec la néoformation osseuse. (21) Le tissu osseux néoformé à la surface de l'implant est le même que celui du reste de l'organisme, il apparaît sous forme de tissus ostéoïde à partir du sixième jour. (29) À deux semaines la calcification de la matrice extra cellulaire est achevée et à trois semaines le processus de remodelage est en cours. (21)

Le remodelage osseux est assuré par les ostéoclastes qui suppriment l'ostéoïde fibreux, dont les fibres de collagène sont orientées anarchiquement. Ils créent ainsi l'espace nécessaire pour l'os lamellaire, dont les fibres de collagènes sont parallèles les unes aux autres. Cette phase peut durer plusieurs années avant que l'os fibreux soit entièrement remplacé par de l'os néoformé. (70), (75)

Les trabéculations osseuses ont pour rôle de distribuer les charges occlusales à l'os environnant et aux alvéoles dentaires adjacentes s'il y en a. (71)

La repousse osseuse se fait de la périphérie de l'implant vers le centre et est plus importante dans les trois premières semaines, lors du remodelage osseux. Une surproduction d'os immature est généralement observée dans les étapes initiales de la cicatrisation. (42) Lors de la maturation osseuse, on observe une augmentation des minéraux et de la densité osseuse et une diminution des composés protéiques. Les propriétés mécaniques de l'os sont énormément influencées par le pourcentage de composants organiques (surtout le collagène de type I) et minéraux. (47)

La largeur de l'espace entre la surface implantaire et l'os environnant détermine le type d'os qui va s'y former. Si l'intervalle fait plus de 0.2 mm, il se formera de l'os fibreux, lors des quatorze premiers jours. Après deux mois, il sera transformé en os lamellaire. Dans le cas où la lacune entre l'implant et l'alvéole de forage fait moins de 0.2 mm, l'os lamellaire se forme immédiatement. Pour assurer une stabilité implantaire adéquate sans micro mouvements nocifs, le hiatus clinique ne doit pas excéder 50 à 150 µm. (71)

L'obtention de l'ostéointégration repose sur plusieurs principes :

- Une chirurgie atraumatique de sorte qu'il y ait une libération de facteurs de croissance, la formation d'un cal osseux, la restructuration et reformation de l'os. Lors d'une chirurgie traumatique il y a une élévation de la température ce qui détruit les protéines libérées. Si l'échauffement est supérieur à 47°C pendant une minute alors la cicatrisation est compromise, (27)
- La non contamination de l'implant. Si la couche d'oxyde est contaminée l'adhésion cellulaire est compromise, donc la fabrication et le conditionnement répondent à des règles très strictes. Au cours de la chirurgie, il faut éviter tout contact avec l'implant lui-même, les conditions d'asepsie doivent être rigoureuses, (27)
- L'absence de micromouvement (une fracture ne peut se consolider uniquement s'il y a immobilisation). Il faut toujours rechercher une stabilité immédiate sinon il n'y aura pas de cicatrisation et donc pas d'ostéointégration, dans ce cas, l'échec est prévisible. Une technique en deux temps chirurgicaux est plus sûre pour éviter les micros mouvements. Avec le progrès des états de surface il est possible de diviser par deux le temps d'attente entre les deux étapes, (27)
- L'état général compatible avec la pose d'implant (diabète, tabac, ...). (27)

Les facteurs intervenant dans l'ostéointégration sur le court terme sont la biocompatibilité et la nature du matériau implanté, la forme de l'implant, l'état de surface, la nature du tissu osseux, la technique chirurgicale, les conditions de mise en charge de l'implant. A long terme les facteurs biomécaniques, prothétiques et l'hygiène du patient sont déterminants pour le succès implantaire. (29)

2 – Modifications des surfaces implantaires à l'échelle nanométrique

"La nanotechnologie est la création de matériaux, mécanismes et systèmes fonctionnels par le biais du contrôle de la matière à l'échelle nanométrique (1 à 100 nm) et par l'exploitation de nouveaux phénomènes et propriétés (physiques, chimiques, biologiques) à cette échelle de longueur".

NASA National Aeronautico and Space Administration. (45)

Par conséquent, les surfaces micro texturées (par sablage et/ou mordantage, ...) ne seront pas traitées dans ce travail.

L'application des nanotechnologies aux surfaces des implants dentaires, pour les rendre poreux ou pour les revêtir, modifient les propriétés de surface sans affecter les propriétés du substrat. Elles peuvent aussi bien affecter la topographie que la chimie de surface. Cependant, sur n'importe quel matériau il y a des changements chimiques inhérents à la surface du substrat. (42)

Une nanostructure est un objet de taille intermédiaire entre le moléculaire et le micrométrique. La répétitivité et l'homogénéité ainsi que l'espacement et la hauteur des reliefs sont des paramètres clés pour définir une nanostructure de surface implantaire mais ils sont difficiles à quantifier. (12)

Sur les implants, la topographie est la plus souvent anisotropique c'est-à-dire disposée de manière non organisée. Des caractéristiques isotropiques (nanosillons, nanopuits, distribués de manière organisée) sont produites par des méthodes optiques, pas encore applicables à des formes complexes comme le pas de vis des implants dentaires. (45)

Les traitements de surface à l'échelle nanométrique ont pour objectif d'apporter au titane des propriétés biologiques de surface afin de favoriser l'adsorption des protéines, l'adhésion ostéoblastique et la repousse osseuse. Ces propriétés biologiques favorisent la repousse osseuse par augmentation de la vitesse de cicatrisation osseuse dans la région péri implantaire. (21), (29)

Des modifications à l'échelle nanométrique d'une surface implantaire permettent de mimer l'environnement cellulaire et donc de favoriser un processus rapide de cicatrisation osseuse.

En effet, l'os immature a une structure tissée avec en moyenne la taille des grains de minéraux organiques de 10 à 50 nm. Puis ce type d'os est remplacé par de l'os lamellaire dont la taille moyenne des grains organiques fait 2 à 5 nm de diamètre et 20 à 50 nm de long. (75) La rugosité de surface de l'os est d'environ 32 nm. De plus, le collagène de type I, plus abondant composant inorganique de la matrice extra cellulaire osseuse, forme des faisceaux fibrillaires en réseau dans lesquels sont enchâssés les cristaux d'HA de taille : 50 nm x 25 nm x 4 nm. (35)

Plusieurs méthodes existent mais seules quelques-unes peuvent, à l'heure actuelle, être facilement exportées pour une production à grande échelle dans le cadre d'une industrialisation implantaire. Les conditions à réunir pour une exploitation industrielle sont :

- * la capacité de s'étendre à toutes les surfaces d'un dispositif à géométrie complexe (tige fémorale, implant dentaire, stent cardiovasculaire, ...),
- * la possibilité de modifier nanométriquement des métaux et implants disponibles dans le commerce,
- * une intégration simple dans le processus industriel. (68)

2-1. Anodisation

C'est un traitement électrochimique simple et économique basé sur l'électrolyse de l'eau permettant l'épaississement de la couche d'oxyde de titane à plus de 1000 nm. L'anodisation est dite potentiostatique ou galvanostatique. (29), (33), (40), (48)

La procédure consiste en l'immersion d'une surface implantaire en titane dans une solution d'acides forts soumise à de haute densité de courant direct (200 A/m^2) ou de potentiel (100 V). (29) La durée de traitement est de vingt minutes à température ambiante. Une contre électrode en platine est aussi immergée dans l'électrolyte, les ions platine servent de cathode et les ions titane d'anode. (21)

La couche d'oxyde native, présente sur toutes les surfaces métalliques, est dissoute le long des lignes de convection du courant et épaissie dans les autres régions. Ces deux phénomènes concomitants créent des micro ou des nanopores dans la surface du titane. (29), (33)

La solution est sous agitation pour obtenir une répartition homogène des électrolytes et l'accélération de l'échappement des gaz produits par la réaction électrochimique à la surface du titane. (8), (40)

Puis l'implant est rincé à l'eau distillée et séché. Un traitement thermique à 500°C est ensuite réalisé pendant deux heures afin de cristalliser la phase amorphe de l'oxyde de titane. Le processus se termine par un nettoyage à l'acétone, à l'éthanol puis à l'eau distillée. La stérilisation se fait à l'autoclave à 120°C pendant vingt minutes. (26), (40)

L'anodisation permet de créer des structures type nanotubes de TiO_2 aussi bien que des formations en colonnes. Par exemple, si l'acide utilisé est de l'acide phosphorique (H_3PO_4) la surface sera fleurie, dans le cas de l'utilisation de l'acide fluorhydrique (HF) elle présentera des motifs rugueux. Ces deux types de surface fournissent plus de points focaux qu'une surface métallique de titane lisse. (10), (40)

La présence d'ions fluorures au sein des électrolytes permet la formation contrôlée de nanotubes dans la couche d'oxyde. Cependant, un seuil de concentration est nécessaire afin de former des nanotubes réguliers et uniformes, au delà d'une certaine concentration ils ne le seront plus. Il est à noter qu'une surface présentant des nanotubes encourage la formation d'apatite par rapport à une surface lisse. (46)

L'anodisation nous permet d'observer une modification de la cristallinité de la surface. En effet une oxydation anodique à haut voltage peut produire un mélange d'anatase et de rutile dans l'oxyde. Avec l'émergence de la phase rutile, l'énergie libre de surface augmente menant à une diminution des dépôts d'apatite sur les surfaces d'oxyde. La présence de rutile peut aussi inhiber la diffusion d'ions ou d'atomes dans l'oxyde et avoir des effets négatifs pour la croissance des cristaux d'hydroxyapatite (HA) à la surface du titane. (8)

Si l'anodisation est suivie d'un traitement hydrothermique, la couche d'oxyde se compose alors de cristaux d'HA, d'anatase et des traces de rutile. Il en résulte un ensemble thermodynamiquement stable et une augmentation de la réponse de l'os avec de meilleures résistances mécaniques. Sachant qu'un certain nombre d'anatase et/ou de rutile sont requises dans la surface oxydée pour permettre la formation d'apatite. (26), (33), (62), (72)

La bioactivité de l'anatase, en immersion dans une solution simulée biologique (SBF), pourrait venir de sa charge négative. Cette charge de surface absorbe des ions Ca^{2+} de la solution qui absorbent, à leur tour, des ions PO_4^{3-} pour former de l'apatite sur la surface. (72) Cette conformation cristalline favorise la formation d'apatite et l'adhésion cellulaire car la taille des cristaux est égale à celle des cristaux d'HA présents dans la matrice collagénique osseuse.

Le taux de formation d'apatite dépend aussi de l'épaisseur de la couche d'oxyde et de sa nanoarchitecture. L'HA se dépose en plus grande quantité sur une couche d'oxyde épaisse présentant des nanotubes cristallins. (46)

Les surfaces anodisées sont généralement plus hydrophiles que les surfaces non traitées du fait de l'épaisseur de la couche d'oxyde. (32) Toutefois la mouillabilité est dépendante de l'électrolyte utilisé. Par exemple les surfaces anodisées en présence d'acide sulfurique (H_2SO_4) présentent un angle de contact élevé et donc une nature plutôt hydrophobe qui entraîne une faible adhésion cellulaire. A l'inverse, l'angle de contact diminue significativement sur les surfaces anodisées par H_3PO_4 améliorant la mouillabilité de la surface et donc le processus d'adhésion cellulaire. (10)

L'anodisation permet une croissance rapide de la couche d'oxyde, une taille de pores facilement contrôlable, une épaisseur de couche limitant l'exfoliation et une chimie contrôlée à l'échelle nanométrique. Cette technique d'ingénierie de surface permet aussi l'incorporation d'ions Ca^{2+} et PO_4^{3-} . Le nanomodelage oxydatif confère aux métaux à base de titane la capacité d'influencer sélectivement le comportement cellulaire en favorisant la croissance ostéoblastique en limitant celle des fibroblastes. (21), (25)

En ajustant les paramètres (chimie des électrolytes : type et concentration, voltage, densité du courant, température, durée de la réaction électrochimique) il est possible de moduler précisément les propriétés physicochimiques de surface, le diamètre et l'espacement des nanotubes. (46), (68)

La valeur du pH influence la dissolubilité de l'électrolyte et la capacité d'hydrolyse de la couche d'oxyde de titane. Les nanotubes sont de profondeur plus importante quand le pH est faible. Lorsque le pH est élevé mais toujours acide (pH 4.5) la longueur des nanotubes est de 4.4 μm . Le plus fort taux de dissolution correspond au pH le plus faible (pH < 1). (46)

En modifiant les conditions de voltage, le diamètre des nanotubes peut varier de 20 à 150 nm afin de correspondre parfaitement à la taille des protéines à adsorber. (23) Après vingt minutes d'anodisation à 5 V on obtient des pores de 18 ± 5 nm de diamètre, à 10 V : 35 ± 11 nm, à 20 V : 45 ± 9 nm. Puis la porosité et la taille des pores augmentent avec l'élévation du voltage de 100 à 150 V alors qu'elles restent stables entre 150 et 180 V. (26) Dans tous les cas, la porosité est ouverte mais à un potentiel de 5 à 25 V, les pores sont disposés en nid d'abeille, perpendiculaires à la surface de titane et de répartition uniforme tout le long de la surface. (8)

La taille des pores et de la porosité augmentent avec la hausse de la concentration de la solution de 0.5 à 1 M, mais elles ne changent pas de 1 à 3 M. (72)

Le film d'oxyde est principalement composé de phase anatase après oxydation à 100 V, de phases rutile et anatase à 150 V et surtout de rutile à 180 V. (8) Les couches formées à 400 et 500°C ont une cristallinité plus faible que celles formées à 700 et 800°C. Ces couches sont donc plus susceptibles à l'hydrolyse et au relargage d'hydroxyde de titane et d'ions OH⁻ à un plus fort taux que les surfaces oxydées à 700 et 800°C. Ces observations montrent une meilleure capacité au dépôt d'apatite et une meilleure bioactivité *in vitro*. (73)

La quantité d'anatase croit et le rutile augmente graduellement avec la hausse de la concentration en H₂SO₄. (72)

L'oxydation thermique pendant une heure à 700°C donne une couche d'oxyde d'épaisseur 1 μm . A 800°C l'épaisseur est d'environ 8 μm , à 400°C : 30 nm, à 500°C : 80 nm et à 600°C : 160 nm. Les oxydations à 400 et 500°C donnent des surfaces avec les plus hautes capacités de dépôt d'apatite. Donc la température d'oxydation a une influence significative sur la déposition d'apatite. (10), (73)

Les échantillons anodisés pendant soixante minutes présentent une couverture complète de TiO₂ sur le titane quel que soit l'électrolyte. En moins de soixante minutes la couverture est partielle. (10) Augmenter la durée d'anodisation permet d'épaissir la couche d'oxyde et de rallonger les nanotubes. Toutefois, il existe toujours un seuil au dessus duquel l'épaisseur reste constante même si le temps d'anodisation perdure. (46)

En fonction de l'électrolyte et des conditions d'anodisation, les propriétés de surface sont différentes. Par exemple, en présence d'HF, la couche est poreuse nanotubulaire alors que l'anodisation avec de l' H_2SO_4 donne une surface non poreuse, l' H_3PO_4 donne une surface rugueuse avec des motifs en forme de fleur. (10)

Lors de l'anodisation dans du sulfate de sodium (Na_2SO_4) et dans du H_2SO_4 , l'oxyde de titane est composé d'anatase et de rutile alors qu'une couche amorphe apparaît après anodisation dans des solutions d'acide acétique (CH_3COOH) et de H_3PO_4 . Les couches de titane amorphes ne peuvent pas induire la formation d'apatite en SBF. Donc du titane bioactif peut être préparé par oxydation anodique dans des solutions de H_2SO_4 et de Na_2SO_4 . (8)

Les solutions aqueuses précédentes peuvent être remplacées par des électrolytes organiques qui contiennent moins d'oxygène. Ils présentent un faible coefficient de diffusion ce qui a une influence sur la valeur du pH au niveau de la couche d'oxyde. La viscosité de l'électrolyte est aussi importante car elle conditionne le taux de diffusion. Un électrolyte de viscosité élevée diffusera moins vite. (46)

Ainsi, un mélange d'électrolytes de β glycérophosphate de sodium (β -GP) et d'acétate de calcium (CA) utilisé pour l'anodisation induit une amélioration du film d'oxyde qui contient alors du Ca^{2+} et du P dans un ratio équivalent à celui de l'HA. De plus le film d'oxyde anodique formé est significativement plus cristallin en cas d'utilisation d'une solution de β -GP seule par rapport à un mélange de β -GP et de CA. (62)

L'anodisation dans une solution de chlorure de sodium (NaCl) forme du chlorure de titane (TiCl) qui a une forte activité anti bactérienne et favorise l'extension et la croissance des cellules fibroblastiques par rapport à du titane pur. C'est donc un matériau prometteur pour la fabrication des piliers implantaires ou portion coronaire des implants. (54)

Certains éléments chimiques provenant des électrolytes peuvent être incorporés dans la couche poreuse d'oxyde modifiant ainsi les propriétés de surface (Ca^{2+} , S, P). (21)

La surface TiUnite[®] commercialisée par Nobel Biocare[®], Suède, est la modification d'une surface usinée par oxydation anodique. (18), (22)

En combinant l'anodisation à un dépôt de PCa par évaporation à l'aide d'un faisceau d'électrons, il est possible de produire un film de grande qualité. En effet lors du dépôt du revêtement sur le substrat, il est simultanément bombardé par un faisceau ionique. L'interface substrat/revêtement est donc mélangée par des bombardements d'ions. (34)

Le fait de revêtir une surface anodisée ne change pas sa morphologie poreuse mais on obtient un effet synergique sur l'ostéointégration par la combinaison de ces deux techniques. (34)

2-2. Revêtements en phosphate de calcium

Le titane ne possède pas la bioactivité permettant une apposition directe du tissu osseux mais sa couche de passivation lui confère sa biocompatibilité. S'il est traité chimiquement et/ou thermiquement ou revêtu de phosphate de calcium. La bioactivité du titane et son ostéoconduction peuvent être ainsi améliorés. (40)

La composition des phosphates de calcium (PCa) est proche de celle des minéraux osseux. (40) Ce sont des matériaux bioactifs dont les plus prévalent sont les phosphates de calcium comme l'HA, le phosphate tricalcique (TCP) ou des verres bioactifs. (67)

Les céramiques phospho-calciques sont connues pour présenter un excellent esthétique, une résistance à la corrosion et une biocompatibilité. Plusieurs implants en céramique sont d'ailleurs commercialisés. Contrairement aux matériaux métalliques, la plupart des céramiques ont une absence quasi complète de déformation plastique avec une extrême sensibilité aux imperfections. Le problème étant aggravé par le design poreux et rugueux des surfaces implantaires. D'autres modes de déformation inélastique, comme la micro fissuration, donnent une alternative limitée de déformation. (40), (67)

Elles sont intrinsèquement fragiles par rapport aux implants métalliques et ne peuvent pas être utilisées dans des applications sous charge à l'inverse du titane. En conséquence, les matériaux céramiques sont appliqués sous forme de revêtement sur des biomatériaux mécaniquement résistants. (40), (43), (67)

L'adhésion mécanique d'un revêtement de PCa sur un substrat en métal est dépendante de son épaisseur et de son état de phase. (69)

Le coefficient d'expansion thermique de l'HA est supérieur à celui du Ti6Al4V, cette discordance entraîne un stress thermique résiduel à l'interface substrat/revêtement lors du refroidissement, ainsi qu'une déformation de ce dernier. (13) En cas d'augmentation de l'épaisseur d'un revêtement, il y a une hausse des risques d'accumulation du stress résiduel. L'accumulation localisée de stress peut favoriser la tendance au décollement du revêtement. (69)

Le fait de produire de fins revêtements pourrait possiblement contribuer à réduire le stress résiduel le long de l'interface revêtement/substrat. Néanmoins, ceci affaiblit sa structure et le rend plus vulnérable quand des forces sont appliquées. (69) Une étude clinique a démontré que le taux de survie à 10 ans des implants revêtus par de l'HA est de 82%, il est plus important à la mandibule qu'au maxillaire. (70)

Les surfaces rugueuses utilisées comme substrat pour les revêtements augmentent la force de liaison de celui-ci en produisant un verrouillage mécanique et une rétention. L'augmentation de l'aire de surface et du contact revêtement/substrat permet un meilleur volume de revêtement et une amélioration de la stabilité primaire de l'implant qui permettent de mieux supporter les forces de transfert. (69)

Un revêtement, quel qu'il soit, a aussi pour avantage d'inhiber le relargage d'ions métalliques non favorables à l'ostéointégration. Quand ils sont constitués de PCa, ils améliorent la fixation biologique en créant une interface intime os/implant (à la différence d'une fixation biomécanique obtenue par une structure poreuse). Il est possible d'observer une interaction du phosphate présent dans le revêtement avec le titane de l'alliage formant ainsi du phosphate de titane. Cependant, cette liaison chimique n'est pas envisageable quand l'HA est déposé par un procédé de torche à plasma. Avec ce type de dépôt, le revêtement est majoritairement relié à l'alliage sous jacent par des liaisons mécaniques. (69)

Dans certaines applications ophtalmiques, les revêtements d'HA sont présentés en échec à la suite d'infection car l'HA est hautement hydrophile et présente donc un bon site d'adhésion bactérienne. Récemment une étude comparative montre que les revêtements d'HA entraînent, à long terme, de forts taux d'échec quand leur surface est exposée dans la cavité buccale. (19)

Plusieurs exigences sont requises pour les nouvelles générations de revêtement :

- Une bonne adhérence à l'implant : une force de liaison de 15 à 30 MPa est trop faible,
- Une fixation à l'os : mécaniquement via la surface rugueuse et poreuse dans laquelle l'os peut croître, et chimiquement par des liaisons osseuses avec le matériau implantaire,
- Un taux de dissolution, ou biorésorption, programmé dans les fluides biologiques par le contrôle de l'épaisseur. La présence de phases hautement solubles diminue nettement la stabilité mécanique du revêtement *in vivo*, mais certaines solubilités de matériaux de revêtement accélèrent la fixation. (67)

Un revêtement de PCa est une surface ostéoconductive car elle permet l'apposition directe de tissu osseux à la surface de l'implant revêtu. De plus, il possède des propriétés de bioactivité de part la précipitation de nanocristaux d'apatite biologique. Ces deux qualités entraînent l'amélioration de l'ostéointégration précoce par une liaison osseuse directe par rapport à une structure sans revêtement. (30), (40), (43)

Une fois implantées, les céramiques bioactives sont dégradées par des actions enzymatiques ostéoclastiques qui créent des puits de résorption sur la couche de surface. Les ostéoclastes ont aussi la capacité d'activer les ostéoblastes. La dissolution d'un revêtement dépend de la solubilité isotherme, de la cristallinité, de la taille des cristaux, de la porosité et de l'aire spécifique de surface. (72) Par exemple, l'apatite carbonatée a une plus faible solubilité isotherme que l'OCP (Phosphate OctoCalcique), la phase amorphe du revêtement est résorbée par les ostéoclastes alors que la phase cristalline ne montre aucun signe de résorption. (29), (67)

Lors de la dissolution du revêtement, on observe un relargage d'ions Ca^{2+} et HPO_4^{2-} . S'en suit alors une augmentation de la saturation dans les fluides biologiques et le sang de la région péri implantaire. Ces ions servent de substrat aux cellules ostéoblastiques qui produisent alors du tissu osseux. (18), (23), (34), (40)

De manière concomitante, un noyau d'apatite est formé à la surface et grossit spontanément en consommant les ions Ca^{2+} , PO_4^{3-} et OH^- de la solution, cette réaction s'appelle la nucléation. L'apatite biologique carbonatée qui précipite alors à la surface est de composition et de structure équivalentes à celles de la phase minérale du tissu osseux. (67)

Des fibres de collagène et des protéines endogènes, présentes dans le sérum, sont incorporées dans les agglomérats d'apatite. Le tout favorise l'adhésion cellulaire, la différenciation ostéoblastique et la minéralisation du collagène destiné à la matrice extra cellulaire du tissu osseux. (23), (29)

Les revêtements de PCa présentent donc un avantage certain lors de la cicatrisation et du processus de remodelage. Cette réaction se traduit par un temps de cicatrisation plus rapide, une amélioration de la formation osseuse, un attachement os/implant ferme et une diminution du relargage des ions métalliques. (69)

Les revêtements de PCa améliorent l'ostéoconductivité des implants en métal mais ne les rendent pas ostéoinducteurs. (43) Cette caractéristique est requise pour accélérer le processus ostéogénique et l'intégration des implants. L'ostéoinduction peut être obtenue en introduisant un facteur de croissance ostéogénique dans le système (TGF β , BMPs, GDF). (30), (37) Afin d'améliorer les revêtements il est possible, de la même manière, d'y incorporer des principes actifs pour en obtenir le relargage après implantation ; ou bien de les renforcer par ajout de fibres, de cheveux ou de particules pour durcir la céramique. (67)

Une approche intéressante pourrait être la résorption programmée et pour exposer différentes micro architectures, motifs chimiques et porosités à différents moments afin d'optimiser le revêtement pendant différentes périodes de la cicatrisation. (67)

Un revêtement avec un gradient de solubilité pourrait alors être envisagé. A l'extérieur, la surface serait soluble pour faciliter la liaison à l'os et une couche insoluble serait au contact du métal pour améliorer l'adhésion et la résistance à la corrosion. (67)

De plus, un traitement thermique après revêtement est efficace pour obtenir un fort pourcentage d'HA cristallin ce qui le rend très stable dans les fluides physiologiques.

