

Séance commune
de l'Académie nationale de chirurgie dentaire
et de l'Académie vétérinaire de France

Jeudi 6 décembre 2001

**Les substituts osseux phosphocalciques
injectables : modélisation animale
et applications en chirurgie
odontostomatologique**

Olivier GAUTHIER *

INTRODUCTION

Bien que le tissu osseux soit doué de capacités de remodelage et de régénération, ces deux processus se trouvent compromis dans de nombreuses situations cliniques, incluant des pertes de substance osseuse d'origine traumatique, dégénérative, métabolique ou faisant suite à une résection tumorale. Il y a, dans ce contexte, un enjeu capital à développer de nouvelles stratégies thérapeutiques pour accroître ou promouvoir la cicatrisation osseuse. Les risques de transmission d'agents infectieux compliquent l'utilisation des allogreffes osseuses et la faible disponibilité des greffons autologues rendent difficile le recours aux autogreffes. Le développement de substituts osseux de synthèse est donc une nécessité.

Les céramiques phosphocalciques sont biocompatibles, c'est-à-dire qu'elles n'induisent aucune réaction tissulaire locale néfaste, qu'elles sont dépourvues d'immunogénicité et de toxicité locale ou systémique. Elles possèdent également des propriétés d'ostéoconduction en agissant comme un support pour la colonisation osseuse en raison de leur porosité. Elles sont enfin résorbables, c'est-à-dire dégradables par des mécanismes chimiques et cellulaires (24). La macroporosité des blocs de céramiques phosphocalciques favorise l'envahissement cellulaire de l'implant, la diffusion des facteurs de croissance dans sa profondeur, permettant ainsi une néoformation osseuse en périphérie comme au cœur de l'implant.

* Maître de conférences. Unité de chirurgie. École nationale vétérinaire de Nantes.

Parmi ces composés, les céramiques en phosphate de calcium biphasé (BCP) associent l'hydroxapatite et le phosphate tricalcique β conférant à ces céramiques une bioactivité contrôlée en terme de colonisation osseuse et de dégradation (9, 26). Elles sont utilisées en chirurgie chez l'Homme depuis plusieurs années, leur composition chimique semblable à celle de la phase minérale du tissu osseux leur conférant une parfaite biocompatibilité (8, 17, 28).

Elles permettent ainsi de restaurer un capital osseux compromis ou de favoriser la colonisation osseuse dans des situations cliniques très diverses : comblements de défauts osseux après curetage ou résection tumorale, fusion osseuse lors d'arthrodèse vertébrale, restauration osseuse parodontale... Ces substituts osseux sont disponibles sous formes de granules ou de blocs massifs macroporeux. Ils sont également fréquemment utilisés en tant que revêtement d'implants métalliques orthopédiques ou dentaires afin de favoriser leur ostéo-intégration.

La destruction des berges alvéolaires peut être la conséquence de divers phénomènes parmi lesquels une perte osseuse traumatique, une ostéoporose mandibulaire et maxillaire, une atteinte osseuse d'origine parodontale, une lésion périapicale ou l'échec d'un traitement endocanalair, une fracture ou une ankylose radiculaire. La mise en place d'implants dentaires dans les alvéoles immédiatement après l'extraction impose que l'os alvéolaire receveur soit disponible en suffisamment grande quantité pour permettre l'ostéo-intégration de ces implants (23). Après extraction dentaire, la cicatrisation alvéolaire s'effectue grâce au développement d'un tissu osseux néoformé parfois insuffisant et de mauvaise qualité, à l'origine d'une résorption osseuse autour des implants mis en place. L'ancrage de ces implants dentaires peut aussi être rendu difficile, voire impossible, du fait d'un défaut acquis du support osseux maxillaire ou de dégâts trop importants occasionnés lors de l'extraction.

Lors de déficit alvéolaire trop important, il peut être nécessaire de pratiquer une intervention chirurgicale afin d'augmenter la largeur et la hauteur alvéolaires avant la mise en place d'un implant. De telles procédures ont été réalisées avec succès à l'aide de membranes barrières ayant pour but d'empêcher le développement du tissu épithélial gingival au profit de la néoformation de tissu osseux alvéolaire (23).

