



université
PARIS-SACLAY
FACULTÉ DE
PHARMACIE

UEL 340

INTERACTIONS BIOMATÉRIAUX-TISSUS VIVANTS

Biocompatibilité

Juliette Vergnaud (juliette.vergnaud@universite-paris-saclay.fr)

Maître de Conférences

Institut Galien Paris-Saclay, Faculté de Pharmacie, Université Paris-Saclay

Introduction (rappels)

Biomatériaux

Synthétiques
Ou
Naturels

Devant fonctionner de façon
appropriée dans un
environnement biologique

Objectifs

Guider
Renforcer
Remplacer

les fonctions des tissus vivants dans l'organisme

Selon DF Williams :

- biomatériau \neq organe ou tissu vivant (= transplantation vers un donneur *sans manipulation ni modification*)
- Si l'**organe ou le tissu est manipulé** pour en **modifier ses caractéristiques**, il peut être *raisonnablement* appelé biomatériau
 - Exemples : valve aortique de porc, péricarde de bœuf rendus stériles, non immunogènes, acellulaire

En 1987, Williams définissait le biomatériau comme « un matériau non viable utilisé dans des dispositifs médicaux et conçu pour interagir avec le système biologique »

Le spectre de la réponse tissulaire est la série de réponses déclenchées par la procédure d'implantation, ainsi que par la présence du biomatériau, du dispositif médical ou de la prothèse.

Interaction Matériau-tissu vivant

Importance de la **cicatrisation**
Importance des **sites anatomiques**
(**structures et fonctions tissulaires**)



Définition de pré-requis
mécaniques et de performances
nécessaires au dispositif



Toxicologie
Biocompatibilité

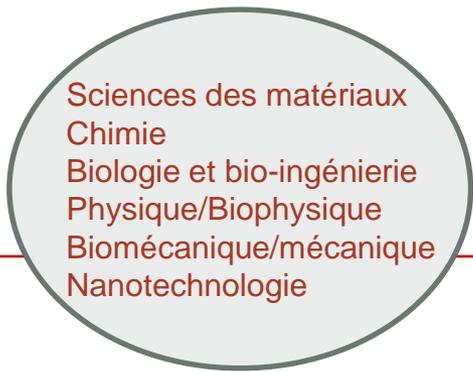
Premières sutures chirurgicales retrouvée dans l'Egypte ancienne

 			
Canine metal implants 1829	artificial heart 1881	hip protheses 1956	Silicone contact lens 2002



Science des Biomatériaux

Interdisciplinaire



Matériaux inertes

Matériaux capables d'interagir avec les systèmes vivants
« Smart materials »

Donc,

A l'interface matériaux/tissus vivants

□ Importance des réactions à l'interface

- Interface constituée d'un système à deux phases
 - Modification du matériau par l'interaction avec le tissu
 - Modification du tissu par l'interaction avec le matériau

□ Influence des caractéristiques de surface du matériau

- purement **physiques** (taille, superficie, rugosité, forme...)
- **physico-chimiques** (hydrophilie / phobie, charge électrique, cristallinité, séparation de phases, mobilité...)
- purement **chimiques** (type de groupe fonctionnel, contamination...)

Interactions tissus-biomatériaux

Interactions locales (à l'interface)

Effets du matériau sur le tissu hôte :

- Interaction avec le sang (coagulation)
- Toxicité
- Modification de la cicatrisation
- Inflammation
- Infection
- Tumorigenèse

Effets de l'environnement sur le matériau :

- Effets physiques et mécaniques : Usure, fatigue, rupture par stress ou corrosion
- Effets biologiques : absorption des constituants des implants par les tissus, dégradation enzymatique, calcification

Complications liées au dispositif :

Thrombose /thromboembolisation
Défaillance des biomatériaux

Effets secondaires locaux
Effets secondaires systémiques

Interactions systémiques

- Embolisation
- Hypersensibilité
- Composants de l'implant libérés dans le sang
- Transport lymphatique de particules

↻ Définition de la biocompatibilité

Définition de la biocompatibilité

“Definitions vary, but biocompatibility can be described as the capacity of a material or device to not induce toxic or injurious effects on biological systems...”

“...reflects the nature and degree of interaction between biomaterials and host tissue...”