2-2-1. Projection d'HA par torche à plasma

Dans cette procédure, les particules de céramiques d'HA sont placées dans une torche à plasma à très haute température (plusieurs centaines de degrés Celsius). Elles sont ensuite projetées, à forte vitesse, sur la surface du substrat, elles se condensent et fusionnent pour obtenir un film. Son épaisseur varie de quelques micromètres à plusieurs millimètres. Une épaisseur de 40 à 50 μm est nécessaire pour obtenir un revêtement uniforme. (29), (43)

Le revêtement obtenu est poreux car pour avoir une rétention mécanique la surface doit préalablement avoir été rendue rugueuse, le plus souvent, par sablage. (29)

Cette technique entraîne l'échec clinique à cause de plusieurs inconvénients. La température extrêmement élevée provoque une décomposition de l'HA en un mélange de phases présentant différentes solubilités. (23), (29) Le revêtement est généralement composé de particules hautement cristallines noyées dans une phase amorphe fondue. Ceci induit une taille cristalline très faible et une dissolution préférentielle de la phase amorphe. L'utilisation de la torche à plasma entraîne des modifications importantes de la composition et de la cristallinité de la poudre initiale de PCa, la composition du revêtement est hétérogène. (30), (33), (40) La qualité, la composition et la cristallinité du revêtement sont difficiles à contrôler. (70)

Ces conditions non physiologiques de température empêchent l'incorporation de substances protéiques biologiquement actives comme du BMP ou des antibiotiques. (43) Ces agents ne peuvent être déposés que superficiellement sur ce type de revêtement, ce qui explique la raison pour laquelle ils sont relargués rapidement lors de l'exposition à un environnement physiologique. Leur effet ostéogénique est de court terme. (36)

A température ambiante, la composition et la structure de l'HA déposée est très proche de celle de l'os et les cristaux sont plus grands et plus uniformes avec une dissolution homogène dans les fluides biologiques. (72)

La technique de projection par torche à plasma développe un stress à l'interface revêtement/substrat. Il est dû à la différence des coefficients d'expansion thermiques entre l'HA et l'alliage de titane. On observe un stress résiduel à l'interface même après le refroidissement du revêtement. De plus, les hautes températures utilisées peuvent affecter la structure du titane. (29), (69)

Le revêtement a tendance à casser proportionnellement à l'élévation de son épaisseur. (10) Cette délamination se produit aussi en raison d'une faible force de liaison entre la surface de l'alliage et le revêtement et donc de leur stabilité chimique insuffisante. (77) La délamination des revêtements obtenus par projection de torche à plasma est surtout reportée dans les os denses. (33)

Ce procédé manque d'efficacité pour des implants de petite taille et de forme complexe comme les implants dentaires. Son utilisation clinique est très limitée en odontologie mais fortement employée pour les prothèses orthopédiques où le taux de succès clinique est élevé. (29)

Les particules d'HA ont tendance à se détacher du revêtement à cause des phases de solubilités différentes ce qui entraîne l'échec clinique, bien que le revêtement soit toujours adhérent à l'os. Le tout favorisant l'infection péri implantaire. La porosité est fermée c'est-à-dire que les pores ne sont pas liés les uns aux autres, le revêtement est imperméable aux fluides biologiques. (29)

L'utilisation du laser pulsé peut être une alternative afin de déposer l'HA, il se fait à une température de moins de 800°C et devrait diminuer les effets d'expansion thermique. Le revêtement fait 1 à 3 µm d'épaisseur et est uniforme. (69)

Ce revêtement présente deux phases de PCa : l'HA et TTCP (Tetra PCa). Le revêtement déposé par torche à plasma a une prédominance d'HA sans présence d'autres phases de PCa. Les cristaux sont homogènes et quelques pores se trouvent dispersés le long du revêtement. La force de liaison de ce type de revêtement est significativement plus forte que celle des revêtements produits par torche à plasma. (69)

Ce type de revêtement n'altère pas la rugosité de surface de l'alliage, c'est un avantage pour augmenter l'apposition osseuse et donc avoir un meilleur contact os/implant et une ostéointégration rapide. Sa rugosité de surface est de 45.3 µm contre 35.5 µm pour un revêtement produit par torche à plasma. (69)

2-2-2. Procédés biomimétiques

Ces méthodes de revêtement sont inspirées des procédés naturels de biominéralisation pour palier aux effets négatifs de la torche à plasma et accélérer la déposition du revêtement. (33) Ils se basent sur la reproduction artificielle des propriétés essentielles d'un ou plusieurs systèmes biologiques. (29)

Cependant, l'inconvénient des techniques biomimétiques est que la procédure est de faible rendement, une grande quantité de minéraux est nécessaire pour en déposer une faible dose sur le substrat. De plus, il est nécessaire de préserver les conditions stériles pendant toute la procédure de préparation d'une durée de trois jours. La résistance mécanique du revêtement biomimétique est plus basse que celle des revêtements préparés par des méthodes physiques conventionnelles. (36)

Les conditions de température et pH sont physiologiques, ce qui présente un avantage du fait qu'elles simulent les fluides biologiques. Ces circonstances induisent la nucléation et la croissance de cristaux de PCa qui ressemblent par leur taille et leur forme aux minéraux osseux. (23)

Un revêtement d'HA produit par procédé biomimétique a la capacité d'être résorbé par les cellules ostéoclastiques ce qui pourrait favoriser l'ostéointégration par le remodelage osseux, ils sont, de plus, très solubles dans les fluides biologiques. (29), (30)

Des conditions plus physiologiques de température et de pH permettent donc d'améliorer la biocompatibilité et biodégradabilité des revêtements biomimétiques ainsi que l'ostéoconduction des surfaces implantaires pendant les phases initiales de la cicatrisation. (30), (36)

Des molécules biologiquement actives, comme des agents ostéogéniques, peuvent être incorporés dans le treillis cristallin et pas seulement déposées à sa surface. Elles ne seront donc pas relarguées en une seule rafale mais graduellement dans le but de faire durer l'effet ostéogénique sur le site d'implantation. (36)

Les procédés biomimétiques sont des précipitations de cristaux de PCa à partir de solutions simulées de fluides biologiques (SBF). (29) Il en existe plusieurs sortes :

2-2-2-1. Electrodeposition

Préalablement, l'implant est rendu rugueux par sablage puis double mordantage. Ensuite, il est nettoyé aux ultrasons dans un bain d'eau déminéralisée et séché. (43)

Une cathode de titane et une contre électrode de platine sont immergées dans une solution sursaturée simulée biologique contenant des sels de PO_4^{3-} et de Ca^{2+} ou bien des particules d'HA. Si le mélange contient déjà les particules d'HA, le traitement hydrothermique n'est pas nécessaire, il y a production directe de nanocristaux d'HA à la surface du substrat par polarisation cathodique. (20)

Le mélange d'électrolytes est tamponné à pH 7.4 de façon à ce que les particules d'HA acquièrent une charge positive pour être déposées sur le titane cathodique sous l'action d'un courant électrique. (29), (43) Les électrolytes sont dissouts dans un solvant approprié (alcool polyvinyle, azote), leur taille est importante car les particules doivent être assez fines pour rester en suspension durant le processus de revêtement. (20) Il est possible d'ajouter du H_2O_2 dans le bain pour favoriser le revêtement. Le mélange se fait à température ambiante (25°C) et est maintenu sous agitation. (40)

Lors de la réaction électrochimique il y a production de gaz d'hydrogène (H) et d'ions OH^- à la surface du titane. L'augmentation locale du pH, due aux ions OH^- , conduit à la précipitation de PCa sur le titane. Le brassage de la solution permet de dégazer l'H aux environs de la cathode car il peut perturber la déposition cathodique électrochimique de PCa et donc l'uniformité du revêtement. (43)

Un courant électrique est appliqué entre les électrodes afin d'accélérer la précipitation de PCa, de ce fait, les petites particules comme des plus grosses peuvent être déposées. Dans ces conditions, le PCa est déposé sur le substrat dans un SBF en environ sept à quatorze jours avec un rafraîchissement quotidien de la solution. (72)

La taille des cristaux d'HA déposés est de 18 à 25 nm. Ces dimensions sont bénéfiques pour l'adhésion et la prolifération cellulaire et non cytotoxique pour les cellules ostéoblastiques. L'épaisseur du revêtement est de moins de $1\ \mu\text{m}$ ce qui améliore la résistance à la délamination. (20)

L'augmentation cathodique du pH entraîne la production d'apatite carbonatée de haute cristallinité. La taille des cristaux est aussi plus importante avec une légère diminution de la rugosité de surface. Donc le revêtement est composé de dépôts globuleux d'apatite carbonatée (AC) ou de phosphate octocalcique (OCP) converti secondairement en apatite par un procédé hydrothermique. (29), (33), (72)

Il est possible de traiter secondairement le revêtement d'OCP par un traitement thermique à 425°C pour le transformer en HA. Ce frittage post traitement se déroule sous vide et à forte température et permet d'améliorer la liaison revêtement/substrat et de favoriser la résistance de la surface. (20)

Néanmoins, ce type de traitement cause une diminution de la résistance à la fatigue du titane qui n'est pas tolérable pour des implants mis en charge comme en orthopédie. Le traitement hydrothermique reste le point négatif de cette technique. (20)

Pour l'électrodéposition, la surface de titane à revêtir est un paramètre important pour travailler à une densité de courant constante et utiliser un volume adéquat d'électrolyte. Toutefois, elle est difficile à quantifier sur des structures poreuses. (42)

L'électrodéposition n'affecte pas la rugosité de la structure sous jacente mais l'angle de contact diminue rendant la surface plutôt hydrophile. La force d'adhésion du revêtement au substrat est de 25 MPa par rapport à 51 MPa pour la torche à plasma. Cette valeur demeure inférieure et peut être compensée par des caractéristiques de dissolution favorables permettant une apposition directe du tissu osseux sur le titane. (42) De plus le revêtement contenu à l'intérieur des pores de l'implant est protégé contre les forces de cisaillement générées lors de l'implantation. Un certain nombre de fissures peuvent être observées mais pas de défaut dans la couche de titane sous jacente. (43)

La déposition électrophorétique est un procédé simple, et peu onéreux, qui donne la possibilité de produire un revêtement d'épaisseur uniforme et contrôlée sur des dispositifs de forme complexe. La composition chimique et la cristallinité peuvent facilement être contrôlées et sont plus proches de celles du minéral osseux. (20), (40)

Il est aussi possible de déposer différents types de PCa, la durée de réalisation est plus rapide que le traitement d'immersion biomimétique. Cette technique présente une forte reproductibilité et une réelle efficacité. (29)

Une technique galvanostatique est utilisée pour produire de l'HA à des conditions presque physiologiques (pH 6.4), à température corporelle, sans exigences post traitement. On obtient ainsi un revêtement homogène, de larges cristaux d'HA, par déposition cathodique dans un bain d'électrolytes de 80 à 200°C. Cependant, les cristaux sont orientés perpendiculairement à la surface du substrat et impactent ainsi les propriétés mécaniques du film. (20)

Si l'on augmente le temps d'électrodéposition, le ratio $\text{Ca}^{2+}/\text{PO}_4^{3-}$ augmente également et génère un revêtement plus épais et plus homogène que pour de courts délais. Généralement, l'électrodéposition dure trente minutes. On observe une augmentation du taux d'ions Ca^{2+} et PO_4^{3-} avec l'élévation de la température. Néanmoins des conditions physiologiques de température sont préférables car les revêtements déposés à température ambiante présentent une force d'adhésion supérieure à ceux produits à température élevée. (43)

A faible densité de courant et température ambiante on obtient des agrégats de PCa sur plusieurs micromètres d'épaisseur. Si l'on augmente la densité de courant, la couche sera plus fine, moins uniforme et la quantité d'HA dans le revêtement diminue, même en cas d'augmentation de la température. La force de liaison du revêtement augmente avec la diminution de la densité du courant. (43)

Donc, à fort courant électrique le revêtement est poreux et rugueux et à faible courant il est dense et composé de particules fines.

La déposition électrophorétique peut être menée à voltage constant ou dynamique.

En utilisant le voltage dynamique on produit un gradient de structure dans lequel la partie du revêtement au contact du substrat est dense alors que la zone externe est poreuse. Les particules d'HA proches du substrat sont fines alors qu'elles sont larges vers l'extérieur. La force de liaison pour la couche interne est importante alors qu'elle est faible pour la couche externe.

Si l'on applique un courant dynamique, le revêtement comprend une plus large gamme de taille de particules déposées et donc les plus fines viennent combler les espaces entre les grosses particules.

A voltage constant, on aura une déposition préférentielle des particules les plus fines car elles présentent une plus grande mobilité que les grosses particules. Le revêtement ne sera donc composé que d'une taille de particules. Cette mobilité particulière peut être améliorée en augmentant le potentiel appliqué ce qui donne l'opportunité aux plus grosses particules d'être déposées. (20)

Quand le bain est agité par des ultrasons, le revêtement contient des tailles de grains de 50 à 100 nm. La forme des cristaux d'HA du revêtement peut être altérée par la densité de courant mais aussi par des changements dans les conditions d'agitation. A densité de courant de 20 mA/cm^2 , sous agitation ultrasonique, on obtient des dépôts en forme d'aiguille. A partir de 50 mA/cm^2 les dépôts sont globuleux. (20)

Les conditions optimales pour favoriser le transport d'ions et diminuer la production d'hydrogène sont réunies à haute température (50-70°C) et à basse densité de courant (10-20 mA/cm²). Le revêtement est alors blanc, uniforme et d'une épaisseur d'environ 20 µm. (43)

À fortes concentrations d'HA dans le bain, le revêtement devient plus uniforme, sans fissure et avec une moins grande formation d'agglomérats d'HA. À très fortes concentrations on observe de nombreuses fissures. (42)

L'ajout d'ions Mg⁺ et carbonates (HCO³⁻), dans la solution, a un effet sur la forme des cristaux de PCa : ils prennent une forme en aiguille. Ces ions inhibent la croissance cristalline de l'HA et contribuent à la formation d'un revêtement plus homogène de PCa. Mais en présence de trop fortes concentrations, l'effet est délétère. Idéalement quand [Mg⁺]=0.1 mM et que [HCO³⁻] est élevée, on obtient un revêtement fin. (43)

2-2-2-2-Méthode sol-gel

C'est un processus chimique par voie humide basé sur la réaction de surface de métaux alcoxydes (liés à la charge négative d'un atome d'O⁻) avec une surface hydroxylée. Ce traitement permet la production d'une couche d'oxyde de titane d'épaisseur nanométrique. (1)

L'implant est nettoyé à l'acétone pour éliminer les éventuels débris, puis est immergé dans un mélange d'H₂O, d'H₂O₂ et d'H₂SO₄ pour obtenir une couche d'hydroxyde en surface. Le titane est minutieusement rincé puis nettoyé trois fois aux ultrasons. (1)

Dans un second temps, l'implant est immergé dans un mélange d'alcoxyde de titane, de toluène et d'éthanol pendant cinq minutes. Se produit alors une réaction entre l'alcoxyde et les charges négatives de surface dues aux groupements OH⁻ obtenus précédemment. L'implant est rincé, immergé dans de l'eau déionisée pendant une minute, puis séché avec un gaz de N₂. (1)

La procédure peut être répétée plusieurs fois pour obtenir l'épaisseur souhaitée du revêtement. Chaque cycle sol-gel est indépendant et permet à chaque couche d'être nanostructurée. Le procédé est généralement répété cinq fois. (1)

Cette chimisorption est utilisée pour revêtir un substrat par un oxyde de métal. Si la solution contient des précurseurs organiques ou inorganiques, il en résulte un fin revêtement d'HA, uniforme en structure et en composition. De plus, si la température est moyennement élevée, le revêtement sera très pur et homogène. (77)

C'est une méthode peu coûteuse qui peut être utilisée à la fois pour la production de revêtements et pour la fabrication de poudres. (77)

Après cinq cycles, la couche de TiO₂ fait environ 5 nm d'épaisseur ce qui se rapproche de l'épaisseur normale de la plupart des surfaces de titane oxydées à l'air libre. Mais les couches obtenues par méthode sol-gel confèrent une morphologie plus poreuse et une rugosité plus élevée. Néanmoins, la composition de l'oxyde obtenu est similaire à celle de l'oxyde natif (contaminants carbonatés, ...). (1)

En modifiant un substrat par sol-gel, il devrait être possible de passiver la surface de manière plus uniforme et de contrôler l'adsorption non spécifique de certaines protéines. (1) De même, la déposition d'agrégats de PCa (ou d'alumine, titane, zircon, ...) est réalisable à la surface de l'implant. (45)

La force de résistance au cisaillement d'un revêtement sol-gel est supérieure à celle reportée pour les revêtements formés par torche à plasma. Cependant, l'intensité est la même que les films obtenus par déposition par laser pulsé. (13)

Cette haute force de cisaillement à l'interface suggère le développement d'une liaison chimique primaire puissante entre le revêtement et le substrat. La réaction de condensation qui se produit à l'interface à la température de 500°C lors du traitement thermique pourrait être une explication. (13)

Il existe une différence en terme de liaison à l'interface avec le Ti6Al4V entre un film organique et inorganique. Les valeurs pour les deux sont élevées et suggèrent ainsi leur potentielle utilité pour modifier les implants dans le but d'améliorer leur ostéoconductivité. (13)

En présence de groupements OH⁻ en surface, l'angle de contact est très bas ; mais après dépôt des cinq couches, il augmente. Donc les procédés sol-gel ont tendance à diminuer la mouillabilité. (1)

L'adsorption protéique se fait plus rapidement sur des surfaces sol-gel qu'après silanisation et en plus grande quantité que lors d'une oxydation naturelle. Cette adsorption ne modifie pas significativement la morphologie ni la rugosité de la surface. Les surfaces obtenues présentent de fortes concentrations de protéines absorbées. (45)

La stabilité chimique du revêtement est un facteur contribuant à la stabilité à long terme. Une faible cinétique de dissolution des ions Ca²⁺ indique une amélioration de la stabilité chimique. Le relargage d'un certain nombre d'ions, à partir d'un matériau bioactif, forme des charges négatives en surface qui induisent la formation d'apatite. (77)

Des gels de titane avec une structure spécifique d'anatase et de rutile, préparés par un procédé sol-gel, montrent une plus grande capacité à former de l'apatite dans un SBF alors que du titane amorphe ne le permet pas. (8)

Si l'on utilise un précurseur inorganique le film de PCa est rugueux et couvre totalement la surface, son épaisseur moyenne est de 943 ± 25 nm. La force de cisaillement est de 32.1 GPa. (13)

Si le précurseur utilisé est organique le revêtement n'est pas aussi rugueux mais reflète plutôt la morphologie de la surface sous jacente. Il est possible d'observer d'occasionnels défauts ponctiformes certainement causés par de microscopiques débris qui ont pu s'installer dans la solution ou sur la surface du substrat avant, ou pendant, le processus de revêtement. La force de cisaillement est de 45.4 GPa. La différence de force de cisaillement est attribuée à une différence significative de densité des films. Un revêtement organique est, en effet, plus dense. (13)

En combinant la technique sol-gel avec l'Auto-Assemblage Monocouche (SAM), les propriétés de surface des alliages de titane sont mieux contrôlées et peuvent produire des surfaces plus bioactives. (1)

La surface Nanotite[®], commercialisée par 3i Implant Innovations[®], Palm Beach Gardens, FL, est un alliage de titane rugueux. Cet alliage est modifié par des particules de PCa déposées par une méthode sol-gel utilisant, en plus, la déposition discrète de cristaux. Le revêtement couvre environ 50% de la surface et les reliefs sont de l'ordre de 50 à 100 nm. (45)

2-2-2-3. Immersion dans une solution SBF

Une couche d'apatite biologiquement active est formée, sur la surface d'un substrat, par immersion de ce dernier dans des liquides organiques simulés (SBF) dans des conditions physiologiques de température (37°C) et de pH (7.4). (18)

Le SBF a quasiment la même concentration en ions que celle du plasma humain. Ce type de solution peut donc facilement reproduire les changements de surface *in vivo*. (34) Il est possible d'accélérer le processus en utilisant une solution métastable cinq fois plus concentrée. La sursaturation est réalisée par du gaz de CO₂ ou par dissolution de sels carbonatés d'hydrogène de sodium. (18)

Par immersion dans une solution cinq fois plus concentrée qu'une SBF et non tamponnée, on observe l'évaporation de gaz de CO₂ à partir de la solution, et une augmentation du pH grâce à la capacité des ions HCO³⁻ et PO₄³⁻ de tamponner. Ceci entraîne la précipitation de PCa sur le substrat et dans la solution. (72)

Le but est de provoquer la nucléation hétérogène du PCa. (29) Un traitement alcalin permet de former les groupements hydroxyles sur le titane, ils seront alors, les points de nucléation. Le revêtement peut ainsi se former dans les conditions de croissance cristalline à partir des points de nucléation. La nucléation hétérogène et la croissance cristalline sont initiées par une liaison chimique formant une matrice nanométrique stabilisée par la présence d'ion Mg⁺. (33)

Le revêtement obtenu est plus soluble dans les fluides biologiques que celui formé par la torche à plasma, et il est résorbable par les ostéoclastes. C'est une couche fine de moins de 3 µm d'épaisseur, dense, amorphe et uniforme. Le revêtement est composé de relativement petits cristaux au sein de larges globules. (33), (72)

L'effet de tout revêtement ne peut être démontré que s'il résiste aux forces de cisaillement produites lors de l'insertion implantaire. Pour cette méthode, la délamination apparaît quand les forces exercées sont supérieures à 6 et 12 N. (30)

Cette technique est simple et peu onéreuse. L'immersion en SBF est aussi applicable pour des matériaux sensibles à la chaleur, non conducteurs, ainsi que pour des substrats poreux, de larges dimensions ou de géométrie de surface complexe. Par ce procédé il est possible d'élargir les variétés de phases de PCa à déposer (OCP, apatite carbonatée) et d'y inclure des substances pharmacologiques ou des facteurs de croissance. (18), (29), (33), (34)

2-2-3. Déposition de discrets cristaux.