Associé à ces techniques, l'utilisation de différents substituts osseux ou biomatériaux peut également être utile : des allogreffes osseuses lyophilisées et congelées, déminéralisées ou non, des greffes d'os spongieux autologues et l'hydroxyapatite ont déjà été étudiées afin de rétablir le capital osseux (2, 6, 7, 27).

LES SUBSTITUTS OSSEUX PHOSPHOCALCIQUES INJECTABLES

Les techniques chirurgicales non invasives développées dans le domaine de la radiologie interventionnelle, de l'orthopédie et plus spécifiquement dans le domaine

de la chirurgie du rachis, constituent des approches thérapeutiques nouvelles qui, combinées aux progrès de la technologie des biomatériaux phosphocalciques, permettent et justifient le développement de substituts osseux injectables. Appliqués à l'odontostomatologie, ils peuvent répondre à de nombreuses indications.

Deux types de stratégies correspondant à deux catégories différentes de biomatériaux ont été explorées, la première reposant sur les ciments hydrauliques phosphocalciques, la seconde proposant l'utilisation de céramiques injectables.

Avec le développement de ciments phosphocalciques, les travaux réalisés ont choisi de mettre en avant la nécessité d'avoir un biomatériau possédant des propriétés mécaniques primaires grâce à la réaction de prise du ciment en dépit de l'absence de macroporosité initiale ou induite de ces composés (22). Plusieurs de ces composés durcissables sont déjà disponibles sur le marché. Ils reposent sur le mélange de différents composants phosphocalciques qui réagissent ensemble pour donner un composé final durcissable après son injection *in situ*. Ces ciments ne sont pas prêts à l'emploi et possèdent des temps de prise très variables. Après durcissement, ils conduisent à des composés denses, ne possédant qu'une microporosité alors que de nombreux travaux ont démontré la nécessité d'une macroporosité suffisante pour une meilleure substitution osseuse (11).

La seconde voie déjà explorée repose sur l'association de granules phosphocalciques, dont les propriétés biologiques sont particulièrement bien connues, et d'un polymère biocompatible. Le composite obtenu est un substitut osseux injectable dont l'injectabilité et la rhéologie peuvent être adaptés en changeant la granulométrie de la phase minérale. De telles céramiques injectables et prêtes à l'emploi ont déjà été proposées, ne nécessitant qu'un minimum de manipulations par le chirurgien.

Au cours des dernières années, nous avons travaillé sur ce concept de substitut osseux injectable (IBSTM Biomatlante France) et abouti au développement d'un composé associant des granules de céramique phosphocalcique biphasée et un polymère cellulosique qui confère à l'IBS son injectabilité (13, 14, 19). Cet IBS est ainsi stérile et prêt à l'emploi. La phase vectrice utilisée est l'hydroxypropylméthylcellulose. La biocompatibilité de la cellulose et de ses dérivés a déjà été étudiée et plusieurs de ces produits ont d'ailleurs trouvé des utilisations biomédicales (1). Le composé ainsi développé est actuellement le seul substitut osseux phosphocalcique injectable prêt à l'emploi. En plus de ses propriétés favorables à la néoformation osseuse, il peut aussi être utilisé comme support de libération locale d'agents thérapeutiques.

Les céramiques phosphocalciques ont été largement utilisées au cours de ces quinze dernières années comme matériaux de remplacement des tissus calcifiés dans le cadre d'indications orthopédiques, parodontales ou strictement dentaires. À ce jour, la plupart des observations ont concerné des composés macroporeux utilisés pour combler des défauts osseux ou pour réaliser des arthrodèses vertébrales

biologiques. Dans ces céramiques, une taille optimale des macropores d'environ 300 à 500 μm est capable d'établir une ostéoconduction centripète permettant une colonisation osseuse homogène du matériau (11).

Cependant, des particules phosphocalciques utilisées seules se sont révélées plus efficaces que des blocs macroporeux pour combler les alvéoles dentaires, bien qu'elles soient plus difficiles à manipuler et à mettre en place (3, 4).