James M Anderson, Annu. Rev. Mater. Res. 2001. 31:81–110



« ...capacité d'un matériau à induire une réponse **appropriée** de l'hôte dans une application **spécifique**... »

Absence de toxicité et de dégradation même sous **contrainte biologique**

- « biosafety » : réponse appropriée au niveau systémique et aussi localement
 - ⇔ absence de toxicité, mutagenèse et/ou carcinogénèse

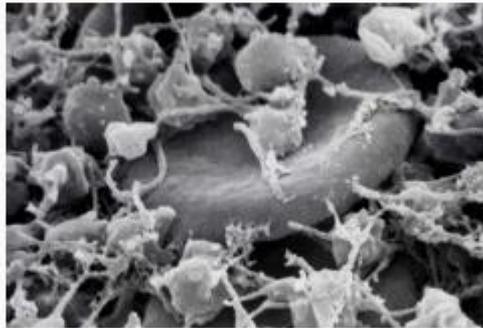
- « biofunctionality » : capacité du matériau à effectuer une tâche spécifique attendue

L'étude de la biocompatibilité revient à l'étude d'un système complexe :

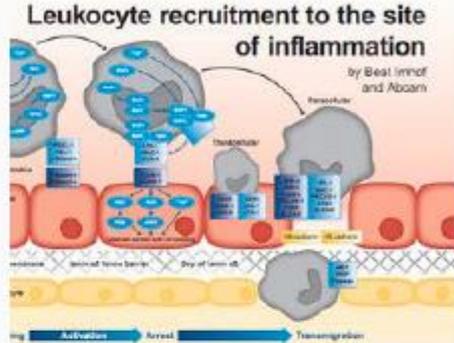
Proteins



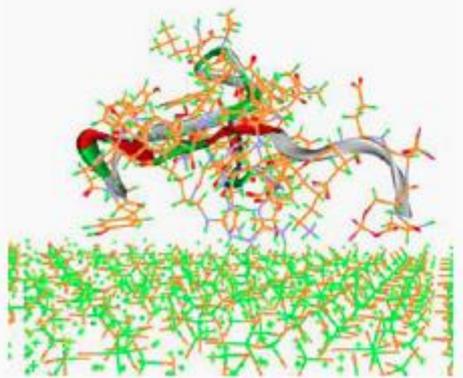
Coagulation



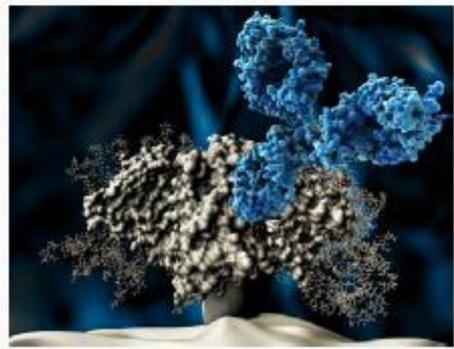
Inflammation and infection



Protein-surface interactions



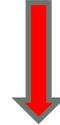
The immune system



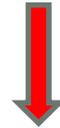
Paradigme de la biocompatibilité

Comment conclure à la biocompatibilité d'un biomatériau ou dispositif ?

Contact Hôte-Biomatériau



Initiation de la réponse de l'hôte



Progression de la réponse de l'hôte

Inflammation
Hyperplasie
Thrombose
Calcification...

Agents déclencheurs :

Forces mécaniques
Adsorption protéique
Adhésion cellulaire
Dégradation du matériau