De discrètes nanoparticules de CaPO_4 , c'est-à-dire d'une taille négligeable de 20 à 40 nm, sont déposées sur du Ticp préalablement mordancé. La taille des cristaux de PCa les plus fortement absorbés et adhérents est quant à elle de 20 à 100 nm. Ces discrètes nanoparticules permettent d'ajouter une complexité nanométrique à la topographie de surface. (45), (48)

De plus, des nanoparticules de TiO_2 ou d' AlO_2 sont moins nocives pour la viabilité et la prolifération cellulaire que des microparticules. Cette technique augmenterait l'ancrage mécanique avec l'os et la cicatrisation précoce. (45), (48)

Neuf jours après l'implantation, la force de tension est significativement plus élevée par rapport aux implants sans dépôts de discrets cristaux. Les surfaces modifiées par ce procédé favorisent, donc, la liaison osseuse. L'augmentation de la complexité de surface est une force motrice pour le mécanisme de liaison plus que la chimie du PCa. (18)

Des dépôts de discrets nanocristaux de PCa sur une surface de titane de microtopographie complexe, améliorent significativement l'ostéoconduction surtout dans les deux premiers mois après l'implantation. Ceci pourrait mener à une période de cicatrisation plus courte après implantation fournissant une fixation plus précise. Le but étant, aussi, de minimiser les micros mouvements et de mettre l'implant en charge plus rapidement, l'implantation en os peu dense peut devenir une indication. (18)

La surface Nanotite[®] commercialisée par 3i Implant Innovations[®] aux USA est obtenue par dépôts de nanoparticules de PCa sur un alliage de titane faiblement rugueux. La méthode utilisée est celle de la déposition sol-gel suivie de dépôts de discrets cristaux de PCa de 20 à 100 nm. Ce traitement permet d'obtenir une couverture de surface d'environ 50% de l'implant. (18)

2-2-4. Autres

Plusieurs autres méthodes sont utilisées pour déposer un revêtement sur les implants en titane. Le revêtement par compaction à chaud ou l'électrospray, sont deux d'entre elles.

La déposition par pulvérisation électrostatique est basée sur la génération d'un aérosol de solvants organiques contenant des ions Ca^{2+} et PO_4^{3-} . Sous l'influence d'un haut voltage, l'aérosol est ensuite dirigé vers une surface chauffée. L'évaporation du solvant se traduit par le revêtement de PCa sur le substrat. (18)

La pulvérisation électrostatique permet le contrôle de la composition chimique et des propriétés morphologiques du revêtement. Après douze semaines de cicatrisation le pourcentage de contact os/implant moyen est statistiquement beaucoup plus élevé par rapport à du titane nu mais significativement plus bas que pour du titane revêtu par torche à plasma. (18)

Une caractéristique supplémentaire peut être ajoutée après déposition d'un revêtement : si l'on réalise un traitement à chaud à 350°C , les particules deviennent plus larges et nous pouvons observer un changement de phase cristalline. Avant traitement thermique, un film formé d'HA, de β -TCP et CaO ; ensuite, seule l'HA subsiste. (40)

La société Anthogyr[®], France, propose une surface BCP[®]. Un mélange d'HA et de β -TCP présenté sous forme de particules abrasives est utilisé dans le but d'obtenir une surface rugueuse et biocompatible. Le traitement est réalisé par sablage soustractif, les particules sont projetées sur la surface de l'implant créant ainsi des micro impacts. Après ce sablage au BCP, les implants subissent un traitement à l'acide doux, sont rincés puis séchés.

Ce type de surface est retrouvé sur plusieurs implants de la gamme Anthogyr[®] (Axiom[®], Ossfit[®], Anthofit[®]).

2-3. Traitements chimiques

Les modifications chimiques de surfaces ont pour but d'exposer les groupements réactifs de la matière et de créer des nanotopographies. Ces traitements de surface peuvent aussi augmenter la minéralisation. Cependant, il est difficile d'obtenir des surfaces nanpstructurées reproductibles par traitement chimique. (29), (45)

2-3-1. Photolithographie

La procédure débute par l'application d'un fin film de photorésine sur la surface de titane, il est formé de zones opaques et transparentes pour définir le motif souhaité. Le substrat est ensuite exposé à une radiation lumineuse à travers un cache. (21)

La résolution des motifs est limitée à environ 600 nm pour un film de photorésine. L'utilisation d'un cache en titane, permet une topographie et 100 à 200 nm. (21)

L'aire de substrat exposée au faisceau sans mouvement, c'est-à-dire la taille du champ, est limitée par la résolution requise des reliefs de surface. Pour réaliser des aires de motifs plus larges, l'échantillon est déplacé avec une grande précision sous contrôle interférométrique (mesure de l'emplacement d'un corps en mouvement par l'analyse des interférences). (9)

Il existe plusieurs méthodes lithographiques : la sonde à balayage, le faisceau d'ions, le faisceau d'électrons, la lithographie colloïdale et à empreinte. (3)

La lithographie par faisceau d'électrons est une méthode qui permet de préparer des nanotopographies de surface hautement régulières. La résolution réalisable est d'environ 3 à 5 nm. (9)

La lithographie est une technique difficile à transposer sur des implants métalliques. (25)

2-3-2. Gravures chimiques

Le mordantage acide est réalisé par des acides forts comme HCl, H₂SO₄, HNO₃, HF, ou par un traitement alcalin. (21) Il ne permet pas le contrôle de la géométrie de surface du fait que la topographie nanométrique obtenue soit aléatoire et la composition chimique variable. (21), (31)

Un modelage chimique simple utilise une combinaison d'acides forts (ou de bases fortes) et d'oxydants pour générer efficacement un réseau de nanopuits de 20 à 100 nm de diamètre sur du titane, du Ti6Al4V ou du CoCrMo. (68) Un traitement par l'HF peut créer de discrètes nanostructures sur des surfaces préalablement sablées et être ainsi associé à une repousse osseuse plus rapide. Un traitement par le H₂O₂, ou peroxydation, entraîne la formation d'une couche de gel de TiO₂. (45)

Combiné à d'autres méthodes, le traitement chimique peut produire des nanoreliefs et éliminer les polluants (de sablage et/ou de peroxydation). Un double traitement par H₂O₂ et HCl crée de nouvelles nanostructures d'oxyde de titane à la surface du substrat. (45)

Un mordantage dans un mélange de H₂SO₄ et de H₂O₂ ne peut induire une nanotopographie suffisamment efficace pour retenir les protéines, sécrétées par les cellules adjacentes, que s'il dure quatre heures. (5) Une nanotexturation unique, caractérisée par des nanopuits de diamètre 10 nm en ruche d'abeilles, est produite si l'on utilise de H₂SO₄ et de H₂O₂ en concentrations égales. La surface obtenue est reproductible. (5), (64)

Dans ce cas, la prolifération ostéoblastique est favorisée alors que l'on se trouve face à une inhibition de la croissance fibroblastique. Lorsque les protéines sont absorbées plus efficacement, la différenciation cellulaire est accélérée. (48)

Les surfaces nanostructurées par gravures chimiques présentent une augmentation de l'adsorption des peptides RGD ainsi qu'un meilleur contact os/implant et par conséquent un meilleur ancrage dans l'os. L'ostéointégration est meilleure que celle obtenue pour un implant non modifié après un court temps de cicatrisation. (45), (18)

La surface OsseoSpeed[®] commercialisée par AstraTech[®] AB en Suède est formée par sablage au TiO₂ puis par modifications chimiques de surface par un traitement à l'acide hydrofluorique. Elle présente une rugosité de surface de 50 à 100 nm. (18)

La surface implantaire est légèrement plus lisse qu'une surface seulement sablée. Cependant, après trois mois d'implantation, la force d'arrachement et la résistance au cisaillement sont significativement plus élevées pour les surfaces traitées secondairement à l'acide hydrofluorique. (18)

La société française Dentsply® utilise une technique de mordantage thermique. Des composants acides sont injectés à différents endroits du substrat, à haute température. Il en résulte une surface nommée Friadent® plus. On la retrouve sur les implants Ankylos® et Xive®.

IDI®, société française, utilise aussi cette technique qui est alors nommée S.M.A. . Plusieurs types d'implants sont disponibles dans cette gamme comme l'IDALL®.

Lorsque le titane est traité par une solution de NaOH il y a création d'une couche de gel de titanate de sodium. Cette procédure est appelée traitement alcalin et entraîne la production de nanotubes de TiO₂ vers l'extérieur de la surface. L'aspect gélatineux permet le dépôt d'HA et les nanostructures accélèrent la croissance cristalline de l'HA dans les SBF. On observe, à la fois, un changement de la chimie et de la topographie de surface. (45), (68)

La combinaison d'un traitement alcalin avec un traitement hydrothermique permet de créer une large variété de nanostructures bioactives comme des nano feuillets, nano aiguilles, nano tubes ou nano tiges. Ces surfaces montrent une capacité à former de l'apatite et à s'intégrer avec l'os vivant. Cette habilité est attribuée au titanate de sodium amorphe formé sur le métal lors des traitements alcalin et thermique. (72)

2-4. Traitements physiques

2-4-1. Evaporation en phase gazeuse ou déposition de vapeurs physiques.

Cette technique a largement été utilisée ces dix dernières années pour déposer un fin film de matériau ayant un intérêt technologique. (18)

Une cible solide est irradiée par un faisceau laser pulsé et focalisé. Il en résulte un nuage gazeux. Ce plasma est composé d'électrons, d'atomes, d'ions, de molécules et dans certains cas de gouttelettes et de fragments de la cible. Des modifications chimiques se produisent lors de l'évaporation, la nature de la phase gazeuse permet le greffage de groupements chimiques et donc une modification des propriétés de surface notamment la charge électrique. Les particules ont une forte énergie cinétique et une bonne mobilité qui permettent de palier à l'utilisation de fortes températures. (18)

On obtient des nanophases métalliques alignées qui augmentent les fonctions précoces des ostéoblastes. La taille des pores est contrôlée mais leur distribution est aléatoire, on obtient une couche homogène de 5 nm d'épaisseur. (22)

Plus la pression est basse et plus les trajectoires des particules vaporisées seront rectilignes et seules les parties du substrat directement en regard de la sources seront ainsi recouvertes. Ce procédé est généralement réalisé après obtention d'une fine couche de métal par photolithographie. (22)

Le traitement par plasma à faible pression peut être réalisé en changeant la nature du gaz. Différents groupements chimiques sont alors greffés sur la surface faisant varier ses propriétés. On observe une augmentation de la mouillabilité qui améliore l'adhésion et la différenciation des ostéoblastes. Cependant, le greffage des groupements chimiques est aléatoire car ce traitement est non spécifique. (21), (25)

2-4-2. Traitement par radio fréquence

Préalablement la surface doit être traitée par une solution alcaline (NaOH), le Ti6Al4V devient alors vert. La composition chimique générale reste inchangée mais l'on observe un changement de la nanorugosité qui passe de 2 à 8 nm. Le traitement alcalin représente un avantage certain car il permet la formation d'un revêtement de PCa épais et homogène, indépendamment de la radiofréquence utilisée. Sans traitement alcalin préalable le revêtement est non uniforme. (40)

Ensuite, une radiofréquence est apposée sur le substrat. Le plasma gazeux qui en résulte comporte des éléments radicaux et ionisés qui sont considérés comme instables et vont rapidement évoluer vers différentes voies. Ils peuvent se combiner entre eux ou avec l'atmosphère formant ainsi des groupements chimiques stables. Ces éléments peuvent également entrer en collision avec la surface de titane modifiant ainsi sa composition et affectant notamment les effets de l'O₂ et du C. Cette méthode est réalisée à faible température. (40)

Les modifications de la surface se produisent dans la région la plus proche du faisceau et cela sur un diamètre de 10 à 50 nm. L'énergie utilisée, d'environ 10 eV, est insuffisante pour l'implantation d'ions dans la surface de titane. (40)

A l'état naturel, la couche externe de TiO₂ contient des contaminants carbonatés et la radiofréquence diminue la présence de ces contaminants par leur oxydation en d'autres groupements (hydroxyle, carboxyle). On observe donc une augmentation du taux d'O₂ par rapport à du titane pur. Après traitement, le revêtement a une forme de flocon. (40)

Le traitement alcalin diminue fortement la valeur de l'angle de contact (67°) et de ce fait augmente l'énergie de surface la rendant plus hydrophile. Ceci a pour effet d'encourager la nucléation hétérogène des cristaux de PCa, et donc la bioactivité, le revêtement s'étale plus et on obtient un film uniforme et plus épais. (40)

La composition chimique de surface dépend du traitement de radiofréquence utilisé, elle diffère après le traitement alcalin et la radiofréquence. (21) Après traitement alcalin et radiofréquence dans différents atmosphères N₂, CO₂, N₂+CO₂ on observe, dans les trois cas, une réduction du taux d'O₂ et de C. Cependant, pour le N₂ seul, le taux d'O₂ est identique avant et après traitement. L'angle de contact est à chaque fois diminué et traduit une introduction de groupements hydrophiles dans la surface. De plus, la radiofréquence par le CO₂ produit le revêtement le plus uniforme mais le plus fin. (40)

Cette procédure permet d'obtenir une chimie de surface contrôlée à l'échelle nanométrique et d'y introduire des groupements chimiques pouvant augmenter la mouillabilité et ainsi favoriser la précipitation de PCa. (25)

La présence de groupements comme OH, COOH ou NH₂ sur la surface favorise la chélation des ions Ca²⁺ et HPO₄²⁻ et donc la nucléation hétérogène du PCa. Lors de l'immersion, le relargage d'ions OH⁻ provoque une augmentation du pH en surface, des échanges ioniques Na/Ca et la précipitation de PCa de la solution. (40)

Qu'il y ait eu ou non traitement alcalin, de l'HA peu cristallisée est déposée après immersion pendant quinze jours dans une solution sursaturée de PCa. La radiofréquence et le traitement alcalin favorisent la bioactivité du titane par la formation d'un revêtement de PCa uniforme et épais après immersion dans une solution de PCa. (40)

2-4-3. Autres

- Compaction de nanoparticules de TiO₂

Suite à cette technique, la chimie de surface est conservée. La compaction et certaines dépositions forment des reliefs de taille et de disposition nanométriques alors que les traitements chimiques, et la déposition en général, forment des reliefs nanométriques distribués à l'échelle micrométrique. La réponse cellulaire peut être différente entre les deux. (45)

La surface OsseoSpeed[®] commercialisée par Astra Tech[®] AB, Suède est composée de nanoreliefs obtenus par projection de nanoparticules de TiO₂ puis par traitement à l'acide hydrofluorique ce qui donne des agrégats de 50 à 100 nm. (45)

- Dépôt assisté par un faisceau d'ions

Cette technique consiste à déposer, sous vide, un fin film d'un élément chimique souhaité à la surface de l'implant. On a généralement une ou deux sources de faisceaux ioniques qui irradient la cible de biocéramique (dans le cas où l'on veut déposer de l'HA par exemple) pour produire un nuage élémentaire vers la surface du substrat. (18)

Un exemple de ce type de modification de surface est présenté par la surface Nanotite[®] de Bicon Implant[®], Boston MA. La force d'arrachement ainsi que le pourcentage de contact os/implant seraient meilleurs par rapport à du titane non traité. (45)

- Méthodes optiques

Comme l'utilisation du laser, la lithographie et les techniques d'impression-contact, les méthodes optiques permettent de réaliser des structures nanométriques de formes très variées, isotropiques et sur plusieurs types de matériaux. (45)

Ces procédés sont dépendants de longueurs d'onde spécifiques afin de réaliser les modifications nanométriques appropriées. Les méthodes optiques demandent beaucoup de travail et d'améliorations avant de pouvoir être appliquées à des formes complexes comme le pas de vis implantaire. (45)

2-5. Implantations ioniques

L'implantation ionique provoque un réarrangement atomique. L'insertion sélective d'ions biologiquement efficaces est possible et permet un contrôle précis de la concentration et de la profondeur de distribution des ions implantés. (68) Il existe plusieurs degrés d'implantation :

→ L'imprégnation : l'élément chimique est au sein du matériau, il est considéré comme un élément stable. Plusieurs degrés d'imprégnation sont possibles : l'imprégnation résiduelle (moins de 1%), faible (de 1 à 5%) ou forte (plus de 5%). Dans le cas d'une imprégnation forte, la chimie de la couche subit de réelles modifications : ce phénomène est souvent observé avec les implants anodisés, (12)

→ Le revêtement : l'élément chimique est sur le matériau, il reste superficiel bien qu'une imprégnation partielle soit inévitable. Si le revêtement fait plus de 100 nm d'épaisseur il est considéré comme un matériau à part entière. Il peut être continu, discontinu ou émaillé, (12)

→ La pollution organique ou inorganique, la contamination : La contamination environnementale par l'air (CO_2 , N) est inévitable et normale sous un certain seuil. Cependant elle est inadéquate lors des traitements de surface et de la manutention (emballage, ...). Cela peut conduire à une contamination sévère par des ions non souhaités et les contaminants peuvent avoir un impact biologique significatif. (12)

Incorporer des ions bioactifs dans la couche de TiO_2 offre une meilleure ostéoconductivité *in vitro* et *in vivo*, par rapport au TiO_2 natif, par amélioration de l'adhésion et de la différenciation des cellules ostéoblastiques. À terme l'implantation ionique favorise la cicatrisation osseuse. (51) Néanmoins, il est possible de produire un stress superficiel et/ou une modification des motifs nanométriques de surface pré existants car cette méthode utilise de hauts niveaux d'énergie. (68)

La cristallinité reste inchangée après traitement (forme anatase) ce qui peut être dû à la faible épaisseur de la couche d'oxyde et à sa faible cristallinité. Une surface incorporée présente des nanostructures après traitement. (50)

L'incorporation ionique est plus généralement réalisée par traitement hydrothermique. L'implant est immergé dans une solution contenant de NaOH à 60°C pendant vingt quatre heures. Ensuite, il est nettoyé aux ultrasons, rincé à l'eau déionisée pendant soixante minutes afin d'éliminer les ions Na^+ résiduels. Un deuxième traitement hydrothermique est pratiqué à 180°C pendant six heures, cette fois ci, la solution utilisée contient l'ion que l'on souhaite incorporer. L'implant est nettoyé ultrasoniquement, rincé à l'eau déionisée puis séché à l'air. (50)

Après traitement hydrothermique, l'épaisseur de la couche d'oxyde est d'environ 2 μm et présente des pores submicrométriques. Cette méthode est efficace pour préparer la couche de TiO_2 à incorporer divers ions tout en conservant ses propriétés mécaniques. (50), (51)

✕ Le Magnésium (Mg) :

Le Mg est un cation divalent puissant qui améliore la réponse précoce des cellules ostéoblastiques en facilitant l'adhésion cellulaire médiée par les intégrines. En effet, cette dernière possède une sous unité permettant la fixation de cations divalents (comme les ions Ca^{2+} et Mg), le Mg étant un ligand physiologique pour les intégrines. (50), (51)

Pour incorporer du Mg par traitement hydrothermique, l'implant est immergé dans une solution alcaline contenant des ions Mg soit un mélange de MgO et de NaOH dissout dans de l'eau déionisée. Une fine couche de $\text{Mg}(\text{OH})_2$ se forme à la surface probablement à cause de la haute réactivité du Mg contenu dans la couche de TiO_2 . Cette surface modifiée montre aussi de faibles, mais abrasives, marques à faible grossissement (pores submicrométriques de 50 à 200 nm). Le Mg est ensuite relargué dans l'environnement péri implantaire. (51)

L'incorporation d'ions Mg améliore l'ostéonconductivité *in vitro* en augmentant le contact os/implant et l'ancrage biomécanique. L'ostéointégration est rapide et forte ce qui pourrait fournir l'opportunité pour une mise en charge rapide ou immédiate de ces implants. (51), (62)

La réponse osseuse dépend fortement de la concentration atomique en Mg. La chimie de surface pourrait faciliter les liaisons biochimiques, électrostatiques et ioniques à l'interface des implants Mg. En effet les cations Mg^{2+} contenus dans le titanate de magnésium (MgTiO_3) peuvent se lier électrostatiquement à un grand nombre de protéines de la matrice osseuse qui ont d'importantes propriétés polyanioniques (collagène, fibronectine, vitronectine, BSP). (51)

A trois semaines post-implantation, la force d'intégration des implants au Mg est significativement plus forte que celle observée sur des implants usinés. Elle est encore plus importante à six semaines. La vitesse d'intégration est plus rapide entre trois et six semaines sur un implant Mg que sur des implants usinés. (51), (62)

✖ Le Manganèse (Mn) :