C'est dans ce contexte que nous avons envisagé l'utilisation du substitut osseux phosphocalcique injectable afin d'étudier son comportement biologique dans l'environnement buccal et de vérifier ses propriétés de comblement osseux et d'ostéoconduction en site alvéolaire.

RÉSULTATS PRÉCLINIQUES CHEZ L'ANIMAL

Nous avons réalisé plusieurs études précliniques visant à explorer la biofonctionnalité d'un tel composé chez l'animal pour des indications orthopédiques et parodontales.

À partir d'un modèle expérimental de comblement osseux fémoral chez le Lapin (*criticalsize defect*) (21), nous avons montré que ce biomatériau injectable est en mesure de favoriser une néoformation osseuse rapide et intense de l'ensemble du défaut créé (fig. 1) très rapidement après implantation, dès la 3^e semaine (13, 14).

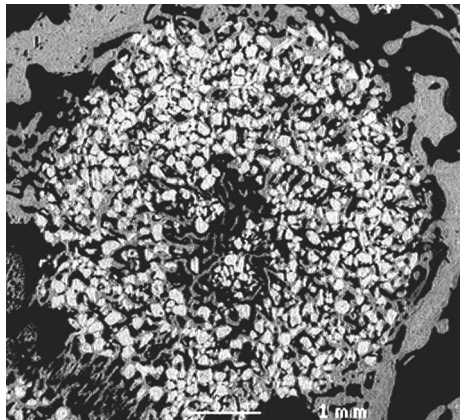


Fig. 1. Image en microscopie électronique à balayage 6 semaines après implantation du substitut injectable. L'os hôte et néoformé apparaît en gris, la céramique en blanc, les espaces vides de tissus minéralisés en noir.

La colonisation observée est par ailleurs supérieure à celle obtenue grâce à des céramiques phosphocalciques macroporeuses ou à des ciments osseux phosphocalciques disponibles sur le marché des substituts osseux de synthèse depuis plusieurs années (16). De plus, il a été établi et vérifié qu'une matrice de BCP macroporeux pouvait être utilisée comme support de libération de principe actif pour différentes molécules thérapeutiques, nous permettant ainsi d'envisager de nouveaux développements technologiques en matière de libération locale de principes actifs avec ce type de substitut osseux injectable (20).

Plusieurs autres études ont été réalisées chez le Chien afin d'étudier le comportement de ce biomatériau en site alvéolaire (5, 12). Après extraction des 2^e, 3^e et 4^e prémolaires mandibulaires et des 2^e et 3^e prémolaires maxillaires, nous avons comblé ces alvéoles avec une formulation de notre biomatériau injectable comportant des particules de BCP de 200 à 500 μm de diamètre. Après 3 mois d'implantation, nous avons pu établir qu'un tel biomatériau conserve les propriétés bioactives de la phase minérale et autorise la colonisation osseuse d'alvéoles dentaires comblées immédiatement après l'extraction de la dent (fig. 2) (12). Dans ce modèle de comblement non pathologique, le substitut osseux injectable préserve les capacités de cicatrisation naturelle de l'alvéole dentaire et a permis une néoformation osseuse similaire à celle observée dans les alvéoles témoins non comblées, et semble en mesure de préserver le volume osseux alvéolaire.

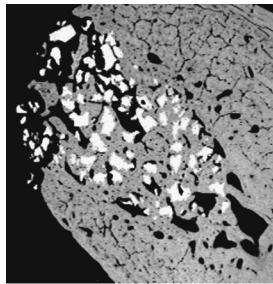


Fig. 2. Image en microscopie électronique à balayage 12 semaines après implantation du substitut injectable dans une alvéole dentaire immédiatement après extraction.

Dans un second temps, nous avons développé un modèle pathologique, consistant, après extraction des 2^e, 3^e et 4^e prémolaires mandibulaires, en la réalisation d'un défaut calibré de 7 mm de haut et de 1,5 à 2,5 mm de large sur la paroi vestibulaire de chaque alvéole. Chaque alvéole a ensuite été comblée par le substitut osseux injectable contenant des particules de BCP de 40 à 80 μm de diamètre (fig. 3) (5).