Lésion
Coagulation
Inflammation
Réparation et remodelage

Réponse inadéquate

Conséquences cliniques notoires
Non tolérable pour le patient

Réponse adéquate

Conséquences cliniques acceptables
Tolérable pour le patient

Adsorption/désorption protéique

Activation des neutrophiles

Activation macrophagique/FBGC/granulome

Comportement fibroblastique/fibrose

Changements microvasculaires

Réponses cellulaires spécifiques d'un tissu ou d'un organe

Activation cascade de la coagulation

Adhésion/activation/agrégation plaquettaire

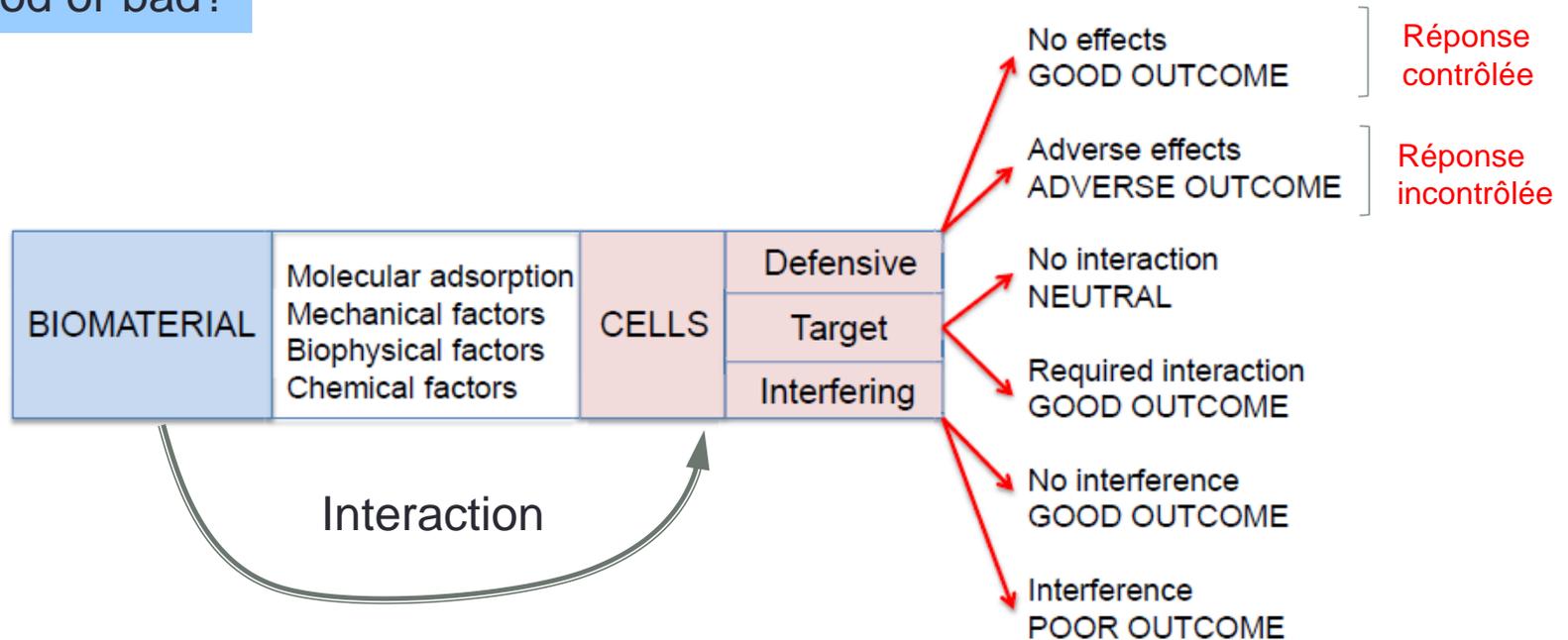
Production d'anticorps/réponse immunitaire

Hypersensibilité/anaphylaxie

Mutagenèse/génotoxicité/formation de tumeurs

Toxicité de la reproduction

What is good or bad?