Le Mn est un élément trace dans l'organisme. Il possède un fort potentiel pour lier les intégrines à des concentrations plus faibles qu'avec le Mg. Cependant, de trop fortes doses de Mn peuvent entraîner des effets toxiques comme des dommages neuro dégénératifs. Dans le cas des implants dentaires, le Mn est incorporé à de faibles doses et l'effet toxique systémique est alors acceptable, à l'inverse des implants orthopédiques. Si l'on incorpore des ions Mn, il y a formation de Mn_2O_3 lors du traitement hydrothermique. (50)

L'alliage de Ti-Mn est moins rigide et son module d'élasticité est plus bas que pour du Ti6Al4V. Cette caractéristique pourrait être un avantage pour minimiser le stress de blindage lié à la résorption osseuse autour de l'implant mis en charge. L'avantage de l'incorporation de Mn est l'amélioration des propriétés mécaniques. (50)

L'adhésion cellulaire, l'étalement et la prolifération sont significativement diminués par rapport à du titane non incorporé. La prolifération cellulaire augmente avec le temps d'incubation mais reste toujours moins importante en nombre car proportionnelle au nombre de cellules ayant adhéré initialement. Le niveau moyen de prolifération cellulaire est considérablement plus bas que celui du titane pur. (50)

Les ions Mn insérés dans la couche d'oxyde retardent la différenciation ostéoblastique. Les fonctions ostéoblastiques sont affaiblies et les fonctions cellulaires sont légèrement nocives par rapport à du titane non traité. (50)

✖ Le Strontium (Sr) :

Le Sr est un puissant élément bioactif candidat pour l'amélioration de la cicatrisation osseuse au contact de l'implant. Le Strontium Ranelate (SR) contient deux atomes de Sr et favorise la cicatrisation osseuse par deux mécanismes :

→ Par l'augmentation de la néoformation osseuse : en effet cet ion stimule la prolifération et la différenciation des cellules ostéoblastiques. (52)

→ Puis par la diminution de la résorption osseuse en inhibant l'activité et la différenciation des ostéoclastes tout en améliorant la déposition de la matrice osseuse et donc à terme la néoformation osseuse. Cependant, le mécanisme d'action exact du Sr n'est pas clairement connu. (52)

Les surfaces traitées hydrothermiquement pour incorporer des ions Sr présentent du $SrTiO_3$. De plus, on y observe des nanostructures de surface d'environ 50 nm. Il n'y a pas de différence significative des angles de contact et des énergies de surface avant et après incorporation. (52)

La concentration de Sr relarguée des surfaces est suffisante pour stimuler la différenciation ostéoblastique, le contact os/implant ainsi que la force d'arrachement des implants en alliage de titane. (52)

Néanmoins, il n'y a pas d'amélioration de l'attachement cellulaire ou du nombre de différenciations. Mais après sept jours de culture, les cellules croissant à la surface du Ti-Sr, présentent un taux significativement plus haut pour l'ALP que le titane conventionnel. (52)

D'un autre côté, de fortes doses de Sr pourraient avoir des effets délétères sur la minéralisation osseuse par la diminution de l'adsorption du Ca^{2+} . (52)

✘ Les ions Fluorures :

Il y a formation de fluoroapatite par interaction de ces ions avec l'HA présente dans le tissu osseux. Ceci favorise la prolifération ostéoblastique et la stimulation de l'activité de la phosphatase alcaline. (48)

L'addition de fluorures améliore la biocompatibilité du titane et favorise l'ostéogénèse. Les CSM sont préférentiellement différenciées en ostéoblastes et le contact os/implant est significativement augmenté *in vivo*. (48)

L'adhésion cellulaire est rapide dès les quatre premières heures d'incubation. Au septième jour, les gènes de l'ostéopontine sont précocement exprimés sur les surfaces traitées par 9 et 5% d'ions fluorures. Au quatorzième jour, l'expression génique dans les CSM adhérentes montre un taux de BSP plus important que sur des surfaces non traitées. Cependant le taux d'ostéopontine demeure identique. A vingt huit jours de culture, l'ostéopontine et l'ostéocalcine sont notablement plus importantes dans les CSM en culture sur des surfaces modifiées par fluorures. (47)

L'analyse des fluides de blessure démontre un marqueur sensible de la nécrose tissulaire : la lactate déshydrogénase (LDH). Cette molécule est significativement plus basse dans les fluides d'implants fluorés à quatre semaines, puis ce taux augmente jusqu'à huit semaines pour ensuite rester dans un ordre de grandeur identique à celui des contrôles. L'activité de la LDH est aussi positivement corrélée à une inflammation du fluide gingival chez un patient ayant une parodontite. (47)

De plus, la modification par des ions fluorures augmente les propriétés thrombogéniques des implants en titane. Il en résulte un caillot moins dense dans la région péri implantaire qui pourrait favoriser la migration des ostéoblastes vers la surface de l'implant. La cicatrisation osseuse péri implantaire est aussi améliorée par l'altération du profil d'expression des cytokines pro et anti inflammatoires dans l'os cortical péri implantaire. (47)

✦ Le Dioxygène (O₂) :

L'implantation d'O₂ par plasma autorise la création d'une couche de rutile en surface qui permettrait d'améliorer la biocompatibilité, le contact os/implant ainsi que l'ancrage mécanique. (43)

✦ Le Fer (Fe) :

L'implantation d'ions Fe dans le titane au niveau de la portion transgingivale a pour effet d'inhiber significativement la croissance de *P. Gingivalis* et de *Aa* par rapport à une surface polie, sans inhiber la prolifération fibroblastique. Ceci s'explique par la formation d'un complexe de fluorure de métal sur la surface implantaire. (54)

2-6. Fonctionnalisation des surfaces

Le principe est d'immobiliser des protéines biologiquement actives à la surface des matériaux implantaires et de la rendre ostéoinductrice. La surface implantaire aura donc la capacité d'induire une différenciation cellulaire et donc la synthèse d'une matrice osseuse minéralisable. (6)

Le facteur limitant réside dans le fait que le principe actif doit être relargué progressivement et non en une seule fois. En effet, une surproduction n'est pas souhaitable pour la cicatrisation osseuse. Il est alors possible d'incorporer un plasmide contenant le gène codant pour la protéine, mais il est difficile de l'insérer ensuite sur la surface. Cette alternative est donc inefficace.

Le succès de la fonctionnalisation dépend donc du type de relargage et de la concentration de molécules bioactives. Par exemple, le BMP favorise la formation osseuse mais stimule également l'action des ostéoclastes, ainsi, la dose est critique pour le résultat final. (48)

Même si des forces de dispersion sont toujours présentes à l'interface avec un substrat, ce sont les forces acide/base, présentes ou non, qui contribuent à l'adhésion. (16) Des molécules ostéoprogénitrices liées à l'implant mais ayant une faible affinité avec la surface métallique sont relarguées rapidement dans le milieu physiologique. (38)

Les molécules ostéogéniques, en général, se lient avec moins d'affinité à une surface métallique nue qu'à une surface recouverte de PCa. Dans le cas où elles sont liées chimiquement à un revêtement, elles seront relarguées plus lentement. Par des procédés biomimétiques, elles peuvent être incorporées à l'intérieur et faire partie intégrante des composants du revêtement, ce ne sont plus seulement des éléments absorbés en surface. Les agents ostéogéniques seront, alors, libérés encore plus lentement dans le micro environnement. La vitesse de relargage des molécules bioactives est identique à la vitesse de dégradation ostéoclastique de la couche inorganique dans laquelle elles sont intégrées. Etant des éléments protéiques, les molécules bioactives sont inactivées à haute température, comme lors de la procédure de revêtement par torche à plasma. (38), (39)

Si les agents ostéogéniques ne sont déposés que superficiellement, ils seront relargués très rapidement en une seule rafale sur quelques heures. Le relargage des molécules qui suit l'implantation génère une élévation locale de leur concentration qui peut mener à leur inactivation non spécifique pendant plusieurs heures, voire plusieurs jours. Ceci pourrait compromettre leur activité ostéogénique. (29), (39)

Les molécules bioactives sont le plus souvent couplées à un transporteur comme le collagène, des céramiques synthétiques ou naturelles, une matrice osseuse déminéralisée ou des acides polyglycoliques. Comme cela a été démontré précédemment, un revêtement de PCa peut servir de transporteur pour des substances ostéogéniques rendant l'implant ostéoinducteur, en plus d'être ostéoconducteur grâce aux propriétés de l'HA. (36)

Les transporteurs permettent un relargage des molécules en deux phases cinétiques distinctes : une phase initiale rapide qui dure quelques heures et la deuxième plus lente qui s'étale sur plusieurs semaines. (36)

Le meilleur agent de liaison doit être une molécule complexe capable de former de multiples liaisons covalentes stables à la surface du métal, en même temps que des liaisons latérales par auto assemblage par exemple. (68) Le collagène est le plus efficace pour retenir une grande partie des molécules, même pendant la phase initiale, alors que les particules synthétiques d'HA n'en retiennent que très peu (seulement 10%). (36)

Afin d'améliorer la fonction des lignées de cellules ostéoblastiques, il est nécessaire de faire correspondre la densité de surface des molécules sélectionnées à la distribution des récepteurs correspondant sur la membrane cellulaire. Le comportement cellulaire peut être régulé en manipulant le type, le nombre, l'espacement et la distribution spatiale des ligands d'adhésion cellulaire sur la surface du matériau. (67)

En effet, plus on augmente la concentration de ligands d'adhésion, plus on diminue la migration et la prolifération des cellules. Pour une migration et prolifération optimales, une concentration plus basse de ligand est préférable. Par exemple, une distance minimum de 58 nm entre les peptides RGD est requise pour un étalement complet des fibroblastes, incluant la stabilité et la maturation des plaques d'adhésion focales sur ces cellules.

Les molécules biologiquement actives greffées les plus connues sont celles contenant des séquences peptidiques RGD : Arginine (ARG) – Glycine (GLY) - Acide aspartique (ASP). Certains éléments de la matrice extra cellulaire, fondamentaux pour les fonctions cellulaires, contiennent cette séquence peptidique comme le collagène de type I ou III, la chondroïtine sulfate, ...

Les surfaces greffées avec des séquences RGD sont les plus actives mais ce mécanisme d'action n'est pas spécifique aux ostéoblastes. Elles ont aussi une grande capacité d'adhésion (55% à quinze minutes, 30% à soixante minutes). La force d'adhésion initiale est importante et augmente légèrement avec le temps. Cependant, les résultats expérimentaux diffèrent. (4)

D'autres séquences peptidiques ont été identifiées dans les protéines de la matrice extra cellulaire et peuvent aussi être greffées comme YIGSR et IKVAV présentes dans la laminine, REDRV et LDV dans la fibronectine, ou la séquence DGEA dans le collagène de type I. Néanmoins, l'utilisation de séquences courtes est plus efficace puisque les chaînes longues peuvent se plier rendant les domaines de liaison inaccessibles pour les cellules. (4), (67)

L'adhésion cellulaire peut aussi se produire grâce à l'interaction entre la protéoglycane d'héparane Sulfate membranaire et le site liant l'héparine sur les protéines de la matrice extra cellulaire. Ce mécanisme est spécifique aux ostéoblastes. La séquence KRSR est proposée comme séquence minimale pour promouvoir ce type d'adhésion, la spécificité cellulaire du motif KRSR favorise sélectivement l'adhésion ostéoblastique. (4), (67)

Les surfaces greffées avec des séquences HPV présentent une plus grande capacité d'adhésion que celles utilisant des séquences RGD. La force d'adhésion initiale de ces surfaces n'est pas particulièrement augmentée mais elle s'améliore avec le temps de culture. Le mécanisme d'action est ostéoblaste spécifique. (4), (67)

Plusieurs types de molécules biologiquement actives peuvent être utilisés :

✖ Collagènes et peptides collagéniques mimétiques (séquences peptidiques ressemblant à celles du collagène). Un revêtement de collagène de type I, ou de séquence peptidique proche, améliore une réparation osseuse et une intégration implantaire. Après trois mois, le contact os/implant est significativement plus élevé par rapport à du titane nu. Les substrats revêtus de collagène produisent une surface soit hydrophile ou hydrophobe en fonction du matériau sous jacent. (18)

✖ Collagène + chondroïtine sulfate. Un greffage de ces deux molécules de la matrice extra cellulaire ne montre pas de différence significative de l'ancrage mécanique. Toutefois, après vingt huit jours de cicatrisation le contact os/implant est significativement meilleur par rapport à du titane nu. De plus grandes protéines de la matrice extra cellulaire ne peuvent pas être utilisées du fait de leur faible stabilité chimique, de leur solubilité dans les fluides biologiques et de leur coût élevé. (18), (39)

✖ Collagène composite avec du PCa. La recherche s'est concentrée sur le développement de revêtements composites bio inspirés par la structure osseuse unique nano composite. La matrice osseuse est composée de collagène organique et d'HA inorganique. Ce type de revêtement offre ainsi une valeur ajoutée à ceux constitués uniquement de composants organiques et inorganiques. Le pourcentage de contact os/implant ne présente aucune différence significative par rapport à plusieurs autres surfaces après un et trois mois d'implantation. (1), (18)

✖ Vitronectine et fibronectine. Ces glycoprotéines primaires du sérum sont reconnues par les récepteurs à intégrines membranaires via leur séquence RGD, elles favorisent ainsi l'adhésion cellulaire. Une fois reconnues, il se produit une cascade d'évènements biologiques dont l'étalement cellulaire et l'organisation du cytosquelette qui module les évènements à long terme comme la production de protéines.

Tous les substrats revêtus de fibronectine présentent un angle de contact plus élevé (passage de 97 à 109°) cette molécule augmente donc l'hydrophobicité de surface. Sur tout type de substrat, elle produit une hydrophobicité de l'ordre de -67.4 à -75.6 mJ.m^{-2} . (16) La fibronectine est préférentiellement adsorbée par du titane poreux. (18) Un greffage de molécules d'adhésion cause des changements dans l'énergie de surface mais la fibronectine est celle qui a l'effet le plus profond sur les propriétés interfaciales du substrat. C'est une molécule monopolaire basique alors que les protéines et les cellules sont des composants apolaires. (16)

× BMP (Bone Morphogenic Proteins)

Ce facteur de croissance appartient à la famille des TGFβ et inclus au moins dix huit protéines différentes comme le BMP2 qui possède un fort potentiel ostéoconducteur. À ce jour, les BMPs sont les seules molécules ayant fait la preuve d'un réel potentiel ostéoinducteur. Cependant les applications cliniques sont restreintes et se limitent aux BMP 2, 4 et 7. (18), (58)

Par ailleurs, les caractéristiques fonctionnelles de l'hétérodimère BMP-2/7 ont été décrites très récemment. C'est une forme très puissante prouvant ses effets lors de l'ostéoblastogénèse, en comparaison aux homodimères de BMP2 ou de BMP7. Cet hétérodimère présente une plus faible concentration efficace que les homodimères respectifs et facilite donc les potentielles applications cliniques. (39)

Le BMP est un agent ostéogénique qui stimule le recrutement, la prolifération et la différenciation des cellules ostéoprogénitrices, des CSM mais aussi des ostéoclastes à un stade précoce. Ils peuvent donc promouvoir la résorption de l'os néoformé presque aussitôt après qu'il ait été apposé. Par conséquent, le volume net de l'os déposé sur un implant pourrait être plus faible en présence qu'en l'absence de BMP. (18), (38)

La dose appliquée est aussi critique car un surdosage peut déclencher la production d'inhibiteurs intrinsèques du BMP comme la noggin. (38)

Si l'on revêt un implant avec ce facteur de croissance, la prolifération et différenciation des CSM, des cellules ostéoprogénitrices et des pré-ostéoblastes vers la lignée ostéoblastique sont améliorées et pourraient améliorer la cicatrisation osseuse.

Un revêtement de BMP2 sur du titane poreux induit une néoformation osseuse locale significative. Après huit semaines, on observe une augmentation verticale de la crête alvéolaire, de l'initiation du remodelage osseux péri implantaire et de la formation d'un os physiologique. (18)

L'ostéointégration clinique est significative, surtout dans les déficits osseux de type IV. Toutefois le contact os/implant moyen est statistiquement plus haut pour des surfaces non revêtues. Ces effets sont dose-dépendants. Par exemple quand les doses de BMP2 sont faibles, l'os généré apparaît immature et sans formation de cortex. Mais dans tous les cas l'induction de formation osseuse *de novo* n'atteint pas le niveau d'ostéointégration observé dans l'os natif. (18)

Si le BMP2 est présent sous forme de dépôts superficiellement absorbés, son relargage est massif et génère une augmentation locale de sa concentration dans les phases précoces de la cicatrisation. Cette surexpression n'a pas un effet bénéfique sur la néoformation osseuse. À trois semaines d'implantation, la quantité de BMP2 restante, demeure alors insuffisante pour stimuler la formation osseuse à un degré acceptable dans le but de compenser la dégradation de l'os qui a été favorisée dans les premiers temps. L'ostéoconductivité des surfaces implantaire se voit alors plus sévèrement détériorée par le BMP2, présent sous cette forme. (38)

Pour avoir les effets désirés, le BMP2 doit être délivré d'une manière plus physiologique, comme lorsqu'il est incorporé au sein même du revêtement. La libération du facteur est médiée par les ostéoclastes et se fait par une dégradation de la couche dans laquelle il est incorporé. (38)

Après cinq semaines, environ 40% du revêtement reste non dégradé ce qui suggère qu'une portion similaire de facteur de croissance incorporé n'a pas encore été délivré. Le BMP2 n'induit donc pas seulement la formation osseuse à très faible dose pharmacologique mais il a aussi la capacité de faire durer l'activité ostéogénique pendant plusieurs semaines après l'implantation. Lorsqu'il est absorbé, il induit une réponse ostéogénique transitoire et sporadique qui ne dure pas plus d'une semaine, ce qui est quantitativement négligeable. Il convient d'observer que la quantité globale de BMP2 déposée à la surface ne diffère pas de celle incorporée au sein du réseau. (37), (38)

Quand le BMP2 est présent sous deux formes (incorporé et absorbé), la quantité libérée pendant la première semaine post implantation est plus importante que quand il n'est disponible que sous sa forme absorbée. Néanmoins, le volume d'os formé par ce groupe hybride durant cette semaine est plus bas. Cela est dû à l'augmentation de la concentration de BMP2 qui génère une surstimulation de l'activité des ostéoclastes. Ceci a probablement aussi un effet catalytique, sur le revêtement, car les matériaux utilisés sont de structure semblable à la matrice osseuse, donc sujets à la digestion ostéoclastique. Il est envisageable de faire l'analogie avec le remodelage osseux physiologique où des facteurs de croissance sont libérés de la matrice osseuse lors de sa dégradation. (37), (38)

Un bénéfice accidentel, mais important, de l'incorporation du BMP2 est une augmentation de la force mécanique du revêtement. Cette propriété peut être améliorée en augmentant la concentration de protéines incorporées qui n'ont pas besoin d'être bioactives. (37)

× Facteurs non BMP

D'autres facteurs de croissance peuvent être greffés comme les hormones de croissance (GH), les facteurs de croissance dérivés des plaquettes (PDGF), les facteurs de croissance insuline like (IGF1) et les facteurs de croissance relargués par les plaquettes (PRGFs), ... (18)

✘ Les polymères

Les polymères ioniques pouvant moduler la prolifération et la différenciation cellulaires sont le poly(SSNa), poly(méthacrylate acide) ou bien un copolymère des deux. Les propriétés de surface dépendent de la composition chimique des groupements ioniques utilisés. (17)

A titre d'exemple, les groupements contenant de l'O₂ augmentent l'énergie libre de surface la rendant plus mouillable, collante et donc plus susceptible à l'adsorption de médiateurs d'adhésion comme la vitronectine, la fibronectine ou le collagène.