Après 8 semaines d'implantation, les alvéoles comblées ont fait l'objet d'une colonisation osseuse importante et présentaient non seulement un contour et un



Fig. 3. Mise en place du biomatériau après extraction et réalisation du défaut vestibulaire calibré.

relief osseux restauré, mais aussi une largeur, une hauteur et une surface totale significativement supérieures aux alvéoles témoins non comblées (fig. 4). Cette étude nous a également permis de mettre en évidence une bioactivité différente en fonction de la granulométrie des particules de BCP utilisées.

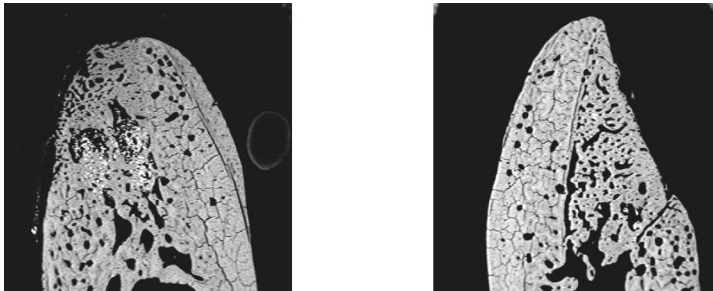


Fig. 4. Images en microscopie électronique à balayage 8 semaines après implantation du substitut injectable. Les alvéoles comblées (à gauche) présentent une hauteur, une largeur et une surface totale supérieures aux alvéoles témoins non comblées (à droite).

Ce comportement *in vivo*, s'il est équivalent en terme de néoformation osseuse quelle que soit la taille des particules de BCP, apparaît en faveur de la petite classe granulométrique en ce qui concerne la cinétique de dégradation et donc de substitution osseuse.

Cette différence avait déjà été établie avec des particules de BCP seules (13, 25).

Enfin, nous avons exploré l'intérêt d'associer la mise en place d'implants dentaires et le comblement de défauts osseux péri-implantaires après extraction des 3^e et 4^e prémolaires mandibulaires et dans le même temps chirurgical (fig. 5). Après 12 semaines d'implantation, l'ostéo-intégration des implants est améliorée lorsque



Fig. 5. Mise en place conjointe d'implants dentaires et du substitut osseux injectable.

leur mise en place s'accompagne du comblement des défauts osseux environnants par le substitut osseux injectable par rapport à des défauts osseux témoins non comblés.

Toujours à visée préimplantaire, nous avons cherché à modéliser une situation similaire au maxillaire. Pour cela, nous avons réalisé des comblements osseux du sinus maxillaire chez le Mouton avec le substitut osseux injectable, en comparaison avec un comblement par un greffon osseux autologue. Les premiers résultats obtenus après 3 mois d'implantation sont prometteurs, puisque le substitut osseux injectable est parfaitement toléré par la muqueuse sinusienne et permet d'obtenir une colonisation osseuse satisfaisante dans un site qui n'est plus strictement osseux (29).

CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES

Ces étapes de validation précliniques, c'est-à-dire en phase terminale de la mise au point d'un nouveau substitut osseux, ne peuvent avoir lieu sans le recours à l'expérimentation animale. Celle-ci ne peut se concevoir sans un respect strict des règles éthiques et de bien-être animal. Au bout de la chaîne de validation, il semble souhaitable voire indispensable, comme un juste retour des choses, que les avancées techniques et scientifiques permises par l'utilisation de l'expérimentation animale puissent profiter aux animaux eux-mêmes, et cela reste l'une de nos préoccupations quotidiennes (10, 15, 18).

Enfin, comme la justification ultime de ces efforts entrepris au cours de longues étapes de validation *in vitro et in vivo*, les premiers essais cliniques chez l'Homme ont récemment débuté. Ils concernent :

- en odontostomatologie, le comblement d'alvéoles dentaires après extraction,
- en chirurgie orthopédique, le comblement de cavités osseuses "closes", après curetage, résection tumorale ou lors de perte de substance,
- en chirurgie du rachis, le remplissage de cage de fusion pour arthrodèse vertébrale.