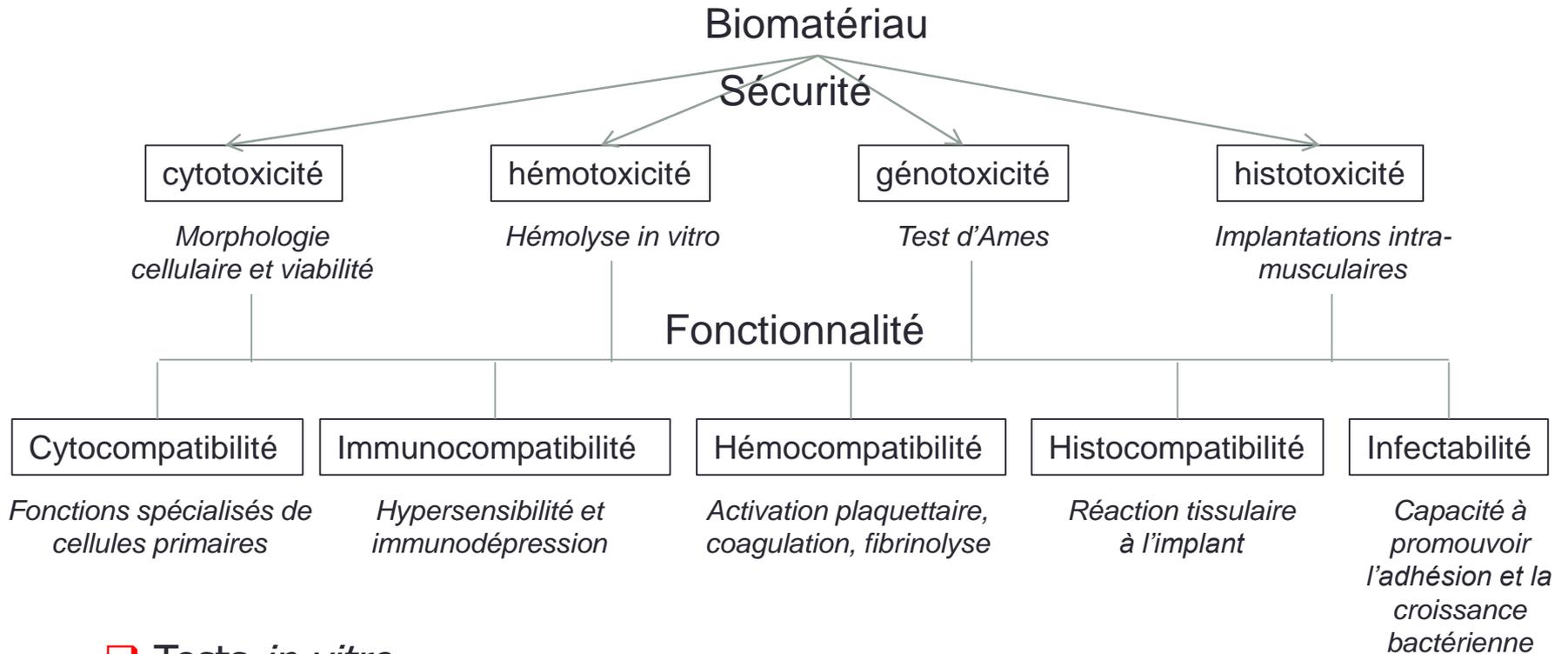


« **defensive cells** » : cellules de l'immunité innée et adaptative + plaquettes → éliminer un « corps étranger »

« **Target cells** » : ostéoblaste si DM en contact avec l'os, cellules cancéreuses si NP chargées en thérapie...

« **Interfering cells** » : cellules dans leur environnement naturel mais **qui ne sont pas les cibles** : ostéoclastes de l'os, cellules musculaires lisses dans les vaisseaux sanguins, fibroblastes du tissu conjonctif...

Tests de biocompatibilité communément utilisés



❑ Tests *in vitro*

❑ Tests *in vivo*

Attention au choix des modèles !

↳ Normes

Foreign Body response

Dispositifs implantables

Réponse au corps étranger

Interaction Tissu/Biomatériau
Exsudat de fluide et de protéines
Adsorption non spécifique de protéines sanguines

Réaction inflammatoire stérile (immunité innée) avec

- effet sur la vascularisation
- remodelage tissulaire
- encapsulation fibrotique