Les polymères synthétiques utilisés en biotechnologie et en médecine sont souvent trop hydrophobes et ne peuvent assurer une colonisation cellulaire suffisante. En effet, les molécules responsables de l'adhésion cellulaire sur le biomatériau sont adsorbées dans une forme dénaturée rigide lorsque la surface est hydrophobe. Cette conformation géométrique est inappropriée pour lier des cellules car leur séquence spécifique (comme la séquence RGD) est moins accessible pour les récepteurs membranaires (comme les intégrines). (3)

Plusieurs protéines, comme la sérum-albumine, perdent leur hydrophilie prononcée après le séchage en s'orientant vers une conformation tertiaire plus hydrophobe. A l'inverse, le fibrinogène est une des protéines qui ne devient pas plus hydrophobe au séchage. Cependant, la transformation du fibrinogène en fibrine s'accompagne d'un changement définitif dans les propriétés de surface car le fibrinogène est très hydrophile et la fibrine est une forme hydrophobe. (16)

Les surfaces polymériques peuvent être rendues plus mouillables par des méthodes physiques efficaces comme l'irradiation par des ions, par du plasma ou par la lumière UV. Durant l'irradiation, des sites réactifs sont formés sur les polymères et, par exemple, des radicaux permettant des doubles liaisons qui peuvent ensuite être utilisées pour greffer diverses molécules ou nanoparticules (glycine, alanine, peptides contenant des séquences RGD, nanoparticules d'or, ...). Ces méthodes sont plus sûres que les procédés chimiques dans lesquels la rétention puis le relargage de groupements chimiques cytotoxiques est possible. (3)

L'irradiation ionique est réalisée par des ions de forte énergie comme l'O₂, N et les halogènes, ... En fonction de leur poids moléculaire et de leur énergie les ions peuvent modifier la surface de polymère sur une profondeur de 10 nm à 100 µm. Il en résulte une relative augmentation des composés carbone (carbonisation). (3)

Suite au traitement par du plasma, des produits de dégradation oxydés apparaissent et contribuent à augmenter l'hydrophilie. Par ce procédé, les polymères sont modifiés ou activés. On obtient une augmentation de l'adhésion et de la prolifération des cellules sur des polymères modifiés. (3)

Une décharge de plasma suivie d'un greffage d'or mène à des changements importants de la morphologie de surface et de la rugosité. Les nanoparticules d'or ne sont pas juste retrouvées sur la surface mais aussi sur une profondeur d'environ 100 nm. (3)

× Les molécules organiques

L'alkylrésorcinol est un lipide naturel trouvé dans plusieurs plantes et dans certaines espèces bactériennes. Il possède beaucoup de fonctions biologiques comme celle d'être anti oxydant non spécifique, anti mutagène et régulateur moléculaire. Son analogue chimique est le 4-HR qui a des propriétés antiseptiques et qui est dépourvu d'effet toxique à moins de 50 $\mu\text{g.mL}^{-1}$. (19)

Comme toutes les molécules organiques, il est susceptible aux traitements thermiques et donc difficile à incorporer dans un revêtement. Pour se faire la température doit être ambiante. Comme cette molécule est hydrophobe, elle ne peut être relarguée du revêtement qu'avec la dégradation de ce dernier. (19)

De par ses propriétés anti microbiennes il pourrait être envisageable d'utiliser cette molécule organique pour revêtir un implant dentaire implanté immédiatement après extraction d'une dent infectée. Les tests antimicrobiens avec *P. Gingivalis* indiquent une zone d'inhibition bactérienne autour de ce type de revêtement mais pas autour d'un revêtement uniquement composé d'HA. Le 4-HR pourrait donc inhiber une infection bactérienne dans les sites péri implantaires de manière plus bénéfique que l'HA. (19)

En augmentant les doses de 4-HR il y a une augmentation proportionnelle à l'activité de l'ALP et l'expression de l'ostéocalcine, même lors du mélange de l'HA avec l'4-HR. Ces taux sont significativement plus élevés pour un revêtement composite d'HA et de 4-HR que pour un revêtement d'HA seul. (19)

En comparaison à un revêtement d'HA simple, un revêtement mixte HA+4-HR produit un attachement cellulaire plus rapide, un meilleur étalement, un taux d'expression de l'ostéocalcine et de l'ALP plus élevés. La force d'arrachement est supérieure et la valeur du contact os/implant est meilleure en présence d'une infection. La néoformation osseuse est donc meilleure pour un revêtement d'HA+4-HR après implantation que pour celui de l'HA seul. (19)

Le 4-HR pourrait favoriser l'attachement cellulaire *in vitro*, affecter la régulation des fonctions cellulaires et favoriser la régénération osseuse lorsqu'il est infecté par le *Aa*. (19)

✘ Les biphosphonates

Leur incorporation contre la résorption osseuse, en situation de faible volume osseux, (crête alvéolaire résorbée) augmente localement la densité osseuse. Cet effet est limité à la région péri implantaire où l'on peut observer une augmentation du taux de contact os/implant. La densité osseuse dépend de la concentration utilisée, la dose idéale reste à déterminer. (29)

L'utilisation des biphosphonates est en diminution du fait qu'ils présentent des effets secondaires comme l'apparition de zones de nécroses dans les traitements contre l'ostéoporose et contre les pathologies malignes. (29)

Il existe plusieurs techniques pour fonctionnaliser des surfaces de titane par l'adsorption de différentes molécules. La plus simple est l'immersion dans une solution contenant la molécule désirée afin de promouvoir son adhésion à la surface mais, dans ce cas, le taux d'adhésion est relativement faible (3 à 15%). (37), (67)

2-6-1. Auto-assemblage monocouche (SAM)

Cette technique est une chimisorption spontanée et une compaction verticale de molécules sur un substrat spécifique. Les molécules bioactives greffées n'exposent que leur groupement terminal fonctionnel à l'interface de la couche, elles peuvent alors être ostéoinductrices ou médier l'adhésion cellulaire. Cette méthode permet donc d'introduire de nouvelles propriétés physiques et/ou biochimiques à la surface. On utilise notamment des domaines peptidiques servant à l'adhésion cellulaire comme les séquences RGD. (45)

La qualité du SAM dépend de la surface efficace du substrat (zones planes, rugosités, ...) et de la densité de groupements OH⁻. Toutes les surfaces SAM sont relativement planes et leur rugosité est de moins de 0.5 nm, toutefois la couche déposée est beaucoup plus rugueuse que la couche d'oxyde sous jacente. Il y a, alors, une absence d'homogénéité à l'échelle submicrométrique. Après SAM, les surfaces obtenues ne présentent pas une morphologie très idéale ni uniforme. (1), (65)

En général l'angle de contact augmente après le SAM mais cela dépend du groupement utilisé. Il est, par exemple, très bas en présence de groupements OH⁻ en surface. La technique de SAM, tout comme les procédés sol-gel, ont donc tendance à diminuer la mouillabilité. Une modification de surface par SAM permet une variation des énergies de surface et des forces d'attraction intermoléculaires qui immobilisent les protéines. (1)

Une diminution de l'angle de contact indique une élévation de l'adsorption protéique qui ne va pas pour autant modifier de manière significative la morphologie ni la rugosité de la surface. Cependant si l'on compare l'adsorption protéique sur des surfaces modifiées par la technique sol-gel, elle est plus rapide qu'après SAM. La méthode sol-gel donne des surfaces avec de fortes concentrations de protéines absorbées alors qu'avec le SAM on observe, à la fois, des zones de très basse concentration et des zones de très forte concentration protéique. Sachant que les propriétés d'adsorption du mélange dépendent du composant dominant de la solution. (1), (65)

Un SAM chargé négativement présente une meilleure capacité de nucléation de l'HA par rapport à un SAM positif. Lorsque les groupements fonctionnels greffés sont -COOH, le revêtement d'HA produit est hautement cristallin et ses caractéristiques cristallines sont plus proches de celles de l'os. Par ailleurs, les groupements chimiques actifs comme H₂PO₄ ou COOH sont très propices à la minéralisation, à l'inverse des groupements composés de CH₃. (39), (76)

La dernière couche de SAM joue un rôle dominant dans l'adsorption tout en dépendant de la morphologie des couches sous jacentes. A l'endroit où les concentrations protéiques adsorbées sont les plus fortes, nous trouvons les zones où l'oxyde est la plus rugueuse. (1)

Une couche SAM de groupements hydrophobes adsorbe préférentiellement l'albumine, cependant la protéine sérique ne peut être remplacée, par la suite, par des protéines de la matrice extra cellulaire. Ce blocage empêche donc l'adhésion cellulaire. Alors que des groupements hydrophiles de surface adsorbent volontiers la fibronectine, permettant ensuite un échange entre l'albumine déposée et les protéines de la matrice extra cellulaire. L'adhésion cellulaire est meilleure avec des points focaux plus efficaces. (45)

Pour des SAMs formés de films d'or, les protéines sont adsorbées de manière dense, sous forme de lignes de 80 à 700 nm de large ou de points de diamètre 20 à 250 nm. La configuration des protéines adsorbées dépend de la concentration de la solution, du temps d'adsorption, des interactions protéines/molécules et protéines + molécules/or. Cette surface est recouverte de protéines à $81\pm 2\%$ et l'épaisseur de cette couche est de 4 ± 0.5 nm. (65)

La liaison covalente entre l'Or du SAM et les groupements terminaux SH des protéines est plus stable que les interactions inter moléculaires. Il en résulte une immobilisation des protéines à la surface de l'or par simple couche. (65)

Sur un SAM formé de chaînes de thiols MHA, les protéines sont adsorbées sous forme de sphéroïdes de hauteur 4 ± 0.5 nm et de 18 ± 2 nm de long et distribuées de façon éparse sur le substrat. La surface est recouverte à 2% par les protéines ce qui est très faible. Ceci est sûrement dû à des interactions électrostatiques répulsives entre les protéines et les groupes terminaux COO^- . De plus les molécules et la surface sont chargées négativement à cause de l'ionisation qui provoque la répulsion électrostatique. (65)

Sur un SAM formé de chaînes thiol ODT, les protéines sont adsorbées de manière non uniforme par des motifs branchés d'une hauteur de 8 ± 1 nm couvrant la surface à $9\pm 1\%$. L'adsorption protéique est principalement due à des interactions hydrophobes entre les portions hydrophobes des protéines et la surface hydrophobe. (65)

Si l'on fait un mélange de ces deux types de thiols aux groupements terminaux différents, les protéines forment des structures branchées beaucoup plus denses. La couverture est alors de $28\pm 1.5\%$ et d'une hauteur de 4 ± 0.5 nm indiquant une monocouche de protéines. L'augmentation de l'adsorption protéique est probablement due à la coordination des effets hydrophobes du groupement CH_3 et hydrophile du groupement COOH . (65)

2-6-2. Auto-assemblage multicouche

L'auto-assemblage multicouche est l'adsorption consécutive de polyanions et de polycations par des interactions électrostatiques qui mène à une construction multicouche. Le revêtement obtenu est plus stable que par une adsorption physique puisque l'attraction électrostatique est présente entre les différentes couches et entre les couches et le substrat. (6)

Ce procédé permet de déposer une couche de charge identique à celle du substrat. En effet deux charges identiques se repoussent mais dans le cas d'auto-assemblage multicouche, une même charge peut être déposée secondairement sur une autre couche. (6)

En général, on utilise des polyélectrolytes qui sont des polymères dont les unités répétitives possèdent un groupe électrolyte qui se dissocie en solution aqueuse pour former des polyions. Un revêtement polyélectrolytique peut recouvrir uniformément un substrat de différentes taille, forme et topographie avec une grande reproductibilité. Il protège la surface de la corrosion grâce à ses propriétés de pH tampon. (53)

Il est important de connaître les propriétés physiques et chimiques de la première couche de polyélectrolytes absorbée du fait qu'elle affecte directement la conformation et l'épaisseur des couches absorbées par la suite. Une fois le substrat entièrement recouvert, la mouillabilité, la morphologie et les structures de surface sont définies par la couche la plus externe. La flexibilité des chaînes de polyélectrolytes et l'équilibre entre la conformation de la chaîne et son affinité pour la surface, déterminent sa capacité à absorber, et jouent donc un rôle important pour déterminer le nombre de polyélectrolytes absorbés à la surface. (53)

C'est une méthode simple et versatile capable de modifier la surface des biomatériaux. (6)

Le chitosan est, à titre d'exemple, une molécule généralement extraite des crustacés : c'est un polysaccharide que nous utiliserons comme polycation. Le chitosan est un analogue des glycoaminoglycanes (GAG) et de l'acide hyaluronique. Puis d'un autre côté, la gélatine employée comme polyanion, elle est directement dérivée du collagène. (39), (76)

Il pourrait être envisageable qu'un revêtement de chitosan / gélatine, par la technique d'auto assemblage multicouche, puisse être utile pour favoriser la croissance des ostéoblastes sur des substrats en titane. En effet, les GAG forment des interactions spécifiques avec des facteurs de croissance, des récepteurs et des protéines d'adhésions qui expliquent leur rôle dans la bioactivité. (6)

Pour obtenir ce type de revêtement, il faut dissoudre le chitosan dans de HCl et de NaCl. La gélatine est dissoute dans du NaOH et du NaCl dans le but de se charger négativement comme les polyanions. Le titane, à modifier, est immergé dans du polyéthylène (PE) afin d'obtenir une charge de surface stable et positive qui permettrait d'initier le processus. L'implant est ensuite trempé successivement dans des solutions de polysaccharides (chitosan) et de protéines (gélatine). (53)

A la fin du processus on obtient huit bicouches de chitosan / gélatine, sur le modèle : titane / PE / gélatine / (chitosan / gélatine)³. (6)

Il est indispensable de réitérer plusieurs fois le processus afin d'obtenir un nombre suffisant de couches. En effet, le revêtement recouvre incomplètement la surface de titane même après deux couches. Ce n'est qu'après dépôt de cinq couches de chitosan / gélatine que l'on obtient un revêtement complet de la surface de titane. Dans l'exemple précédent, le cycle a été répété huit fois. (53)

Une seule bicouche de chitosan / gélatine a une granulosité de surface d'environ 2.5 μm . Il n'y a pas d'altération significative de la rugosité de surface après revêtement. Ces deux molécules de revêtement sont hydrophiles. La diminution initiale de l'angle de contact est le reflet de l'augmentation de la couverture par les bicouches successives sur le titane. (6)

Si la couche la plus externe est composée de chitosan, on n'obtient pas de morphologie particulière ni de spécificité de surface. Si la gélatine se trouve à l'extérieur, le revêtement présente des structures arborées, rugueuses. Ceci s'explique par la différence de composition chimique et de poids moléculaire entre ces deux molécules. Celui de la gélatine est faible, elle est flexible ce qui implique des changements de conformation après séchage. On observe ainsi un alignement des molécules de gélatine lors du séchage qui favorise la prolifération des ostéoblastes. Le chitosan soutient lui aussi la croissance ostéoblastique et inhibe celle des fibroblastes. (6)

Il existe des polyélectrolytes polyaminoacides synthétiques comme le PGA, chargé positivement, et le PLL chargé négativement en solution. Si l'on revêt un substrat d'un film contenant ces deux éléments, la situation est propice à l'adhésion cellulaire, en fonction du pH du milieu. (53)

Le PGA ne peut pas être absorbé efficacement à la surface du titane du fait des forces répulsives générées par les mêmes charges trouvées sur les deux matériaux. Néanmoins, le PGA se trouve absorbé car les ions Na^+ , initialement utilisés pour dissoudre le polyanion, interagissent avec la surface de TiO_2 . Cette surface est chargée négativement et réduit le caractère négatif de la surface autorisant l'absorption de PGA. (53)

La mouillabilité de surface a été considérablement améliorée quand sa couche d'oxyde native est recouverte par du chitosan, du PGA ou du PLL. (53)

2-6-3. Greffage par liaisons covalentes

Il est possible de greffer des polymères ioniques bioactifs à la surface du titane par liaisons covalentes. Le but est de contrôler l'interface implant/tissu par immobilisation de protéines, d'enzymes ou de peptides qui pourraient induire une réponse physiologique plus spécifique en exposant les sites actifs appropriés vers l'interface biologique. Cette approche permet d'augmenter le nombre de groupement réactifs à la surface et d'optimiser la réaction de condensation. (4), (17)

La principale difficulté est d'assurer la stabilité des biomolécules et l'accessibilité de leur site actif. L'attachement covalent requiert l'utilisation de différentes réactions chimiques qui peuvent être agressives envers les biomolécules et donc réduire leur potentiel bioactif. (17), (67)

Afin de réaliser cette procédure, il est nécessaire d'immerger l'implant dans de l'HS pendant une minute ce qui provoque l'oxydation du titane. A ce bain est ajouté du H_2O_2 , il en résulte la formation en surface d'hydroxyde de titane et de peroxyde de titane. L'implant est rincé, séché puis de nouveau immergé mais cette fois-ci dans une solution aqueuse contenant les monomères à greffer, pendant quinze heures à $70^\circ C$. Si l'on souhaite, par exemple, fonctionnaliser la surface par des groupements sulfonates, cette solution contiendra des monomères de Sodium Styrene Sulfonate (NaSS). (17)

L'attachement covalent des groupements sulfonates avec le titane est produit par une polymérisation de radicaux. Le chauffage de la solution aqueuse induit la décomposition du peroxyde de titane en radicaux qui initie la polymérisation du monomère de NaSS. Des polymères sont alors greffés. Différents paramètres influencent ce greffage : le temps d'oxydation, la température, le temps de polymérisation et la concentration des monomères. (17)

La plus grande quantité de polymères est greffée après trois minutes d'oxydation, la température de $70^\circ C$ permet d'obtenir un nombre optimal de greffages ($5 \mu g.cm^{-2}$). Après quinze heures de polymérisation, un plateau est atteint dans les réactions indiquant la disparition du H_2O_2 , et avec, la capacité à produire des radicaux. Les polymères greffés présentent une distribution hétérogène sur la surface du titane. (17)

A plus de $70^\circ C$, le solvant s'évapore et donc les résultats ne sont pas conformes. L'oxydation, par un mélange d'HS pur et de H_2O_2 , induit une diminution de la quantité de titane par la présence de contaminants sulfurés issus de la solution d'oxydation. (17)

La présence de polymères greffés augmente le taux de C et diminue le taux d'O₂ de la surface. L'énergie libre de surface est, elle aussi, augmentée. Les surfaces prennent alors un caractère hydrophile en formant dans un premier temps du TiOH et cela en présence de polymères ioniques. (17)

Après application d'un stress de cisaillement, comparable à l'implantation, les cellules restent ensemencées sur le revêtement. De plus, le nombre de cellules adhérentes sur la surface greffée est plus important que sur du titane oxydé. Une énergie de surface seuil de 57 mN.m⁻¹ existe entre les surfaces qui favorisent l'adhésion cellulaire et celles qui l'empêchent. Le titane greffé est à 5902 mN.m⁻¹ et le titane oxydé est aussi au dessus de ce seuil. (17)

La force d'adhésion cellulaire est plus importante sur du titane greffé que sur du titane oxydé, cependant leur rugosité de surface est quasiment identique. Cette différence pourrait s'expliquer par les interactions ioniques entre la surface de titane et la membrane cellulaire et la présence de protéines adhésives comme la fibronectine qui interagit avec la membrane cellulaire et le poly NaSS greffé. (17)

Le greffage par liaisons covalentes est intéressant du point de vue industriel car nécessite seulement deux étapes et peut prendre en charge des formes complexes. A l'inverse, le SAM qui est plus couramment utilisé pour greffer des polymères, implique trois étapes. Le point négatif qu'il faut retenir est le coût important des biomolécules qui limite leur application industrielle. De plus, ces molécules peuvent être dégradées *in vivo* par des enzymes.

3- Apports de la nanotopographie sur le comportement biologique

Toutes les interactions entre les protéines et les points d'adhésion focaux des cellules se produisent au niveau nanométrique activant ainsi les voies de signalisation intra cellulaires qui contrôlent le devenir de la cellule. (32) Des propriétés biologiques en découlent comme l'adsorption protéique, l'adhésion et la différenciation cellulaire puis *in fine* l'intégration tissulaire. (23)

Les rugosités nanométriques (de moins de 100 nm) ont une influence positive sur le comportement cellulaire car elles simulent la nano architecture naturelle de la matrice extra cellulaire organisée en nano fibres et nano cristaux. (3)

Une nanorugosité de surface agit en synergie avec une hydrophilie modérée. En effet, sur deux surfaces de même nanorugosité, mais de mouillabilité différente, la colonisation et les fonctions cellulaires sont plus importantes sur la surface la plus mouillable. Et inversement, sur deux surfaces de même mouillabilité les performances cellulaires sont meilleures sur la surface nanostructurée. (3)

L'orientation, la forme et la taille des irrégularités nanométriques à la surface du matériau modulent l'adhésion, l'étalement, la forme et l'organisation du cytosquelette de divers types cellulaires. (3)

3-1. Adhésion cellulaire

L'adhésion cellulaire à des matériaux artificiels est généralement médiée par l'adsorption spontanée de molécules de la matrice extra cellulaire. Le spectre, la somme et la conformation géométrique de ces molécules dépend des propriétés physiques et chimiques de la surface du matériau.

Les surfaces nanostructurées favorisent préférentiellement l'adhésion des ostéoblastes plutôt que d'autres types cellulaires, comme les fibroblastes ou les chondrocytes. Ce type de surface permet, en effet, l'adsorption préférentielle de vitronectine majoritairement reconnue par les ostéoblastes. Cette molécule est relativement petite et linéaire, 15 nm de long, elle correspond donc à des nanostructures. (3), (31)

Cette adhésion sélective se traduit, sur une surface nanostructurée, par un ratio de trois ostéoblastes adhérents pour un fibroblaste. En revanche, sur un matériau conventionnel, ce ratio est de 1/1. Ce point est important pour la réponse tissulaire et sa spécificité à la surface des implants. (45)

Des nanoreliefs de formes topographiques de 10 à 20 nm, de haut ou de profondeur, améliorent significativement l'adhésion, l'étalement et la différenciation des CSM, par rapport à des diamètres de 70-100 nm. Donc en général, et pour n'importe quelle structure, les effets se détériorent lorsque les caractéristiques topographiques vont au delà de 100 nm (puits ou îlots). (68)

Un espacement de 58 nm entre les reliefs de surface est la longueur efficace permettant d'accélérer l'agrégation des intégrines et la formation d'adhésions focales.

Ce constat permet de voir que le titane anodisé améliore l'adhésion ostéoblastique jusqu'à trois fois par rapport à du titane non anodisé. Après sept jours de culture, nous constatons une augmentation de 40% du nombre de cellules présentes sur ce type de surface nanotubulaire, comparé au titane lisse. (32)

De plus, les surfaces greffées avec des peptides d'adhésion (comme RGD ou HPV) présentent une capacité plus grande d'adhésion cellulaire que celle observée sur des surfaces non greffées. La présence de peptides entrave le détachement des cellules et favorise, donc, l'adhérence au substrat.