REMERCIEMENTS

L'ensemble de ces études n'a pu aboutir que grâce à la participation de l'ensemble des membres de l'équipe EMI INSERM 99-03 de la faculté de chirurgie dentaire de Nantes, dirigée par Guy Daculsi, parmi lesquels : les docteurs Eric Aguado et Eric Goyenvalle, vétérinaires, les docteurs Yves Amouriq, Damien Boix, François Bodic, Jean-Michel Bouler, Xavier Bourges, Olivier Malard, Paul Pilet, Afchine Saffarzadeh, Pierre Weiss.

L'auteur remercie tout particulièrement le docteur Franck Bourdy, vétérinaire, pour son amical soutien.

BIBLIOGRAPHIE

1. BARBIE C, CHAUVEAUX D, BARTHE X, BAQUEY C and POUSTIS J. Biological behaviour of cellulosic materials after bone implantation : preliminary results. *Clin Mater* 1990 ; 5 : 251-258.
2. BEIME OR, CURTIS TA and GREENSPAN JS. Mandibular augmentation with hydroxyapatite. *J Prosthet Dent* 1986 ; 55 : 362-367.
3. BELL DJ. Particles versus solid forms of hydroxyapatite as a treatment modality to preserve residual alveolar ridges. *J Prosthet Dent* 1986 ; 56 : 322-326.
4. BLOCK MS AND KENT JN. A comparison of particulate and solid root forms of hydroxyapatite in dog extraction sites. *J Oral Maxillofac Surg* 1986 ; 44 : 89-93.
5. BODIC F, AMOURIQ Y, GAYET-DELACROIX M, GAUTHIER O, BOULER JM, DACULSI G and HAMEL L. Méthode non invasive d'évaluation d'un substitut osseux injectable. *C R Biol* 2002 ; 325(4) : 345-353.
6. BOWEN JA, MELLONIG JT, GRAY JL and TOWLE HT. Comparison of decalcified freeze-dried bone allograft and porous particulate hydroxyapatite in human periodontal osseous defects. *J Periodontol* 1989 ; 60 : 647-654.
7. BROWN GD, MEALEY BL, NUMMIKOSKI PV, BIFANO SL and WALDROP TC. Hydroxyapatite cement implant for regeneration of periodontal osseous defects in humans. *J Periodontol* 1998 ; 69 : 146-157.
8. DACULSI G, PASSUTI N, MARTIN S, DEUDON C, LE GEROS R-Z and RAHER S. Macroporous calcium phosphate ceramic for long bone surgery in humans and dogs. Clinical and histological study. *J Biomed Mater Res* 1990 ; 24 : 379-396.
9. DACULSI, G. Biphase calcium phosphate concept applied to artificial bone, implant coating and injectable bone substitutes. *Biomaterials* 1998 ; 19 : 1473-1478.
10. GAUTHIER O, GOUIN F, AGUADO E et DACULSI G. Biomatériaux de substitution osseuse et allogreffes : étude comparée en situation de mise en charge. *Rev Méd Vét* 1997 ; 148 : 813-822.