Empêcher le contact entre le biomatériau et le tissu hôte

Inflammation aiguë

Formation de *matrice provisoire*
Réaction des *neutrophiles*



Inflammation chronique

Monocytes → *macrophages*
Lymphocytes

Granulome

Prolifération et migration *fibroblastique*
Formation de capillaires

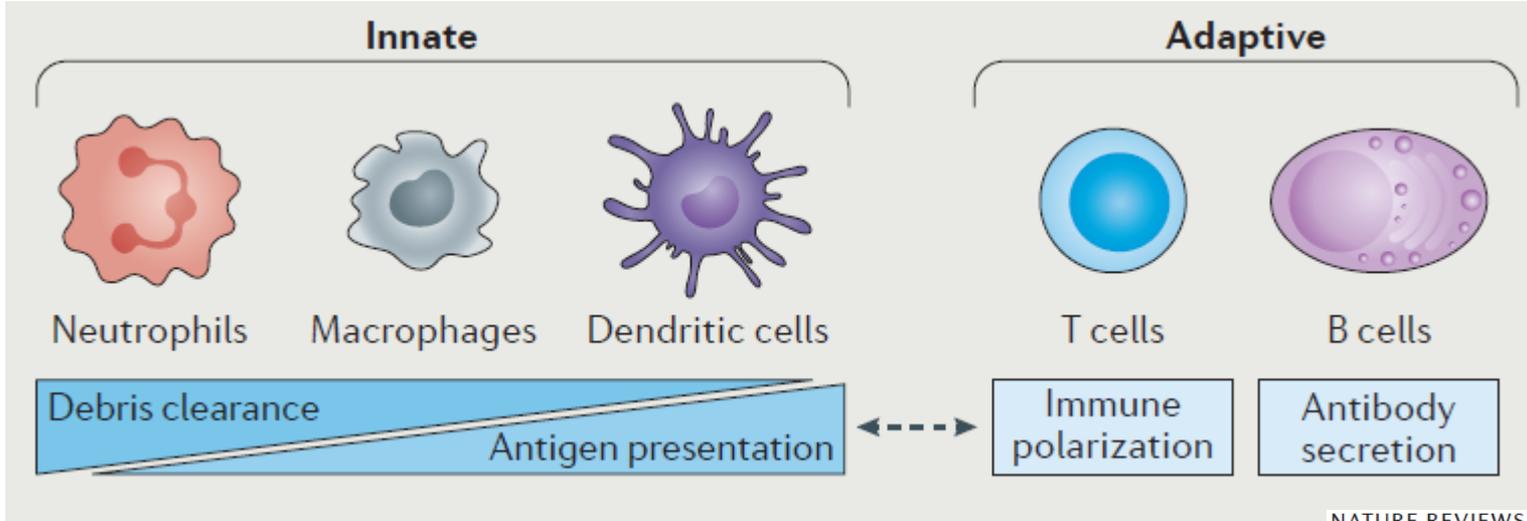
Foreign body
giant cells

Capsule fibreuse

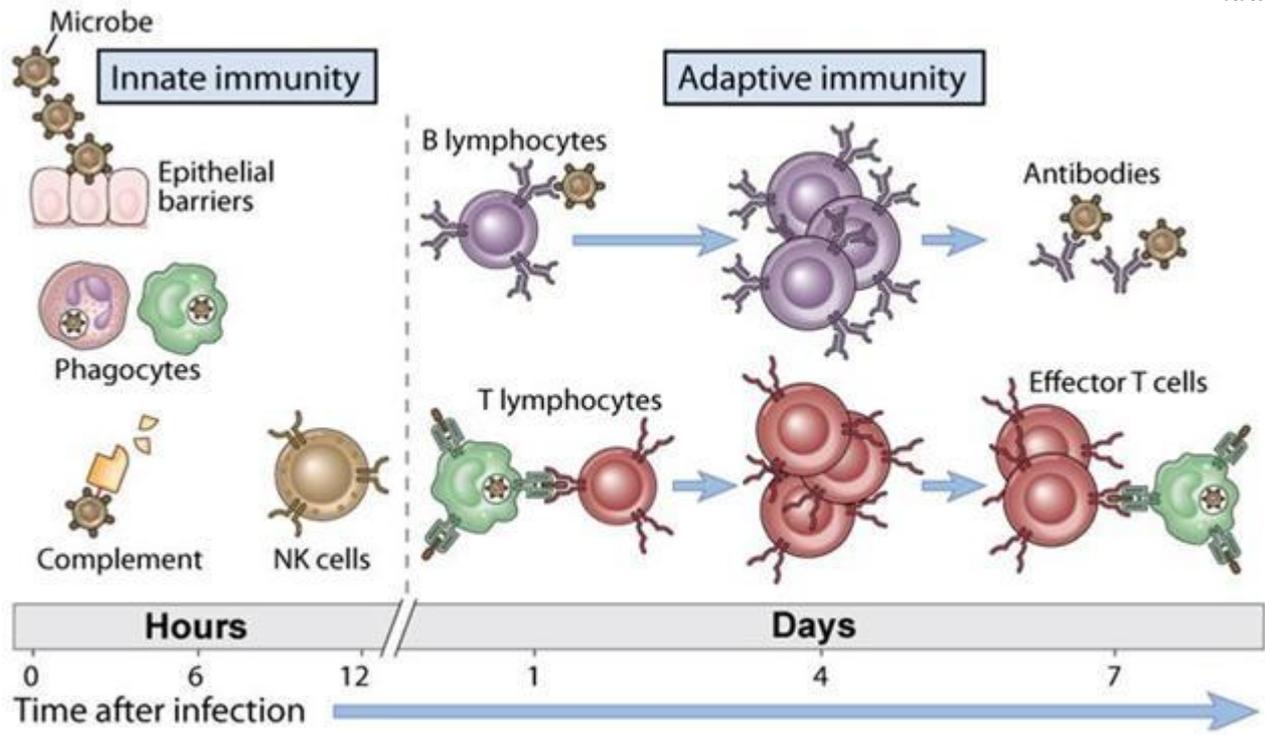
Sévérités et types de manifestations cliniques variables