A vingt quatre heures post-implantation, les implants revêtus de PCa présentent une adhésion cellulaire supérieure à celle observées sur des implants non traités. (59)

Une bonne adhésion à l'implant est obtenue lorsque le nombre de points focaux est élevé et que la morphologie cellulaire est étoilée. Les ostéoblastes, quant à eux, adhèrent spécifiquement au niveau des joints de grain des alliages, qui se trouvent en quantité plus abondante au niveau des surfaces nanostructurées que sur des surfaces standardisées. (25), (74)

Après adhérence de la cellule sur la surface, s'il existe un nombre important d'attachement avec les cellules adjacentes, il pourrait éventuellement résulter une confluence cellulaire complète et *in fine* une couverture totale de la surface par une nappe continue de cellules. (74)

Dans le cas des fibroblastes, on trouve le plus grand nombre d'adhésions focales sur des substrats de basses rugosités de surface. L'exigence majeure dans le design implantaire est de produire une surface favorisant, à la fois, un fort attachement osseux mais également avec les tissus mous environnants. (15), (23)

3-2. Étalement et morphologie cellulaire

Via leurs filopodes, les cellules interagissent avec le substrat. Il en résulte une modification de leur morphologie. Par ce phénomène, des modifications topographiques, de très faible ampleur, peuvent être détectées lors de l'étalement cellulaire pouvant ainsi moduler leur différenciation en ostéoblaste. Par exemple des CSM se différencient en ostéoblastes sur des supports rigides et en cellule neuronale sur des substrats souples. (32)

Les cellules ostéoblastiques s'étalent plus rapidement sur une surface nanostructurée par anodisation que sur une surface lisse. Les filopodes y sont plus abondants donc l'étalement de la cellule est de bonne qualité et rapide menant ainsi à une forme étoilée composée de nombreuses extensions cytoplasmiques. Leur taille est plusieurs fois plus grande que le diamètre d'une cellule, les filopodes semblent aider la cellule à s'ancrer dans les nanotubules et à s'étaler sur la surface ce qui favorise sa différenciation à long terme. (32), (55), (64)

Lorsque le titane est lisse ou que ses pores font plus de 300 nm de diamètre, les cellules ont tendance à être fusiformes comme des fibroblastes, alors que sur des diamètres plus faibles les CSM prennent plutôt une forme branchée. Cette dernière est majoritairement retrouvée sur des pores de 30 nm mais les deux morphologies sont présentes en quantité égales sur des pores de 150 nm. Ces différences de formes cellulaires apparaissent au bout d'un seul jour de culture. (22), (32)

Des nanopores de diamètre 30 nm semblent induire une morphologie cellulaire étoilée. La densité et la quantité de points focaux sont plus importantes sur les cellules de forme branchée. La contractibilité du cytosquelette est accentuée et suggère ainsi une différenciation préférentielle vers la lignée ostéogénique. Tandis que pour des diamètres de pores supérieurs, les adhésions focales apparaissent moins matures. (25), (26)

La dimension et la densité des caractéristiques de surface affectent le comportement cellulaire. L'espacement des nanostructures module la formation de points focaux, sachant qu'à 58 nm les points focaux sont fonctionnels. A une distance de 108 nm entre deux reliefs, les cellules présentent des difficultés à former des points d'adhésion focale, le niveau de zyxin (marqueur de la maturité de l'adhésion focale) est moins élevé. C'est pourquoi, lors de la fonctionnalisation des surfaces, il est préférable de respecter une distance minimum de 58 nm entre les peptides afin d'obtenir un étalement complet des cellules, incluant la stabilité et la maturation des plaques d'adhésion focales. Cependant, une trop forte densité de pores restreint l'étalement cellulaire. (3), (45)

Une surface composée de rangées ordonnées de nanopuits réduit l'étalement cellulaire et induit un phénotype cellulaire de forme allongée prédisant une augmentation de la mobilité. A l'inverse, des nanopuits distribués de manière désorganisée induisent l'étalement des ostéoblastes et une organisation plus mature du cytosquelette. Une distribution inhomogène pourrait aussi induire une différenciation ostéogénique des cellules ostéoprogénitrices humaines. (3), (45)

Des nanostructures plus petites que les points focaux (environ 300 nm) confinent l'attachement cellulaire au sommet de ces reliefs nanotopographiques. Alors que sur un motif micrométrique il n'existe pas de contrainte pour la liaison intégrine/ligand. (45)

Une cellule avec de très larges et nombreuses aires d'adhésion présente un niveau plus élevé de molécules d'adhésion cellulaire spécifiques (comme les intégrines) et de protéines structurales associées (comme la paxilline). On note la formation d'épais agrégats de fibres d'actine qui permettent l'action d'un vaste spectre de substances anti prolifératives, anti migrationnelles, anti différenciation cellulaire et de molécules naturelles comme le TGF β 1. De ce fait, ce type de cellule est souvent plus passif du point de vue de la migration et de la prolifération et plus actif dans l'expression des marqueurs de différenciation. (3)

Les régions où la densité cellulaire est forte, présentent un réseau de fibronectine extra cellulaire qui s'étend entre les cellules. Le titane nanotexturé, en général, induit un effet profond et rapide sur l'expression de protéines non collagéniques de la matrice osseuse par les cellules ostéogéniques. Il est à noter que tout changement de la morphologie d'une cellule face à une surface est corrélé à la réduction de la sécrétion de protéines par cette même cellule. (3)

Récemment des auteurs ont suggéré un mécanisme appelé "mécanotransduction auto induite" basé sur une hypothèse : la topographie de surface altère la morphologie nucléaire et la position des chromosomes dans les cellules adhérentes menant à un changement dans la transcription des gènes. Ce phénomène est corrélé à celui de la mécanotransduction directe reposant sur l'idée que les forces rencontrées par la cellule, lors de l'adhésion, sont directement transmises au noyau par le cytosquelette. Les tensions de ce dernier induiraient, alors, un changement local dans l'assemblage de l'adhésion focale. (35)

La régulation différentielle des intégrines par l'un ou l'autre de ces mécanismes pourrait médier l'assemblage de l'adhésion focale et la signalisation intra cellulaire et ainsi jouer un rôle important dans la régulation des effets cellulaires par la nanotopographie. La plupart des effets observés dans une cellule et causés par la topographie naissent de changements dans la capacité de celle-ci à s'étaler. (35)

Des nanotubes de diamètre 30 nm, obtenus par anodisation, favorisent l'adhésion cellulaire mais sans différenciation notable. Après deux heures de culture sur des nanotubes de diamètre 300 nm, la densité de points focaux est supérieure par rapport à des diamètres de 30 nm. Après quatre heures, la tendance s'inverse et l'on observe une densité d'adhésions focales plus importante sur des substrats comportant des pores de 30 nm de diamètre. A six jours, les chiffres sont identiques et beaucoup plus importants que pour une surface de titane plane. (35)

Après six heures de culture, les ostéoblastes adhérents sur une surface anodisée ont une morphologie ronde avec de nombreuses micro-villosités. Si l'anodisation est suivie d'un traitement hydrothermique, les cellules seront aplaties, de forme polygonale c'est-à-dire complètement étalées et avec de rares micro-villosités. Après vingt quatre heures, la plupart des ostéoblastes sont complètement étalés et de forme polygonale. Après quatre jours, les cellules présentes sur toute la surface confluent et présentent une prolifération multicouche. (62)

Pour des surfaces de titane modifiées par incorporation d'ions Mg, les cellules adhèrent en plus grande quantité dans les premières heures et premiers jours par rapport à du titane non traité. Le nombre d'adhésions précoces ainsi que l'étalement cellulaire sont améliorés, s'en suit une augmentation de la prolifération cellulaire. (50)

L'adhésion et l'étalement sur des surfaces polymériques sont liés à la polarité, aux composants de dispersion et à l'énergie libre de surface. L'étalement est plus faible quand le composé polaire est de moins de $5 \text{ erg}\cdot\text{cm}^{-2}$, alors que l'étalement se produit quand elle est de plus de $15 \text{ erg}\cdot\text{cm}^{-2}$. ($1 \text{ erg} = 1 \text{ g}\cdot\text{cm}^2\cdot\text{s}^{-2} = 10^{-7} \text{ J}$, l'erg est une unité de mesure de l'énergie). (55)

Pour résumer, les fonctions cellulaires sont améliorées sur des pores moins profonds (14 à 29 nm) que sur des puits profonds (45 nm). L'adhésion et l'étalement des ostéoblastes, l'aire cellulaire, la synthèse de protéines d'adhésion focale et la synthèse de la kinase d'adhésion focale sont meilleures. (3), (35), (45)

3-3. Prolifération et différenciation cellulaire

L'adhésion et l'étalement des cellules est la première phase d'interaction avec le matériau. L'extension et la force de l'adhésion, c'est-à-dire sa qualité, contrôle le comportement cellulaire comme la décision de passer d'un programme de prolifération à une différenciation ou de décider entre l'apoptose ou la survie. (3)

La différenciation cellulaire conditionne la nature du tissu dans la zone péri implantaire ; du tissu fibreux est préférable au niveau gingival et du tissu osseux autour du corps de l'implant.

La morphologie cellulaire peut, elle aussi, influencer la différenciation. Des cellules rondes, avec une faible contractilité du cytosquelette, favorisent l'adipogénèse. A l'inverse, des cellules étoilées, dans lesquelles le cytosquelette présente beaucoup plus de contraintes, se différencient préférentiellement vers des lignées ostéoblastiques. (22)

La morphologie cellulaire et l'expression génique diffèrent en fonction de l'élasticité du substrat. Les CSM se différencient en cellules fibroblastiques sur le titane poly miroir et en lignée ostéoblastique sur des surfaces en titane rugueuses. (25)

La dureté du matériau sur lequel une cellule adhère est un facteur décisif pour sa différenciation vers un certain phénotype. Sur un substrat très mou, imitant les propriétés mécaniques du tissu cérébral, les cellules se différencient en un phénotype neuronal. Sur un substrat plus dur, imitant le tissu musculaire, les cellules mésenchymateuses acquièrent un phénotype myogénique.

La nanotopographie ne contrôle pas uniquement l'adsorption protéique mais aussi la morphologie cellulaire. Des nanopores disposés aléatoirement stimulent la différenciation ostéoblastique des CSM ce qui entraîne une minéralisation *in vitro* en absence de facteurs ostéogéniques.

Sur un revêtement par auto assemblage multicouche, dont la couche la plus externe est composée de gélatine, la prolifération cellulaire est améliorée et notamment celle des ostéoblastes. Etant à la base de la formation tissulaire, il est alors possible d'admettre qu'un revêtement composé de gélatine est favorable à la croissance et à la différenciation cellulaire, tout en étant biocompatible et non toxique puisque les cellules restent viables.

Généralement, les irrégularités nanométriques de forme nano fibrées sont considérées comme plus avantageuses, par comparaison avec n'importe quelle autre nanostructure ou surface lisse, pour les performances cellulaires. Cela est dû à la forte ressemblance avec l'architecture de la matrice extra cellulaire naturelle (relative aux caractéristiques des fibres collagéniques). (3)

Prolifération, différenciation, maturation phénotypique et fonctionnement cellulaire sont généralement meilleurs sur des nanofibres alignées que lorsqu'elles sont orientées de manière désorganisée. Des nano fibres alignées guident les cellules à s'allonger le long de l'axe principal de la fibre. Cette forme stimule des voies biochimiques spécifiques pour la transduction de signaux comme l'activation de Rho1 (gène régulant la migration et la croissance cellulaire). (3)

Lorsque l'on ajoute des ions fluorures aux alliages de titane, les ostéoblastes en culture prolifèrent et se différencient, on note également une augmentation de l'activité de la phosphatase alcaline et de la synthèse de collagène. (7), (12)

De faibles concentrations en fluorures sont efficaces pour améliorer la différenciation ostéoblastique en culture, alors que de fortes concentrations la réduisent et entraînent des signes histologiques d'inactivité ostéoblastique. (7)

Un titane comportant des pores de 30 nm de diamètre possède un profil d'expression comparable à celui obtenu sur du titane en situation ostéogénique. Une différenciation ostéogénique précoce des CSM se produit et cette surface est favorable à l'expression de facteurs ostéogéniques et à la minéralisation de la matrice extra cellulaire osseuse. (68)

Il existe une relation inversement proportionnelle entre la prolifération, la différenciation cellulaire et l'échelle des reliefs topographiques de surface. (45)

Les comportements cellulaires spécifiques sur des surfaces nanomodélées sont aussi induits par la chimie de surface des nano domaines. Par exemple, des CSM en culture sur des substrats fonctionnels dont les groupements terminaux sont $-NH_2$, se différencient en ostéoblastes.

Après vingt huit jours de culture, les surfaces revêtues de PCa montrent un plus grand nombre de cellules en croissance en comparaison aux surfaces non traitées. (59)

3-4. Contact os/implant

Le dépôt de tissu osseux au contact d'un l'implant est important dans la mécanotransduction des forces de mise en charge. Elle peut être compromise si la croissance osseuse dans cette région est inégale (focale plutôt que continue). (38)

A titre d'exemple, la quantité de Ca et de P déposée est augmentée sur les surfaces nanotubulaires, anodisées. On observe environ 50% d'augmentation des composés calciques, à trois semaines, par rapport à du titane lisse. Ce type d'interface est donc favorable pour la différenciation des CSM et pour la production de la matrice extra cellulaire osseuse. (55)

Après vingt huit jours de culture, la déposition de Ca^{2+} par les ostéoblastes est :

- quatre fois plus élevée sur des nanophases que sur le matériau conventionnel,
- trois fois plus élevée que sur du titane conventionnel,
- deux fois plus que sur de l'HA. (75)

La minéralisation est clairement visible sur des diamètres de pores de 30 nm même sans facteur ostéogénique.

Une surface de titane anodisée par du H_2SO_4 ou du Na_2SO_4 , à des voltages de 150 à 180 V, voit sa surface complètement recouverte d'une couche dense d'apatite à sept jours par consommation des ions Ca^{2+} et PO_4^{3-} contenus dans le micro environnement. Pour un voltage de 100 V, les formations d'apatite sont plus éparées. (8)

Dans le cas où l'anodisation est suivie d'un traitement hydrothermique, les cristaux observés sur la surface traitée présentent une structure de type HA. Les concentrations en ions Ca et P y sont significativement plus élevées par rapport aux cristaux déposés sur des surfaces seulement anodisées. Cette observation peut être attribuée à la diffusion de ces ions à partir de la couche d'oxyde vers les cristaux d'HA lors du traitement hydrothermique.

Le nombre et les motifs des calcifications sont mal définis et très diffus sur du titane pur alors que l'on obtient des nodules distincts, gros et très concentrés en Ca^{2+} sur du titane greffé avec des polymères bioactifs. Le greffage polymérique stimule donc la minéralisation de la matrice osseuse. (17)

La distribution spatiale des minéraux de PCa sur le métal se compose de régions globulaires sur du Ti6Al4V nanophasé. Le dépôt se produit préférentiellement sur des zones ayant un fort pourcentage atomique d'Al. La synthèse et le dépôt de cristaux de PCa sont requis pour conférer dureté et force à la minéralisation de la matrice extra cellulaire osseuse.

Histologiquement, la capacité d'un matériau à induire la minéralisation est mesurée par le pourcentage de contact os/implant : la qualité de l'ostéointégration dépend de ce taux. La capacité de former des liaisons chimiques avec l'os permet une diminution plus rapide de la micro mobilité de l'implant. (23)

En effet, un contact direct entre l'os et l'implant est recherché dans le but d'obtenir un ancrage biomécanique plutôt qu'une encapsulation fibreuse. Un des défis de l'implantologie est de réaliser et de conserver l'ostéointégration aussi bien que la jonction épithéliale entre implant et gencive. (23)

En règle générale, les implants rugueux présentent un plus fort taux de contact osseux que les surfaces de titane lisses. La nanotopographie, en particulier, favorise l'ostéointégration dans les phases initiales de la cicatrisation suivant l'implantation. Le taux de contact os/implant est plus important pour des pores de TiO₂ de 30 nm de diamètre que lorsqu'ils atteignent un diamètre de 50 nm. (26)

Un revêtement de PCa ou de céramiques favorise un contact direct os/implant sans interposition d'une couche de tissu conjonctif par un processus de dissolution/précipitation. Ils sont bioactifs et le taux initial d'ostéointégration est accéléré. Cependant, leur succès clinique peut varier en fonction des phases de PCa présentes à l'intérieur.

Les surfaces Nanotite[®] présentent une meilleure résistance à la tension au niveau de l'interface. La technique sol-gel utilisée améliore le contact os/implant. Une surface OsseoSpeed[®] favorise la néoformation osseuse, il en résulte une augmentation de la force d'arrachement et du contact os/implant. Les implants modifiés par nanocristaux d'HA montrent un meilleur taux de contact os/implant comparés à ceux mordancés. Cependant, la formation osseuse précoce dépend de la taille et du diamètre des nanocristaux d'HA utilisés. (45), (68)

Une surface de titane submicroporeuse incorporant des ions Mg, présente une ostéonconductivité *in vitro* améliorée. Le contact os/implant et l'ancrage biomécanique sont supérieurs à du titane non incorporé. Par ailleurs, on ne peut exclure la possible contribution des topographies submicrométriques dans l'amélioration de la réponse ostéoblastique. L'aire de titane et d'ions Mg, exposée à l'environnement biologique, est augmentée et donc la réactivité du Mg pourrait être encore renforcée. (51)

Après quatre semaines d'implantation, ces implants sont confinés au sein de l'os cortical original entourés de plusieurs lacunes entre l'implant et l'os. À l'inverse, les implants modifiés par ajout d'ions Sr présentent un contact plus étroit et continu avec l'os cortical minéralisé néoformé. Les analyses histomorphométriques montrent un meilleur pourcentage de contact os/implant. (52)

L'os formé au contact d'implants modifiés par fluorures est continu tout le long de la surface ce qui indique un comportement ostéoconducteur de la surface implantaire. Cependant, l'ostéoconduction de l'HA est supérieure. (7), (52)

Un revêtement organique fournit des sites de liaison pour les récepteurs intégrine et améliore ainsi le contact os/implant et la formation d'os péri implantaire par rapport aux implants seulement usinés. La fonctionnalisation des surfaces pourrait alors améliorer l'apposition osseuse lors des stades précoces de régénération osseuse. (60)

Les revêtements de collagène de type I ou de séquences RGD améliorent l'effet prodigué par une surface uniquement rugueuse du point de vue de la formation osseuse péri implantaire. Le taux de contact os/implant est significativement plus élevé et maintenu, même après trois mois, ce qui n'est pas le cas d'une surface mordancée seule. (60)

Un revêtement composé de collagène de type I et de chondroïtine sulfate perfectionne l'assemblage du collagène et la différenciation des ostéoblastes *in vitro* et *in vivo*. Le fait d'y ajouter du BMP2 n'améliore pas d'avantage la formation osseuse péri implantaire. L'explication vient, peut être, du fait que le collagène et la chondroïtine restent les éléments dominants du revêtement et se substituent aux effets du BMP2. Ou bien l'accessibilité du domaine de liaison du BMP2, avec les cellules ostéoprogénitrices, peut se trouver affaiblie par la liaison collagène/chondroïtine S. une autre explication viendrait du fait qu'il y a une adsorption rapide des protéines sériques et des composés du sang par le collagène et la chondroïtine. (60)

Les BMPs, dans leur environnement naturel, sont combinés à un grand nombre de facteurs de croissance supplémentaires qui contribuent à la formation et au remodelage osseux. Si, à titre d'exemple, on ajoute du TGF β 2, on observe une augmentation significative du contact os/implant, à vingt huit jours. De même avec l'ajout de PRGF, le contact os/implant est significativement plus élevé après huit semaines. L'utilisation de BMP2 seul augmente la densité et le volume osseux ainsi que l'épaisseur des trabéculations. (18)

3-5. Expression génique

La différenciation ostéogénique est mesurée par l'expression des gènes codant pour l'ostéocalcine (OCN), l'ostéopontine (OPN), l'ostéonectine, le collagène de type I, Runx2 et les sialoprotéines osseuses (BSP). Le diamètre des pores d'une surface induit une régulation positive de ces gènes. Elle est plus rapide sur des pores de titane de 30 nm de diamètre que sur ceux de 20 nm et est comparable à celle retrouvée dans les conditions ostéogéniques.

Par ces mesures, on observe une amélioration de l'activité métabolique des cellules ostéoblastiques sur des surfaces nanostructurées par anodisation : augmentation des gènes ostéogéniques et du taux d'adhésion des cellules ostéoblastiques jusqu'à trois fois supérieure aux surfaces sans nanostructure. De même, l'expression des gènes ostéoblastiques clé est plus forte dans les cellules ostéoblastiques en croissance sur une surface de titane modifiée par des ions Sr.

La rugosité submicrométrique (de 100 nm à 1 µm) et l'hydrophilie de surface favorisent l'expression d'un phénotype ostéoblastique plus différencié ainsi que la création d'un micro environnement ostéogénique. Par exemple, on observe une augmentation de la synthèse de PGE₂, de TGFβ₁ (facteurs de l'activité ostéoblastique) ainsi que de l'ostéoprotégérine (OPG). L'OPG est un puissant inhibiteur de la résorption osseuse exprimé par les ostéoblastes et qui se trouve être une cytokine clé de l'environnement ostéogénique.

L'angiogénèse joue un rôle crucial dans l'ostéogénèse primaire. Il est aussi important de noter que la rugosité et l'hydrophilie de surface favorisent l'expression de facteurs angiogéniques et de protéines adhésives de cellules endothéliales. Des cellules endothéliales en coculture avec des cellules ostéoblastiques fonctionnent comme des médiateurs ostéoinducteurs plutôt que comme des acteurs de la maturation des cellules osseuse.

→ L'Activité de la Phosphatase Alcaline (ALP) :

Après trois semaines de culture, l'ALP est légèrement plus exprimée dans des cellules en croissance sur des pores de 30 nm de diamètre comparé à des nanotubes de 70 nm ou 100 nm de diamètre. L'ALP est un marqueur de la différenciation ostéoblastique, l'intégration tissulaire en est alors améliorée. En effet, la prolifération des ostéoblastes et la différenciation ostéogénique, mesurées par l'ALP, sont inversement proportionnelles à la hauteur des nano reliefs d'une surface. (45)

Jusqu'à vingt et un jours de culture, il n'y a pas de différence entre l'ALP sur une surface lisse ou nanostructurée. Après vingt et un jours, ce taux est significativement augmenté sur une surface nanostructurée, (par anodisation par exemple). L'ostéointégration de ce type d'implants se voit donc améliorée. Cependant le taux est plus important, à cinq jours de culture, sur des surfaces anodisées par H₃PO₄ et HF. Si l'on augmente cette durée à onze jours de culture, l'ALP augmente progressivement. (10), (32)

Les cellules en croissance sur des surfaces modifiées par des ions Mg présentent une ALP cinq fois supérieure à celle observée sur du titane non traité. Ce taux diminue à partir du septième jour à l'inverse du titane classique où il augmente jusqu'au quatorzième jour. (51)

L'activité de la phosphatase alcaline est significativement plus importante sur du titane greffé par des polymères bioactifs que sur du titane oxydé. L'étalement cellulaire, corrélé à l'adhésion, favorise la différenciation ostéoblastique des cellules en croissance sur ces surfaces. (17)

Par ailleurs, en cas de substitution l'HA par du Sr, dans un fin revêtement d'HA, l'ALP est augmentée dans les cellules de surface. Il en est de même pour la production d'OCN, par rapport à un revêtement d'HA sans Sr.

Le niveau d'activité de la phosphatase alcaline est plus élevé sur du titane en coculture avec des cellules endothéliales et des ostéoblastes que sur des cultures simples d'ostéoblastes ou de cellules endothéliales seules. Le taux d'OPG dans les ostéoblastes est significativement plus élevé par rapport aux cultures seules. L'expression d'OPG et l'ALP dans les cellules ostéoblastiques est donc stimulée par la présence de cellules endothéliales. (79)

L'OCN est une glycoprotéine de la matrice extra cellulaire liant le Ca²⁺. Elle est considérée comme étant un marqueur important de la différenciation des cellules ostéogéniques. Dans les cocultures, son taux est diminué par rapport aux cultures seules.

→ Runx2 :

Runx2 est un facteur de transcription clé contrôlant la différenciation ostéoblastique précoce. Son expression n'est augmentée que sur une surface nanostructurée. Cependant, son taux diminue, à sept jours, de manière concomitante avec l'augmentation de l'expression des gènes de phénotype ostéoblastique.