11. GAUTHIER O, BOULER J-M, AGUADO E, PILET P and DACULSI G. Macroporous biphasic calcium phosphate ceramics : Influence of macropore diameter and macroporosity percentage on bone ingrowth. *Biomaterials* 1998 ; 19 : 133-139
12. GAUTHIER O, BOIX D, GRIMANDI G, AGUADO E, BOULER JM, WEISS P and DACULSI G. A new injectable calcium phosphate biomaterial for immediate bone filling of extraction sockets : a preliminary study in dogs. *J Periodontol* 1999 ; 70 : 375-383.
13. GAUTHIER O, BOULER JM, WEISS P, BOSCO J, DACULSI G and AGUADO E. Kinetic study of bone ingrowth and ceramic resorption associated with the implantation of different injectable calcium-phosphate bone substitutes. *J Biomed Mater Res* 1999 ; 47 : 28-35.
14. GAUTHIER O, BOULER JM, WEISS P, BOSCO J, AGUADO E and DACULSI G. Short-term effects of mineral particle sizes on cellular degradation activity after implantation of injectable calcium-phosphate biomaterials and the consequences for bone substitution. *Bone* 1999 ; 25 (2 suppl) : 71S-74S.
15. GAUTHIER O, IZEMBART A, GOYENVALLE E, LE NIHOUANNEN JC. Utilisation d'un substitut osseux de synthèse pour le traitement chirurgical d'une tumeur dentaire chez un chien. *Prat Méd Chir Anim Comp*, 2000, 35 : 123-130.
16. GAUTHIER O, GOYENVALLE E, BOULER JM, PILET P, WEISS P and DACULSI G. Macroporous Biphasic Calcium Phosphate Ceramics *versus* Injectable Bone Substitute : compared study after implantation in rabbit bone. *J Mater Sci Mater Med* 2001 ; 12 : 385-390.
17. GOUIN F, DELECRIN J., PASSUTI N., TOUCHAIS S, POIRIER P et BAINVEL JV. Complements osseux par céramique phosphocalcique biphasée macroporeuse. À propos de 23 cas. *Rev Chir Orthop* 1995 ; 81 : 59-65.
18. GOYENVALLE E, GAUTHIER O, BOULER JM., LE NIHOUANNEN JC, DACULSI G et AGUADO E. Intérêts et limites des céramiques phosphocalciques en chirurgie orthopédique vétérinaire. *Rev Méd Vét* 2000 ; 151 : 291-302.
19. GRINIANDI G, WEISS P, MILLOT F and DACULSI G. *In vitro* evaluation of a new injectable calcium phosphate material. *J Biomed Mater Res* 1998 ; 39 : 660-666.
20. GUICHEUX J, GAUTHIER O, AGUADO E, PILET P, COUILLAUD S, JÉGOU D, DACULSI G and HEYMANN D. Human growth hormone locally released in bone sites by calcium-phosphate biomaterial stimulates ceramic bone substitution without systemic effects : A rabbit study. *J Bone Miner Res* 1998 ; 13 : 739-748.
21. HOLLINGER JO and KLEINSCHMIDT JC. The critical size defect as an expérimental model to test bone repair materials. *J Craniofac Surg* 1990 ; 1 : 60-68.
22. KHAIROUN I, MAGNE D, GAUTHIER O, BOULER JM, AGUADO E, DACULSI G and WEISS P. *In vitro* characterization and *in vivo* properties of a carbonated apatite bone cement. *J Biomed Mater Res* 2002 ; 60(4) : 633-642.
23. KOHAL RJ, MELLAS P, HÜRZELER MB, TREJO PM, MORRISON E and CAFFESSE RG. The effects of guided bone regeneration and grafting on implants placed into immediate extraction sockets. An experimental study in dogs. *J Periodontol* 1998 ; 69 : 927-937.
24. LE GEROS RZ. Biodegradation and bioresorption of calcium phosphate ceramics. *Clin Mater* 1993 ; 14 : 65-88.
25. MALARD O, BOULER J.M, GUICHEUX J, HEYMANN D, PILET P, COQUARD C and DACULSI G. Influence of biphasic calcium phosphate granulometry on bone ingrowth, ceramic

- résorption and inflammatory réactions. Preliminary *in vitro* and *in vivo* study. J Biomed Mater Res 1999 ; 46(1) : 103-111.
26. NERY EB, LE GEROS RZ, LYNCH KL and LEE K. Tissue response to biphasic calcium phosphate ceramic with different ratios of HA/ β TCP in periodontal osseous defects. J Periodontol 1992 ; 63 : 729-735.
 27. OREAMUNO S, LEKOVIC V, KENNY V, CARRANZA SA JR, TAKEI H and PROKIC B. Comparative clinical study of porous hydroxyapatite and decalcified freeze-dried bone in human periodontal defects. J Periodontol 1990 ; 61 : 399-404.
 28. RANSFORD AQ, MORLEY T, EDGAR MA, WEBB P, PASSUTI N, CHOPIN D, MORIN C, MICHEL F, GARIN C and PRIES D. Synthetic porous ceramic compared with autograft in scoliosis surgery. J Bone Joint Surg 1998 ; 80-B : 13-18.
 29. SAFFARZADEH A. Modèle animal de comblement du sinus maxillaire par un substitut osseux injectable. DEA "Biologie orale et ostéo-articulaire – Biomatériaux et biofonctionnalité", Paris V et Paris VII, septembre 2001.