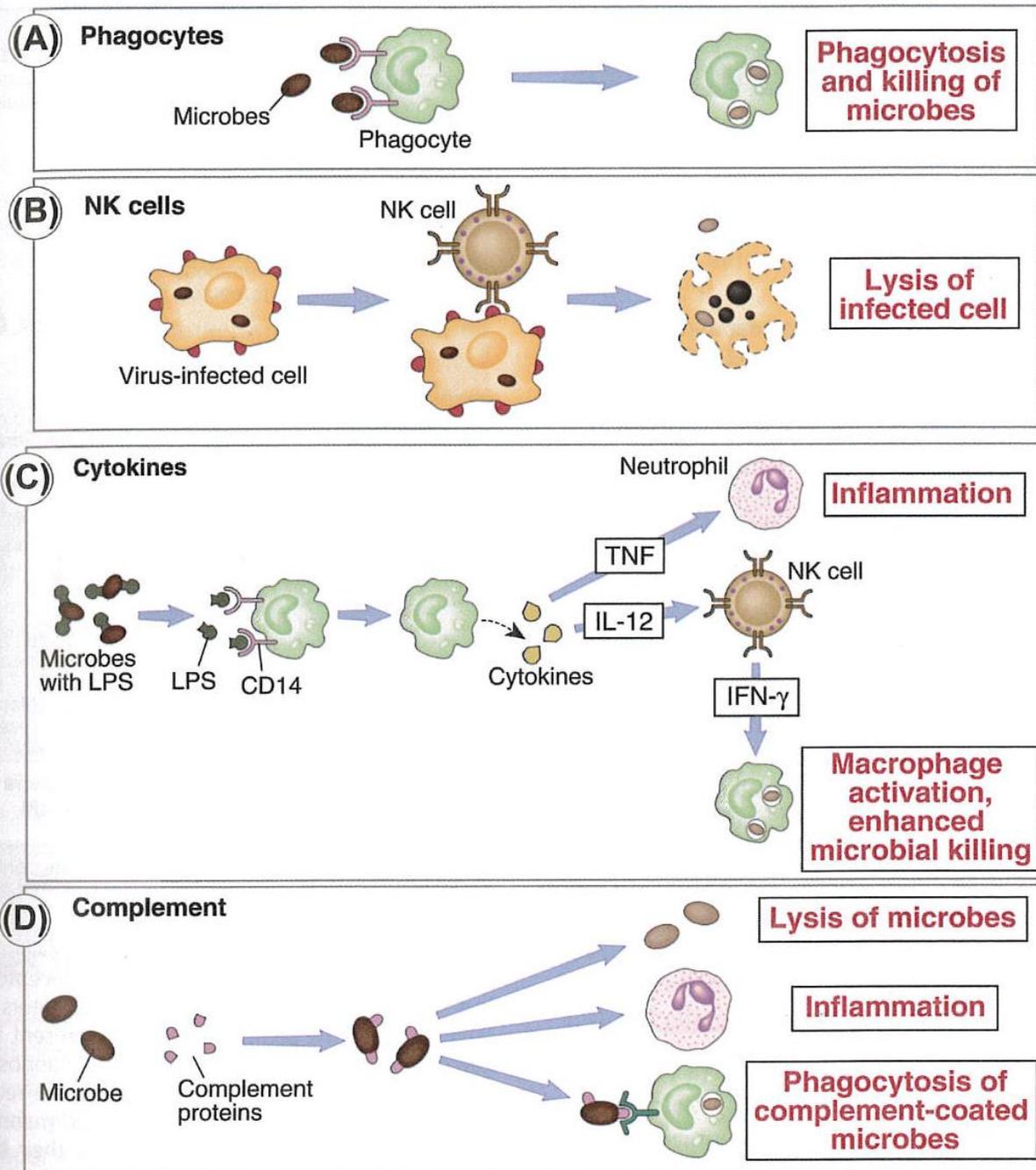
Degré et étendue de la FBR dépend de plusieurs propriétés des dispositifs :

- *Composition*
- *Durée du contact*
- *Niveau de dégradation*
- *Morphologie*
- *Porosité*
- *Rugosité*
- *Forme, taille*
- *Stérilité*
- *Chimie de surface*



NATURE REVIEWS | MATERIALS
VOLUME 1 | JULY 2016 | 1

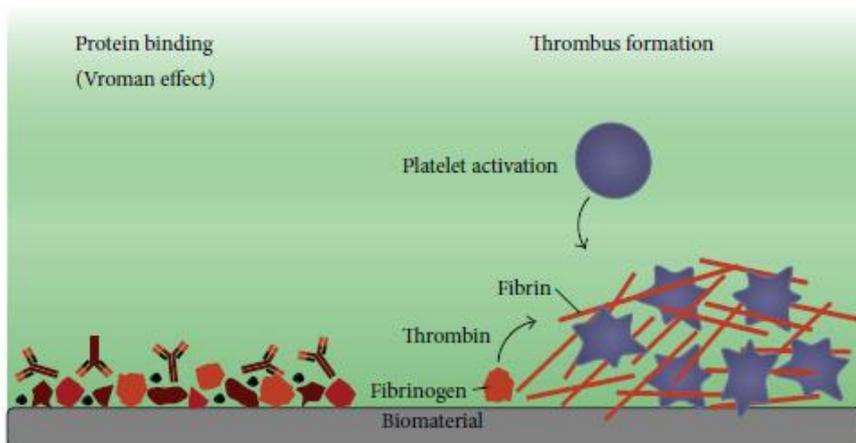




1/ Adsorption protéique à la surface du matériau

Dans les premières secondes après l'implantation
Spontanée et rapide

Effet Vroman : adsorption/désorption de protéines sur une surface



Formation d'un thrombus qui fournit une matrice provisoire autour du biomatériau : activation plaquettaire et accumulation de fibrine et de fibrinogène



Favoriser l'adhésion cellulaire
→ recrutement de cellules immunitaires

Protéines impliquées :