Sur une surface OsseoSpeed[®], on observe une expression plus importante des gènes ostéoblastiques dans les cellules adhérentes (Runx2, ALP). La différenciation ostéoblastique est donc plus rapide. De plus, il se produit une amplification de l'expression des marqueurs précoces (ALP) et tardifs (BSP, OCN) de la différenciation ostéoblastique. (45), (51)

Une surface revêtue de PCa est capable d'augmenter le niveau d'expression de Runx2 et de l'OPN par rapport à une surface non traitée. Ils sont tous les deux des marqueurs de la différenciation ostéogénique. Ces différences d'expression sont significatives au septième jour pour Runx2 et au quatorzième jour pour l'OPN. Au vingt huitième jour, les deux gènes présentent des différences significatives dans leur expression par rapport à une surface non traitée. (59)

→ L' Ostéopontine :

L'OPN est une protéine multifonctionnelle de la matrice extra cellulaire osseuse. Elle est exprimée par les cellules ostéoblastiques et ostéoclastiques et est associée au contrôle de la minéralisation de la matrice extra cellulaire ainsi qu'à la croissance des cristaux. L'OPN est également associée à l'adhésion et à la prolifération des cellules ostéoblastiques. Ainsi qu'à la fonction des ostéoclastes. C'est un marqueur ostéogénique tardif, c'est pourquoi son taux d'expression maximal intervient à la suite du pic de Runx2. (4), (59)

La nanostructuration par gravures chimique utilisant un mélange de H₂SO₄ et de H₂O₂ stimule l'accumulation précoce d'OPN extra cellulaire par les cellules ostéogéniques ce qui précède une amélioration de la minéralisation de la matrice. Dans ce contexte, de tels agrégats d'OPN endogènes pourraient agir avantageusement comme un revêtement naturel de surface. (4)

→ Les Protéines d'Adhésion Focale :

L'adhésion et l'étalement des ostéoblastes, la synthèse de protéines d'adhésion focale, comme la paxilline, ainsi que la synthèse de la kinase d'adhésion focale (FAK) sont meilleurs sur des surfaces poreuses. Ces affirmations portent sur des surfaces composées de puits d'environ 14 à 29 nm de profondeur, comparées à des puits profonds de 45 nm ou bien des surfaces lisses. A titre d'exemple, les nanotubes de TiO₂ obtenus par anodisation font un diamètre 30 nm, ils stimulent également l'expression de collagène de type I par les ostéoblastes. (35)

Il convient de garder à l'esprit que l'aire cellulaire diminue lorsque la rugosité augmente de 30 à 50 nm. Il peut être possible d'en déduire que l'adsorption différentielle des protéines modifie la densité de fibronectine retenue et donc de points focaux présents sur les ostéoblastes. (35)

La déposition précoce de protéines multifonctionnelles de la matrice sur les surfaces nano structurées peut influencer l'adhésion des cellules ostéoblastiques et leur migration. Mais également influencer la cinétique des progéniteurs ou des cellules différenciées et donc, à terme, influencer le taux de formation osseuse. En résumé, les surfaces nanotexturées stimulent l'activité ostéoblastique et influencent une séquence de différenciation ostéoblastique. (35)

→ Les Intégrines :

Les cellules adhérant sur une surface implantaire expriment différentes intégrines qui vont avoir un impact sur la tension exercée au cytosquelette et donc sur la morphologie, la mécanotransduction et la différenciation cellulaire. Leur expression, ainsi que celle des protéines de la matrice extra cellulaire, est légèrement mais significativement modulée par la taille des nanopores dans le titane. (22)

Des nanopuits de surface affectent l'expression des intégrines ostéoblastiques uniquement pour certaines sous unités spécifiques. En effet, la nanotopographie peut modifier l'expression sélective des intégrines après vingt quatre heures, de culture sous des chimies de surface très similaire, par un mécanisme qui n'est pas encore très clair. (22), (49)

Les cellules adhérentes au TiO₂ montrent une augmentation de la sécrétion d'intégrine β 1 dans les vingt quatre heures suivant l'implantation. Les cellules ostéogéniques et les monocytes expriment eux aussi cette intégrine tout comme les progéniteurs ostéoclastiques. (35)

→ Les Sialoprotéines Osseuses :

Les BSP, tout comme l'OPN, contiennent une séquence RGD qui est un site de reconnaissance commun pour les intégrines exprimées par les ostéoblastes. On note une surexpression intra et extra cellulaire d'OPN et de BSP sur les surfaces nano texturées. Ces cellules pourraient représenter des pré ostéoblastes, des ostéoblastes différenciés ou des fibroblastes. La présence de traces d'OPN, à coté des cellules, suggère qu'il est associé à leur migration. (64)

Dans le cas d'implants modifiés par ajout d'ions fluorures, lorsque la quantité adjointe au titane est supérieure à 5%, le taux de BSP augmente. Mais il diminue entre 1 et 5%. L'expression de BSP est requise pour la différenciation ostéoblastique et la minéralisation en culture, elle est de plus temporairement associée à l'initiation de la minéralisation ostéoïde *in vitro*. (7)

L'augmentation du BSP et du BMP2, sur des surfaces de titane modifiées par ajout d'ions fluorures, suggère une amélioration de l'ostéogénèse et prédit un meilleur contact os/implant. (7)

On constate la présence de macrophages et de cellules multinuclées de la lignée monocytaire lors des phases précoces suivant l'implantation. Ces cellules sont connues pour sécréter une large variété de cytokines pro et anti inflammatoires, des facteurs de croissance et de différenciation ainsi que des médiateurs chimiotactiques. La cytokine pro inflammatoire principale est la $TNF\alpha$ et sa sécrétion augmente après trois heures d'implantation. L'IGF1 est un facteur important pour la différenciation ostéogénique. Il peut être sécrété par des cellules monocytaires et des lignées ostéogéniques. (47), (49)

La régulation positive des gènes responsables de la formation osseuse (ALP, OPN) est couplée avec celle des gènes exprimés par les ostéoclastes. Ceci indique que les phases de remodelage osseuse sont déclenchées beaucoup plus tôt que ce qui était admis auparavant. (49)

A quatre semaines de cicatrisation, les implants modifiés par fluorure montrent une tendance à la diminution de l'expression de $TNF\alpha$ et d'Il6 (cytokines pro inflammatoires) par rapport aux échantillons contrôles, cependant à huit semaines les taux sont identiques. L'expression d'IGF I est aussi augmentée et stimule ainsi la prolifération ostéoblastique, la synthèse de collagène osseux et la synthèse de la matrice osseuse, et cela après huit semaines. (47), (49)

Pendant une courte période, l'expression des gènes de l'inflammation et de la résorption sont en diminution. Les surfaces de titane modifiées par fluorures présentent donc une réduction de la nécrose. (47), (49)

Les nanostructures d'un matériau minimisent le risque potentiel d'immunogénicité et de réponse inflammatoire envers le biomatériau. La sécrétion de cytokines pro inflammatoires en est alors diminuée. (3)

3-6. Influence sur les tissus mous (9), (54), (56).

La hauteur globale de tissus mous, scellant la partie transmuqueuse, est approximativement la même pour toutes les surfaces. La largeur de l'épithélium de jonction est plus importante sur du titane lisse (2.9 mm) que sur une surface rugueuse (1.4 à 1.6 mm) et inversement proportionnelle à la largeur du tissu conjonctif. L'interface de tissus mous est légèrement plus longue sur un implant que sur une dent.

Afin d'éviter la pénétration bactérienne à travers la percée de la muqueuse orale, par le pilier ou col implantaire, une barrière efficace sur le long terme doit être formée précocement. Ceci dans le but de protéger biologiquement les structures péri implantaire. Le tissu mou supra crestal péri implantaire est donc un facteur important de succès à long terme de l'implant. Sa rupture peut mener à l'échec implantaire.

Il convient de noter que les fibres de tissu conjonctif qui viennent au contact de l'implant sont parallèles à cet élément, contrairement à l'ancrage naturel d'une dent où ces fibres sont perpendiculaires à la surface dentaire.

Les cellules du long épithélium de jonction adhèrent à une dent naturelle par des hémidesmosomes. Il faut cependant garder à l'esprit qu'en culture la plupart des cellules adhèrent au substrat par des contacts d'adhésion focale. C'est une zone étroite de jonction entre la membrane basale de la cellule et le substrat, mais au niveau moléculaire, la similitude n'est pas complète avec les hémidesmosomes.

Les cellules épithéliales adhèrent et s'étalent plus avidement sur des surfaces métalliques que sur de la céramique. Les contacts focaux sont mieux organisés et l'on note la présence d'hémidesmosomes. Le nombre de points d'adhésion focale est le même pour les CSM que pour les fibroblastes sur le titane. Le nitrure de titane est adapté à l'adhésion et à la croissance fibroblastique. Toutefois l'oxyde de titane reste le meilleur substrat, parmi tous, pour l'adhésion cellulaire.

Un substrat lisse présente une couverture de fibroblastes beaucoup plus dense qu'un matériau structuré. Des fibroblastes en culture, sur des puits de 35 nm de diamètre, ont une forme ronde et polarisée et sur des puits de 120 et 175 nm de diamètre ils présentent une morphologie stellaire. Sur une surface irrégulière, les fibroblastes gingivaux s'orientent eux même le long des irrégularités, à l'inverse sur une surface lisse ils forment une monocouche de cellules plates. Cependant, il n'y a pas de différence d'épaisseur de la couche de tissu mou, que la surface soit rugueuse ou lisse.

Les fibroblastes croissent et prolifèrent préférentiellement sur du titane lisse. En se basant sur les données précédentes, il est largement admis que la partie coronaire de l'implant et le pilier implantaire doivent être aussi lisses que possible.

3-7. Colonisation bactérienne

La colonisation microbienne sur les surfaces implantaires est toujours précédée par l'absorption d'une pellicule acquise dont les composants proviennent de la salive et des fluides gingivaux. Celle-ci dépend de plusieurs facteurs dont l'énergie libre de surface, la composition chimique, la charge, la rugosité et la présence de protéines sur la surface de l'implant. (79)

Un substrat ayant une forte énergie libre de surface est favorable à l'adhésion bactérienne. Nous pouvons aussi observer que les protéines sont généralement plus adsorbées par une surface hydrophobe qu'hydrophile. Les bactéries buccales ont une affinité différente pour le titane et pour le Ti6Al4V. Pour une même rugosité de surface, l'alliage et le métal pur absorbent les protéines salivaires en quantité différente. (79)

Les bactéries cocci gram+ sont très souvent retrouvées dans la cavité buccale de patients édentés, ceux-la même qui ont le plus besoin d'implants. Les streptocoques sont les micros organismes prédominants qui colonisent les surfaces implantaires. Prenons l'exemple du *S. Sanguis* et du *S. Constellatus*, ces bactéries ont des propriétés de surface différentes. Le premier est hydrophobe alors que le second est hydrophile. *S. Constellatus* ne peut donc pas refouler le film aqueux qui le sépare de la surface implantaire, une liaison chimique forte avec les surfaces est difficilement envisageable. Sur le titane et ses alliages, le *S. Sanguis* adhère en plus grand nombre que le *S. Constellatus*. Les surfaces de titane hydrophobes sont préférentiellement colonisées par *S. Sanguis*. (14), (44), (79)

Sur du titane sans film salivaire, les colonies de *S.mutans* prolifèrent plus en comparaison à celles de *S.sanguis*. En présence d'un film salivaire, la colonisation des *S.sanguis* se trouve favorisée par rapport à celle des *S.mutans*. En effet, beaucoup de molécules salivaires peuvent servir de récepteurs hydrophobes pour cette bactérie. En général, la présence du biofilm salivaire diminue le nombre de bactéries adhérentes. Dans ce cas, l'énergie libre de surface est altérée par un revêtement salivaire. La rétention bactérienne est identique sur du Ticp et du Ti6Al4V recouverts de salive. Ces deux matériaux sont donc convenables pour réaliser un pilier transgingival ou une vis de cicatrisation. (14), (79)

Un nombre significativement plus bas de colonies de *S.sanguis* est observé sur des couches de TiO₂ obtenues par oxydation thermique. Cette diminution n'est pas un effet de la rugosité ou de l'énergie libre de surface. C'est le revêtement lui-même qui semble avoir une influence sur l'adhérence bactérienne. A pH7, les bactéries et le TiO₂ sont chargés négativement, cependant, des ions Ca²⁺ sont aisément adsorbés par la présence du film salivaire, l'adhésion des bactéries hydrophobes peut alors être facilitée. (44), (79)

Les tests antimicrobiens avec du *P. gingivalis* indiquent une zone d'inhibition bactérienne autour d'un revêtement composé d'HA + 4-HR mais pas autour d'un revêtement uniquement composé d'HA. Il est possible d'en déduire que le 4-HR serait en mesure d'inhiber une infection bactérienne dans les sites péri implantaires. (19)

Toutefois, un revêtement d'HA présente des propriétés anti microbiennes envers le *S. aureus* et le *P. intermedia*. Sans doute en cause, le relargage d'ions Ca^{2+} libres, dans le microenvironnement péri implantaire, qui se trouvent être toxiques pour certaines espèces microbiennes. (19)

Dans la portion transmuqueuse, la surface implantaire devrait idéalement diminuer le nombre de bactéries adhérant en premier lieu (*Aa*, streptocoques) minimisant ainsi la formation de plaque et, par la suite, l'inflammation des tissus mous. Le nombre de bactéries viables, formant le biofilm, dépend des propriétés de surface du matériau. Afin de résister à la colonisation, une surface implantaire devrait être idéalement et majoritairement lisse. Ainsi, un joint épithélial se forme et prévient l'accumulation de plaque. (14)

En terme de nombre total de bactéries, les matériaux céramiques en accumulent moins que le titane. Le zirconium peut donc être un matériau convenable pour la fabrication de piliers implantaires.

Le revêtement par du nitride de titane (TiN) est utilisé dans le but d'améliorer la résistance à la corrosion et aux forces de cisaillement. De plus, il semble approprié pour réduire fortement la formation de plaque. L'oxydation thermique, moins onéreuse, présente elle aussi cet effet sur la colonisation bactérienne mais de manière moins efficace que le TiN. En outre, la couche d'oxyde est très réactive et le fait de la masquer, par un revêtement, contribue également à la diminution de l'accumulation de plaque. (14)

Des piliers implantaires lisses sont susceptibles d'être rendus rugueux lors des mesures d'hygiène orale. L'utilisation de revêtements durs (ZrN, TiN), sur ces derniers, pourrait prévenir la rugosité des surfaces engendrée par les procédures d'hygiène orale professionnelles. Une telle rugosité dans la partie transmuqueuse favorise la formation de plaque. À l'inverse dans le but de favoriser la repousse osseuse, une surface poreuse ou texturée est requise à l'interface avec le tissu osseux. De même, l'adhésion et la prolifération bactérienne sont diminuées sur les matériaux nanophasés. (14), (15)

Les revêtements constitués de polymères nanocomposites organiques et inorganiques, déposés sur du titane poli, créent une surface facile à nettoyer. Il en résulte une diminution importante de la formation de biofilm intra oral par rapport à du titane non revêtu. (15)

La dynamique des macrophages est altérée sur du titane subnanométrique (lisse) et nanorugueux. Lors des douze premières heures, les distances de migration sont plus courtes et leur vitesse de déplacement est plus basse sur des titanes nanorugueux par rapport à du titane lisse. L'expression macrophagique de cytokines pro inflammatoires ($TNF\alpha$, $IL1\beta$) est plus faible sur des nanorugosités que sur du titane lisse. Ceci est causé par l'inactivation ou la restriction des mouvements du cytosquelette. Les nano rugosités régulent donc négativement la réponse inflammatoire en diminuant la synthèse de protéines inflammatoires. (28)

Les macrophages adhérents sont plus abondants sur des nanorugosités que sur des surfaces lisses, néanmoins la structure de leur cytosquelette est modifiée. La migration initiale des macrophages ainsi que leur activation sont réduites sur du titane nanostructuré par rapport à du titane lisse. (28)

Traditionnellement les cols implantaires sont polis. En effet, une rugosité modérée ne fournit que peu de possibilités de transfert des contraintes vers la crête et entraîne un nombre plus important de péri implantite. Une surface lisse favorise l'adhésion et la prolifération des fibroblastes et un contact intime avec le tissu gingival prévenant ainsi la contamination bactérienne péri implantaire. Il existe un seuil de rugosité en dessous duquel nous sommes en droit de ne pas attendre d'adhésion ou de colonisation bactérienne. Cependant, une certaine rugosité de surface reste nécessaire afin d'augmenter la résistance au sondage clinique. (11), (25), (54)

De plus, il semble préférable que le col soit haut car l'attache de tissus mous à la couche poreuse peut présenter un risque de contamination par la plaque bactérienne à long terme. (11)

3-8. Manifestations cliniques

Les observations d'ordre biologiques précédentes entraînent, cliniquement, des modifications dans le comportement des implants nanostructurés par rapport à d'autres types implantaires. Le taux de contact os/implant et les forces d'arrachement sont des indices cliniques appropriés permettant d'évaluer l'ostéointégration.

Les nanostructures en général, accélèrent l'apposition osseuse, la force de liaison entre l'os et l'implant, *in vivo*, et par conséquent l'ancrage mécanique, corrélant les résultats *in vitro*. Après une semaine de culture, nous pouvons observer de l'os minéralisé présentant de fines trabécules osseuses est observé autour des implants nanostructurés. Après trois semaines leur nombre est moins important mais les trabécules sont plus épaisses suggérant un remodelage osseux au contact de l'implant.

La détermination de la force de liaison os/implant implique un tissu osseux de qualité à l'interface. La force nécessaire à l'arrachement des implants, d'un tibia de rat, est significativement plus élevée lorsque les pores de surface font 30 nm de diamètre (6.8 N), plutôt qu'avec des pores de 20 nm (3 N). Une hausse significative de cette force d'arrachement indique une augmentation de la force de liaison à l'interface os/implant. (26)

L'ostéointégration est directement liée à l'épaisseur de la couche de TiO₂. Lorsque celle-ci est épaisse, comme sur les implants anodisés, la repousse osseuse est plus forte au contact de la surface implantaire. De plus, on observe une stimulation de l'inter verrouillage biochimique entre la matrice osseuse et l'oxyde.

L'environnement mécanique local est reconnu pour être un facteur critique à la réparation et à la régénération osseuse autour de l'implant. Des micros mouvements excessifs peuvent être compromettant et mener à la formation d'un tissu fibreux interstitiel. Par opposition, une stabilité primaire semble avoir des effets positifs sur la réparation et la régénération osseuse. (68)

Les implants fluorés augmentent le volume et l'épaisseur de l'os cortical de 4 à 15% par rapport aux implants sablés au TiO₂. L'os en croissance au contact de ces implants présente, à l'interface, une réduction du taux de protéines complètes et une hausse de la densité en minéraux. La matrice osseuse interfaciale est donc plus mature et minéralisée, les propriétés biomécaniques s'en voient améliorées, ceci autorise la mise en charge et la distribution des forces appliquées au tissu osseux avoisinant. (7), (47)

De plus, l'ajout de particules nanométriques de PCa sur une surface mordancée permet l'extension du développement osseux après quatre à huit semaines de cicatrisation et permet ainsi une mise en charge plus rapide. (45)

Conclusion

La dentisterie est souvent perçue comme une science technique et matérielle, mais nous avons vu dans ce travail qu'elle découle plus d'une dimension biologique. La surface d'un implant a besoin d'être modifiée pour optimiser ses propriétés et maximiser sa bioactivité lors de l'interface avec les tissus vivants.

En conclusion, nous pouvons rapporter qu'un traitement de surface optimum crée une couche de passivation stable sur la surface implantaire, présente les propriétés essentielles de rugosité, de mouillabilité et de charge électrostatique.

Des nano reliefs de 10 à 20 nm de haut ou de profondeur améliorent significativement l'adhésion, l'étalement et la différenciation des CSM en cellules ostéogéniques. L'espacement idéal serait de 58 nm entre chaque relief.

Des pores de 30 nm de diamètre semblent être les plus bénéfiques pour l'ostéointégration de l'implant. Ils miment l'environnement cellulaire (la rugosité de surface d'un os est de 32 nm) et favorisent un processus rapide de cicatrisation osseuse. Les cellules en croissance sur ce type de surface sont de forme étoilée ce qui représente l'étalement maximal et de bonne qualité avec le plus de points focaux. Cette morphologie cellulaire traduit une différenciation préférentielle vers une lignée ostéoblastique.

Dans ces conditions, la force d'arrachement de l'implant est augmentée, on observe une régulation positive de l'expression des gènes ostéogéniques et donc une hausse de l'activité métabolique des cellules ostéoblastiques. Une minéralisation est même clairement visible, même sans facteur ostéogénique, sur des surfaces présentant des pores de 30 nm de diamètre. Des nanopuits désorganisés, sur la surface, entraînent une différenciation ostéogénique des CSM, un étalement des ostéoblastes et une organisation plus mature du cytosquelette.

L'anodisation est la technique qui semble la mieux adaptée pour créer ce type de surface. Du titane bioactif peut être obtenu par oxydation anodique dans des solutions de H_2SO_4 et de Na_2SO_4 pendant au moins soixante minutes. La porosité est ouverte, la charge de surface est négative en SBF ce qui favorise la formation d'apatite, l'adhésion cellulaire. De plus, une couche de titane épaisse entraîne une repousse osseuse plus forte au contact de la surface implantaire et la formation cristalline anatase obtenue est bioactive

La méthode de revêtement biomimétique est aussi très intéressante notamment à travers l'utilisation de la température ambiante. Il est plus que bénéfique d'y ajouter une complexité nanométrique supplémentaire par dépôts de discrets dépôts.

Tableau récapitulatif

Traitements de surface	Surfaces disponibles dans le commerce	Conséquences sur l'ostéointégration	
		Au niveau cellulaire	Au niveau tissulaire
ANODISATION	TiUnite [®] (Nobel Biocare, Suède)	<ul style="list-style-type: none"> ↑ nombre de points focaux, ↑ nombre d'extensions cytoplasmiques cellulaires, ↑ vitesse d'étalement cellulaire, ↑ adhésion cellulaire, adhésion ostéoblastique x3, ↑ croissance ostéoblastique, ↓ croissance fibroblastique, ↑ activité métabolique des cellules ostéoblastiques, <p>prolifération cellulaire multicouche.</p>	<ul style="list-style-type: none"> ↑ production matrice extra cellulaire osseuse, ↑ quantité de P et de Ca déposée, ↑ formation d'apatite, ↑ repousse osseuse, ↑ force d'arrachement, ↑ force de liaison os/implant.
REVETEMENTS PHOSPHOCALCIQUES	Nanotite [®] (Biomet 3i, USA) 3iT3 [®] (Biomet 3i, USA) BCP [®] (Anthogyr, France)	<ul style="list-style-type: none"> ↑ adhésion et prolifération cellulaire, ↑ différenciation ostéoblastique des CSM, <p>prolifération cellulaire multicouche.</p>	Ostéoconductivité, bioactivité <ul style="list-style-type: none"> ↓ encapsulation fibreuse, ↓ relargage d'ions métalliques, ↑ nucléation HA, ↑ formation osseuse, ↓ temps de cicatrisation, ↑ contact os/implant, ↑ ostéointégration par remodelage osseux ostéoclastique, ↑ vitesse initiale d'ostéointégration.

PHOTOLITHOGRAPHIE	Experimental		
GRAVURES CHIMIQUES	OsseoSpeed® (Astra Tech, Suède) Friadent® plus (Dentsply, France)	↑ prolifération ostéoblastique, ↓ croissance fibroblastique, ↑ différenciation ostéoblastique des CSM, ↑ vitesse différenciation ostéoblastique.	↑ néoformation osseuse, ↑ contact os/implant.
DEPOSITION DE VAPEURS PHYSIQUES	Experimental	↑ fonctions précoces des ostéoblastes, ↑ adhésion et prolifération ostéoblastes.	
RADIOFREQUENCE	Experimental		
IMPLANTATION IONIQUE → <u>Mg</u> → <u>Mn</u> → <u>Sr</u>	Experimental	↑ adhésion cellulaire médiée par les intégrines, ↑ prolifération et étalement cellulaire.	↑ ostéoconductivité, ↑ contact os/implant, ↑ vitesse d'ostéointégration, ↑ force d'intégration des implants.
	Experimental	↓ adhésion, étalement, prolifération cellulaire, ↓ fonctions ostéoblastiques.	↓ vitesse de différenciation ostéoblastique.
	Experimental	↑ prolifération et différenciation ostéoblastique, ↓ activité et différenciation ostéoclastique.	↑ force d'arrachement, ↑ contact os/implant (plus étroit et continu) ↑ déposition matrice osseuse, ↑ cicatrisation osseuse, ↑ néoformation osseuse.

→ <u>F</u>	Experimental	<ul style="list-style-type: none"> ↑ prolifération et différenciation ostéoblastique, ↑ migration ostéoblastique, ↓ expression précoce des cytokines pro inflammatoires. 	<ul style="list-style-type: none"> ↑ propriétés thrombogéniques, ↓ inflammation péri implantaire, ↓ nécrose tissulaire, ↑ ostéogénèse, ↑ biocompatibilité ↑ ostéoconductivité, ↑ contact os/implant, ↑ densité minérale de l'os, ↑ volume et épaisseur de l'os cortical.
FONCTIONNALISATION		Ostéoinduction	
→ <u>Peptides</u>	Experimental	<ul style="list-style-type: none"> ↑ force d'adhésion cellulaire, ↓ détachement spontané des cellules. 	
→ <u>Collagène</u>	Experimental		<ul style="list-style-type: none"> ↑ contact os/implant, ↑ réparation osseuse, ↑ intégration implantaire.
→ <u>Collagène + PCa</u>	Experimental		= contact os/implant.
→ <u>Collagène + Chondroïtine S</u>	Experimental	↑ différenciation ostéoblastique.	
→ <u>Vitronectine, Fibronectine</u>	Experimental	↑ adhésion cellulaire.	
→ <u>BMP</u>	Experimental	<ul style="list-style-type: none"> ↑ recrutement, prolifération, différenciation des CSM et ostéoclastes. 	<ul style="list-style-type: none"> ↑ densité et volume osseux, ↑ épaisseur des trabéculations, ↑ ostéoinduction, ↑ néoformation osseuse, ↑ cicatrisation osseuse, ↓ contact os/implant.

→ <u>Polymères</u>	Experimental	↑ adhésion et prolifération cellulaire.	
→ <u>Molécules organiques</u>	Experimental		↑ contact os/implant.
→ <u>Polyélectrolytes</u>	Experimental	↑ adhésion, croissance et différenciation cellulaire, ↑ prolifération ostéoblastique, ↓ croissance fibroblastique.	↑ minéralisation de la matrice extra cellulaire osseuse.

Lexique des abréviations

AC : apatite carbonatée

ALP : activité de la phosphatase alcaline

BMP : protéine morphogénique osseuse

BSP : sialoprotéine osseuse

CA : acétate de calcium

CH₃COOH : acide acétique

CSM : cellule souche mésenchymateuse

FAK : kinase d'adhésion focale

GAG : glycoaminoglycanes

GH : hormone de croissance

HA : hydroxyapatite

HF : acide fluorhydrique

H₂O₂ : peroxyde d'hydrogène

H₃PO₄ : acide phosphorique

H₂SO₄ : acide sulfurique

IGF : facteur de croissance insuline like

NaCl : chlorure de sodium

Na₂SO₄ : sulfate de sodium

OCN : ostéocalcine

OCP : phosphate octocalcique

OPG : ostéoprotégérine

OPN : ostéopontine

PCa : phosphate de calcium

PDGF : facteur de croissance dérivé des plaquettes

PE : poly éthylène

PRGF : facteur de croissance relargué par les plaquettes

SAM : auto assemblage monocouche

SBF : solution simulée biologique

Séquence RGD : séquence peptidique Arginine – Glycine – Acide aspartique

TCP : phosphate tricalcique

TiCl : chlorure de titane

Ti cp : titane commercialement pur

TiN : nitride de titane

TiO₂ : oxyde de titane

TTCP : phosphate de calcium tétra cyclique

ZrN : nitride de zircon

Références bibliographiques

1. ADVINCULA M, FAN X, LEMONS J et ADVINCULA R.

Surface modification of surface sol-gel derives titanium oxide films by self-assembled monolayers (SAMs) and non-specific protein adsorption studies.
Colloids Surface B : Biointerfaces 2005;**42**(1):29-43.

2. ALTMANN M, COGNET JM, ESCHBACH L et coll.

Matériaux utilisés pour l'ostéosynthèse.
Encycl Méd Chir (Paris), Orthopédie, 44-015-A, 2008,**9**.

3. BACAKOVA L, FILOVA E, PARIZEK M et coll.

Modulation of cell adhesion, proliferation and differentiation on materials designed for body implants.
Biotechnol Adv 2011;**29**(6):739-767.

4. BAGNO A, PIOVAN A, DETTIN M et coll.

Human osteoblast-like cell adhesion on titanium substrates covalently functionalized with synthetic peptides.
Bone 2007;**40**(3):693-699.

5. BUENO RDE B, ADACHI P, CASTRO-RAUCCI LMS et coll.

Oxidative nanopatterning of titanium surfaces promotes production and extracellular accumulation of osteopontin.
Braz Dent J 2011;**22**(3):179-184.

6. CAI K, RECHTENBACH A, HAO J et coll.

Polysaccharide-protein surface modification of titanium via a layer-by-layer technique : Characterization and cell behaviour aspect.
Biomaterials 2005;**26**(30):5960-5971.

7. COOPER LF, ZHOU Y, TAKEBE J et coll.

Fluoride modification effects on osteoblast behavior and bone formation at TiO₂ grit-blasted c.p. titanium endosseous implants.
Biomaterials 2006;**27**(6):926-936.

8. CUI X, KIM HM, KAWASHITA M et coll.

Preparation of bioactive titania films on titanium metal via anodic oxidation.
Dent Mater 2009;**25**(1):80-86.

9. DALBY MJ, GADEGAARD N, RIEHLE MO et coll.

Investigating filopodia sensing using arrays of defined nano-pits down to 35nm diameter in size.

Int J Biochem Cell Biol 2004;**36**(10):2005-2015.

10. DAS K, BOSE S et BANDYOPADHYAY A.

Surface modifications and cell-materials interactions with anodized Ti.

Acta Biomater 2007;**3**(4):573-585.

11. DEPORTER D.

Types d'implants et résultats.

Parodont Dent Rest 2009;**29**(2):625-633.

12. EHRENFEST DM, COELHO PG, KANG BS et coll.

Classification of osseointegrated Implant surfaces: materials, chemistry and topography.

Trends Biotechnol 2010;**28**(4):198-206.

13. GAN L, WANG J et PILLIAR RM.

Evaluating interface strength of calcium phosphate sol-gel-derived thin film to Ti6Al4V substrate.

Biomaterials 2005;**26**(2):189-196.

14. GROSNER-SHREIBER B, GRIEPENTROG M, HAUSTEIN I et coll.

Plaque formation on surface modified dental implants. An *in vitro* study.

Clin Oral Implant Res 2001;**12**(6):543-551.

15. GROSNER SHREIBER B, HERZOG M, HEDDERICH J et coll.

Focal adhesion contact formation by fibroblasts cultured on surface-modified dental implants: an *in vitro* study.

Clin Oral Implant Res 2006;**17**(6):736-745.

16. HARNETT EM, ALDERMAN J et WOOD T.

The surface energy of various biomaterials coated with adhesion molecules used in cell culture.

Colloids Surfaces B: Biointerfaces 2007;**55**(1):90-97.

17. HELARY G, NOIRCLERE F, MAYINGI J et MIGONNEY V.

A new approach to graft bioactive polymer on titanium implants: Improvement of MG63 cell differentiation onto this coating.

Acta Biomater 2009;**5**(1):124-133.

18. JUNKER R, DIMAKIS A, THONEICK M et JANSEN JA.

Effects of implant surface coatings and composition on bone integration : a systematic review.

Clin Oral Implant Res 2009;**20**(Suppl.4):185-206.

19. KIM SG, HAHN BD, PARK DS et coll.

Aerosol deposition of hydroxyapatite and 4-hexylresorcinol coatings on titanium alloys for dental implants.

J Oral Maxillofac Surg 2011;**69**(11):e354-e363.

20. KIM KH et RAMASWAMY NA.

Electrochemical surface modification of titanium in dentistry.

Dent Mater J 2009;**28**(1):20-36.

21. LAVENUS S.

Etudes des interactions entre cellules souches et surfaces implantaires nanostructurées.

Thèse : doctorat science biologie – santé, Nantes, 2010.

22. LAVENUS S, BERREUR M, TRICHET V et coll.

Adhesion and osteogenic differentiation of human mesenchymal stem cells on titanium nanopores.

Eur Cell Mater 2011;**26**(22):84-96.

23. LAVENUS S, LOUARN G et LAYROLLE P.

Nanotechnology and dental implants.

Int J Biomater 2010;[Epub 2010 dec 28].

24. LAVENUS S, PILET P, GUICHEUX J et coll.

Behaviour of mesenchymal stem cells on smooth surface.

Acta Biomater 2011;**7**(4):1525-1534.

25. LAVENUS S, RICQUIER JC, LOUARN G et LAYROLLE P.

Cell interaction with nanopatterned surface of implants.

Nanomedicine 2010;**5**(6):937-947.

26. LAVENUS S, TRICHET V, LECHEVALIER S et coll.

Cell differentiation and osteointegration influenced by nanoscale anodized titanium surfaces

Nanomedicine 2012;**7**(7):967-80.

27. LECLERCQ P, DOHAN SL et DOHAN DM.

Implantologie axiale : procédures chirurgicales et stratégies prothétiques.

Encycl Méd Chir (Paris), Odontologie, 23-330-A-16, 2008, **28**.

28. LEE S, CHOI J, SHIN S et coll.

Analysis on migration and activation of live macrophages on transparent flat and nanostructured titanium.

Acta Biomater 2011;**7**(5):2337-2344.

29. LE GUEHENNEC L.

Etude des interactions cellulaires et tissulaires au contact de surfaces implantaires.
Thèse :Doctorat de Chimie-Biologie, Nantes, 2008.

30. LE GUEHENNEC L, GOYENVALLE E, LOPEZ-HEREDIA M et coll.

Histomorphometric analysis of the osseointegration of four different implant surfaces in the femoral epiphysis of rabbits.
Clin Oral Implants Res 2007;**19**(1):1103-1110.

31. LE GUEHENNEC L, LOPEZ-HEREDIA MA, ENKEL B et coll.

Osteoblastic cell behaviour on different titanium implant surface.
Acta Biomater 2008;**4**(3):535-543.

32. LE GUEHENNEC L, MARTIN F, LOPEZ HEREDIA MA et coll.

Osteoblastic cell behavior on nanostructured metal implants.
Future Med 2008;**3**(1):61-71.

33. LE GUEHENNEC L, SOUEIDAN A, LAYROLLE P et AMOURIQ Y.

Surface treatments of titanium dental implants for rapid osseointegration.
Dent Mater 2007;**23**(7):844-854.

34. LI Y, LEE IS, CUI FZ et CHOI SH.

The biocompatibility of nanostructured calcium phosphate coated on micro-arc oxidized titanium.
Biomaterials 2008;**29**(13):2025-2032.

35. LIM JY, DREISS AD, ZHOU Z et coll.

The regulation of integrin-mediated osteoblast focal adhesion and focal adhesion kinase expression by nanoscale topography.
Biomaterials 2007;**28**(10):1787-1797.

36. LIU Y, DE GROOT K et HUNZIKER EB.

Osteoinductive implants : The *Mise-en-scène* for drug-bearing biomimetic coatings.
Ann Biomed Engineer 2004;**32**(3):398-406.

37. LIU Y, DE GROOT K et HUNZIKER EB.

BMP2 liberated from biomimetic implant coatings induces sustains direct ossification in an ectopic rat model.
Bone 2005;**36**(5):745-757.

38. LIU Y, ENGGIST L, KUFFER AF et coll.

The influence of BMP2 and its mode of delivery on the osteoconductivity of implant surfaces during the early phase of osseointegration.
Biomaterials 2007;**28**(16):2677-2686.

39. LIU Y, WU G et DE GROOT K.

Biomimetic coatings for bone tissue engineering of critical-sized defects.
J R Soc Interface 2010;**7**(Suppl 5):631-647.

40. LOPEZ HEREDIA MA.

Bioactivité d'implants en titane poreux produits par prototypage rapide.
Thèse : Doctorat Chimie-Biologie, Nantes, 2008.

41. LOPEZ HEREDIA MA, LEGEAY G, GAILLARD C et LAYROLLE P.

Radio frequency plasma treatments on Ti samples for bioactivity enhancement.
Acta Biomater 2008;**4**(6):1953-1962.

42. LOPEZ HEREDIA MA, SOHIER J, GAILLARD C et coll.

Rapid prototyped porous titanium coated with calcium phosphate as a scaffold for bone tissue engineering.
Biomaterials 2008;**29**(17):2608-2615.

43. LOPEZ-HEREDIA MA, WEISS P et LAYROLLE P.

An electrodeposition method of calcium phosphate coatings on titanium alloys.
J Mater Sci Mater Med 2007;**18**(2):381-390.

44. MABBOUX F, PONSONNET L, MORRIER JJ et coll.

Surface free energy and bacterial retention to saliva-coated dental implant materials – and *in vitro* study.
Colloids Surface B Biointerfaces 2004;**39**(4):199-205.

45. MENDONCA G, MENDONCA DSB, ARAGAO FJL et COOPER LF.

Advancing dental implant surface technology – From micron- to submicron nanotopography.
Biomaterials 2008;**29**(28):3822-3835.

46. MINAGAR S, BERNDT CC, WANG J et coll.

A review of the application of anodization for the fabrication of nanotubes on metal implant surfaces.
Acta Biomater 2012;**8**(8):2875-2888.

47. MONJO M, LAMOLLE SF, LYGSTADAAS SP et coll.

In vivo expression of osteogenic markers and bone mineral density at the surface of fluoride-modified titanium implants.
Biomater 2008;**29**(28):3771-3780.

48. NOVAES AB, DE SOUZA SL, DE BARROS RR et coll.

Influence of implant surface on osseointegration.
Braz Dent J 2010;**21**(6):471-481.

49. PALMQUIST A, OMAR OM, ESPOSITO M et coll.

Titanium oral implants: surface characteristics, interface biology and clinical outcome.
J R Soc Interface 2010;**7**(suppl 5):515-527.

50. PARK JW, KIM YJ et JANG JH.

Surface characteristics and *in vitro* biocompatibility of a manganese-containing titanium oxide surface.
Appl Surface Sci 2011;**258**(7):977-985.

51. PARK JW, KIM YJ, JANG JH et AN CH.

In vitro biocompatibility of magnesium-incorporated submicro-porous titanium oxide surface produced by hydrothermal treatment.
Appl Surface Sci 2010;**257**(7):925-931.

52. PARK JW, KIM HK, KIM YJ et coll.

Osteoblast response and osseointegration of a Ti-6Al-4V alloy implant incorporating strontium.
Acta Biomater 2010;**6**(7):2843-2851.

53. PARK JH, SCHWARTZ Z, OLIVARES-NAVARRETE R et coll.

Enhancement of surface wettability via the modification of microtextured titanium implant surfaces with polyelectrolytes.
Langmuir 2011;**27**(10):5976-5985.

54. PIATTELLI A, PONTES AE, DEGIDI M et IEZZI G.

Histologic studies on osseointegration: soft tissues response to implant surfaces and components. A review.
Dent Mater 2011;**27**(1):53-60.

55. POPAT KC, LEONI L, GRIMES CA et DESAI TA.

Influence of engineered titania nanotubular surfaces on bone cells.
Biomaterials 2007;**28**(21):3188-3197.

56. ROMPEN A, DOMKEN O, DEGIDI M et coll.

The effect of material characteristics, of surface topography and of implant components and connections on soft tissue integration: a literature review.
Clin Oral Implant Res 2006;**17**(suppl2):55-67.

57. ROSALES-LEAL JI, RODRIGUEZ-VALVERDE MA, MAZZAGLIA G et coll.

Effect of roughness, wettability and morphology of engineered titanium surfaces on osteoblast-like cell adhesion.
Colloids Surfaces A : Physicochem 2010;**365**:222-229.

58. SAILHAN F, COURVOISIER A, LAFFENETRE O et OBERT L.

Ostéoinducteurs en orthopédie.

Encycl Méd Chir (Paris), Orthopédie, 44-013.

59. SATANDER S, ALCÁINE C, LYAHYAI J et coll.

In vitro osteoinduction of human mesenchymal stem cells in biomimetic surface modified titanium alloy implants.

Dent Mater J 2012;**31**(5):843-850.

60. SCHLIEPHAKE H, AREF A, SCHARNWEBER D et coll.

Effect of modifications of dual acid etched implant surfaces on peri-implant bone formation.

Part I : organic coatings.

Clin Oral Implant Res 2009;**20**(1):31-37.

61. STANFORD CM.

Surface modifications of dental implants.

Aust Dent J 2008;**53**(suppl 1):26-33.

62. SUH JY, JANG BC, ZHU X et coll.

Effect of hydrothermally treated anodic oxide films on osteoblast attachment and proliferation.

Biomaterials 2003;**24**(2):347-355.

63. SUL YT, JEONG Y, JOHANSSON C et ALBREKTSSON T.

Oxidized, bioactive implants are rapidly and strongly integrated in bone. Part I – experimental implants.

Clin. Oral Implant Res 2006;**17**(5):521-526.

64. TAMBASCO DE OLIVEIRA P et NANJI A.

Nanotexturing of titanium-based surfaces upregulates expression of bone sialoprotein and osteopontin by cultured osteogenic cells.

Biomaterials 2004;**25**(3):403-413.

65. TANG Q, XU CH, SHI SQ et ZHOU LM.

Formation and characterization of protein patterns on the surfaces with different properties.

Synthetic Metals 2004;**147**:247-252.

66. TERHEYDEN H, LANG NP, BIERBAUM S et coll.

Osseointegration - communication of cells.

Clin Oral Implants Res 2012;**23**(10):1127-1135.

67. TOMSIA AP, LAUNEY ME, LEE JS et coll.

Nanotechnology approaches for better dental implants.

Int J Oral Maxillofac Implants 2011;**26**(suppl):25-49.

68. VARIOLA F, BRUNSKI JB, ORSINI G et coll.

Nanoscale surface modifications of medically relevant metals: state-of-the art and perspectives.

Royal Soc Chem Nanoscale 2011;**3**(2):335-353.

69. VASANTHAN A, KIM H, DRUKTEINIS S et LACEFIELD W.

Implant surface modification using laser guided coatings: in vitro comparison of mechanical properties.

Prosthodont 2008;**17**(5):357-364.

70. VON WILMOWSKY C, MOEST T, NKENKE E et coll.

Implants in bone: Part I. A current overview about tissue response, surface modifications and future perspectives.

Oral Maxillofac Surg 2013 Feb 24. [Epub ahead of print]

71. VON WILMOWSKY C, MOEST T, NKENKE E et coll.

Implants in bone: Part II. Research on implant osseointegration : Material testing, mechanical testing, imaging and histoanalytical methods.

Oral Maxillofac Surg 2013 Feb 21. [Epub ahead of print]

72. WANG J, LAYROLLE P, STIGTER M et DE GROOT K.

Biomimetic and electrolytic calcium phosphate coatings on titanium alloy: physicochemical characteristics and cell attachment

Biomaterials 2004;**25**(4):583-592.

73. WANG XX, YAN W, HAYAKAWA S et coll.

Apatite deposition on thermally and anodically oxidized titanium surfaces in a simulated body fluid.

Biomaterials 2003;**24**(25):4631-4637.

74. WARD BC et WEBSTER TJ.

The effect of nanotopography on calcium and phosphorus deposition on metallic materials *in vitro*.

Biomaterials 2006;**27**(16):3064-3074.

75. WEBSTER TJ et EJIOFOR JU.

Increased osteoblast adhesion on nanophase metals: Ti, Ti6Al4V and CoCrMo.

Biomater 2004;**25**(19):4731-4739.

76. WIJENAYAKA AKAR, COLBY CB, ATKINS GJ et MAJEWSKI P.

Biomimetic hydroxyapatite coating on glass coverslips for the assay of osteoclast activity *in vitro*.

J Mater Sci Mater Med 2009;**20**(7):1467-1473.

77. WU C, RAMASWAMY Y, GALE D et coll.

Novel sphene coatings on Ti-6Al-4V for orthopedic implants using sol-gel method.
Acta Biomater 2008;**4**(3):569-576.

78. YANG B, UCHIDA M, KIM HM et coll.

Preparation of bioactive titanium metal via anodic oxidation treatment.
Biomaterials 2004;**25**(6):1003-1010.

79. ZHANG Y, ANDRUKHOV O, BERNER S et coll.

Osteogenic properties of hydrophilic and hydrophobic titanium surfaces evaluated with osteoblast-like cells (MG63) in coculture with human umbilical vein endothelial cells (HUVEC).
Dent Mater 2010;**26**(11):1043-1051.

MENARD (Adèle) Apport des surfaces nanostructurées en implantologie.
118 f ; 1 tabl. ; 79 réf. ; 30 cm. (Thèse: Chir. Dent. ; Nantes; 2013)

RESUME:

Depuis plusieurs décennies, la recherche s'est employée à développer de nouvelles surfaces implantaire dans le but d'améliorer toujours un peu plus le succès clinique. Jusqu'ici, les études portaient plutôt sur des modifications de surface à l'échelle micrométrique. Une corrélation à été établie entre les événements moléculaires et cellulaires et les surfaces en contact. Ainsi il a été observé que les séquences d'ostéointégration se déroulaient majoritairement à l'échelle nanométrique. En partant de ce fait, il est possible d'admettre que des surfaces nanostructurées sur des implants dentaires, pourraient avoir un impact bénéfique sur la qualité et la vitesse d'intégration tissulaire de ces derniers. Après avoir fait la synthèse des données biologiques sur l'ostéointégration, nous passerons en revue les différentes techniques permettant la nanostructuration des surfaces de titane puis nous finirons par rassembler les résultats de différentes études dans le but de discerner les apports de telles surfaces.

RUBRIQUE DE CLASSEMENT: Implantologie

MOTS CLES MESH :

- Nanostructures - Nanostructures
- Ostéointégration - Osseointegration
- Implants dentaires - Dental Implants
- Biologie Cellulaire - Cell Biology
- Biologie Moléculaire - Molecular Biology.

JURY:

Président: Professeur Amouriq Y.

Directeur: Docteur Hoornaert A.

Assesseur: Docteur Le Guehennec L.

Assesseur: Docteur Margottin C.

Invité: Docteur Gouré T.

ADRESSE DE L'AUTEUR:

adme@neuffr