Albumine
Fibrinogène
Fibronectine
Vitronectine
γglobuline
Protéines du complément
Protéines immunomodulatrices

liaisons électrostatiques
Interactions hydrophobes

Développement de la phase aiguë inflammatoire

a-Concept d'adsorption protéique

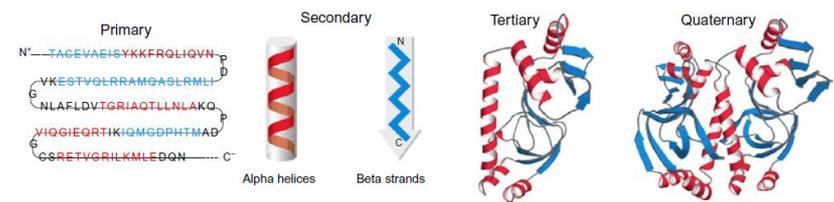
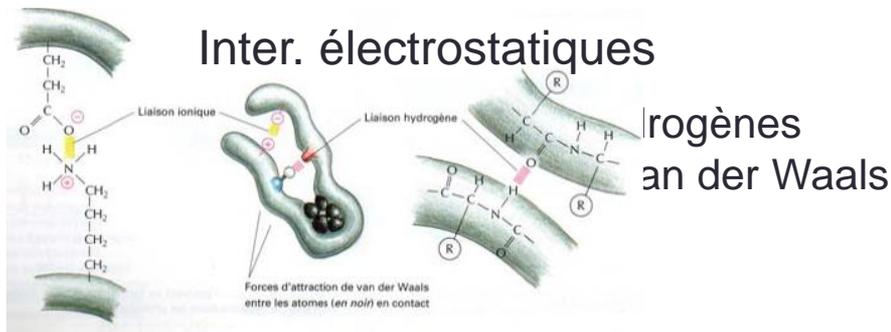


Fig. 1.2 Representation of the four levels of the proteins' structure [13].

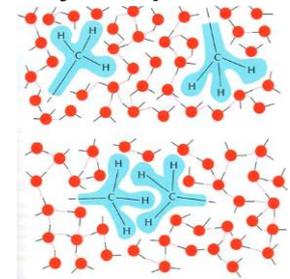
Adsorption chimique = attraction d'une molécule vers une surface solide grâce à des interactions chimiques entre la surface solide et la molécule adsorbée.

Adsorption des protéines se distingue de l'adsorption des petites molécules par la *grande taille de l'adsorbat* et par le fait que les **protéines adsorbées peuvent subir des modifications**

Quatre classes d'interactions :



Inter. hydrophobes



▶ **liaisons électrostatiques** : mécanisme le plus évident

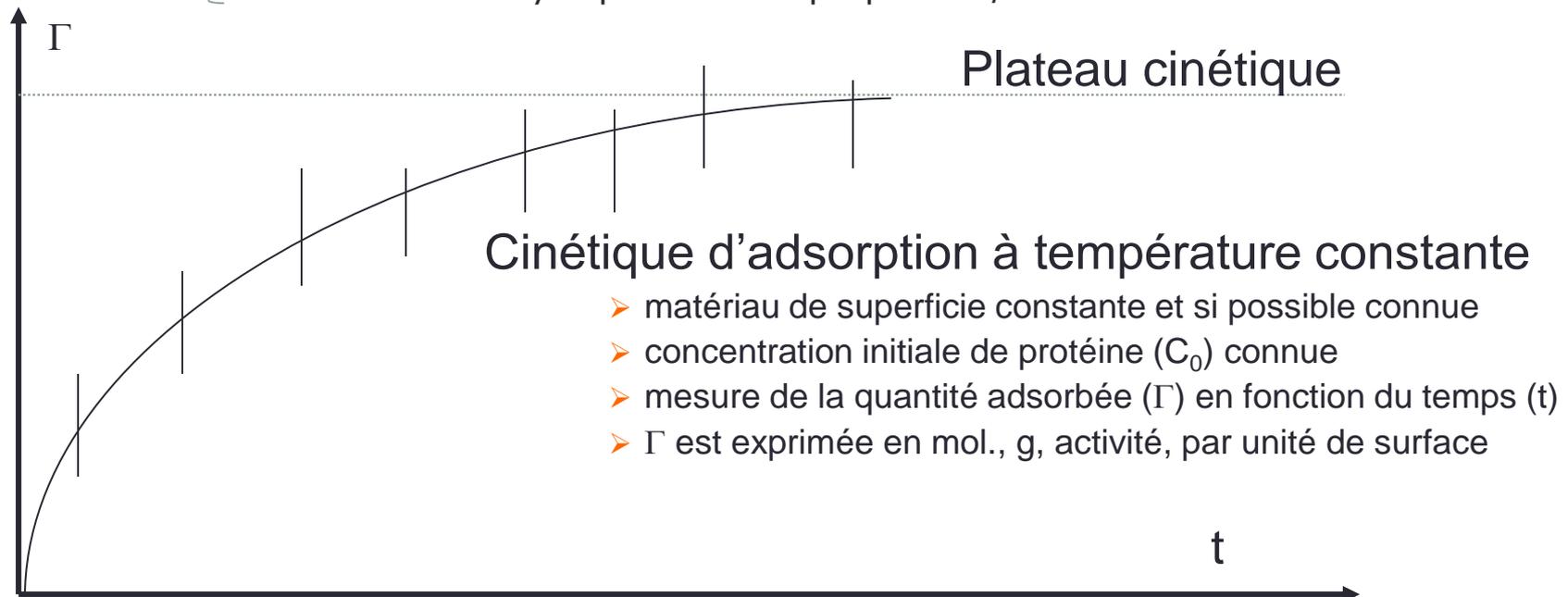
Par exemple, au pH sanguin normal, les protéines plasmatiques sont chargées négativement →
iront se fixer sur des surfaces cationiques
Généralement irréversibles ou au mieux partiellement irréversibles

▶ **Interactions hydrophobes** entre domaines hydrophobes des protéines et les surfaces hydrophobes (effet de solvant)

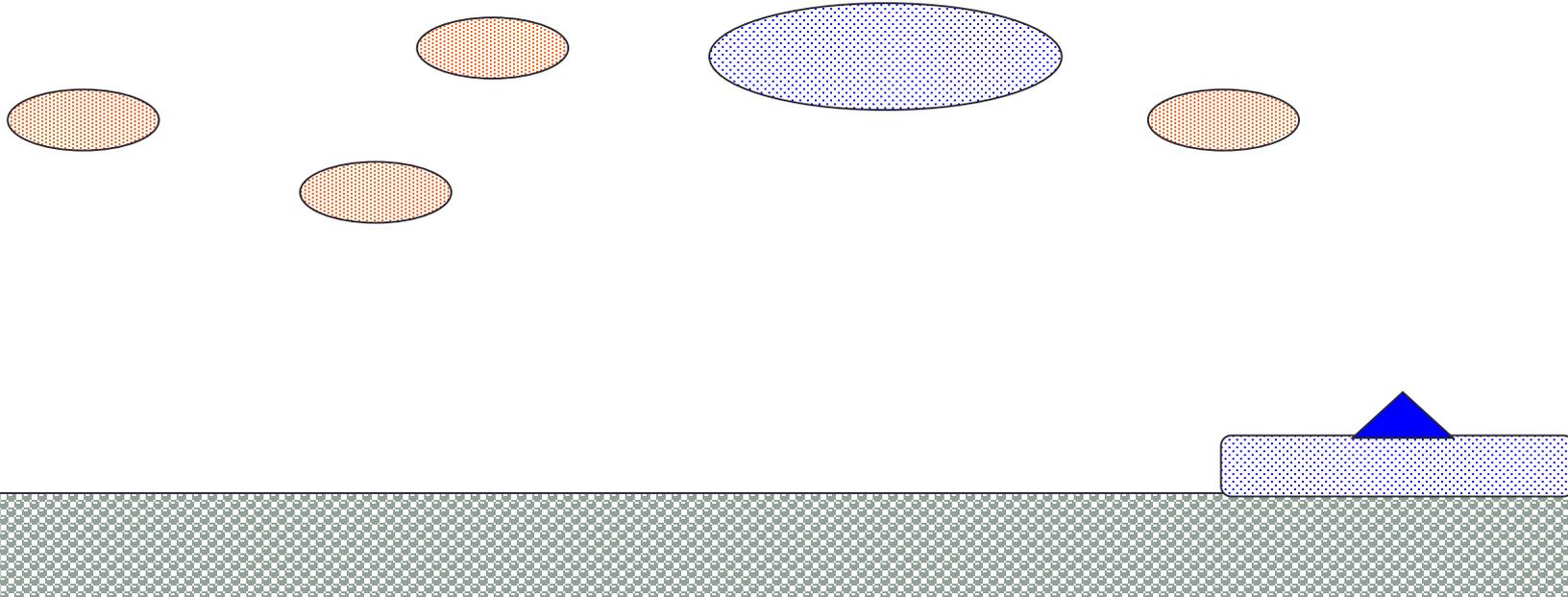
b-Adsorption d'une protéine en solution

Règles simples

- ❑ L'adsorption est en général rapide (de quelques min à 1 h)
 - premiers stades gouvernés par la diffusion
 - puis par l'affinité
- ❑ L'adsorption est maximale au pH isoélectrique de la protéine (maximum de compacité de la protéine)
- ❑ L'irréversibilité de l'adsorption augmente avec
 - le temps de contact
 - la taille de la protéine
 - le caractère hydrophobe du couple protéine/surface



The Vroman effect



Séquence des protéines plasmatiques retrouvées sur le verre :
Alb \Rightarrow IgG \Rightarrow Fibrinogène \Rightarrow Fibronectine \Rightarrow Kininogène de haut poids moléculaire \Rightarrow Factor XII

Une protéine peut être déplacée par une plus grosse ou plus affine
La conformation des protéines peut changer lorsqu'elles s'adsorbent

The Vroman effect

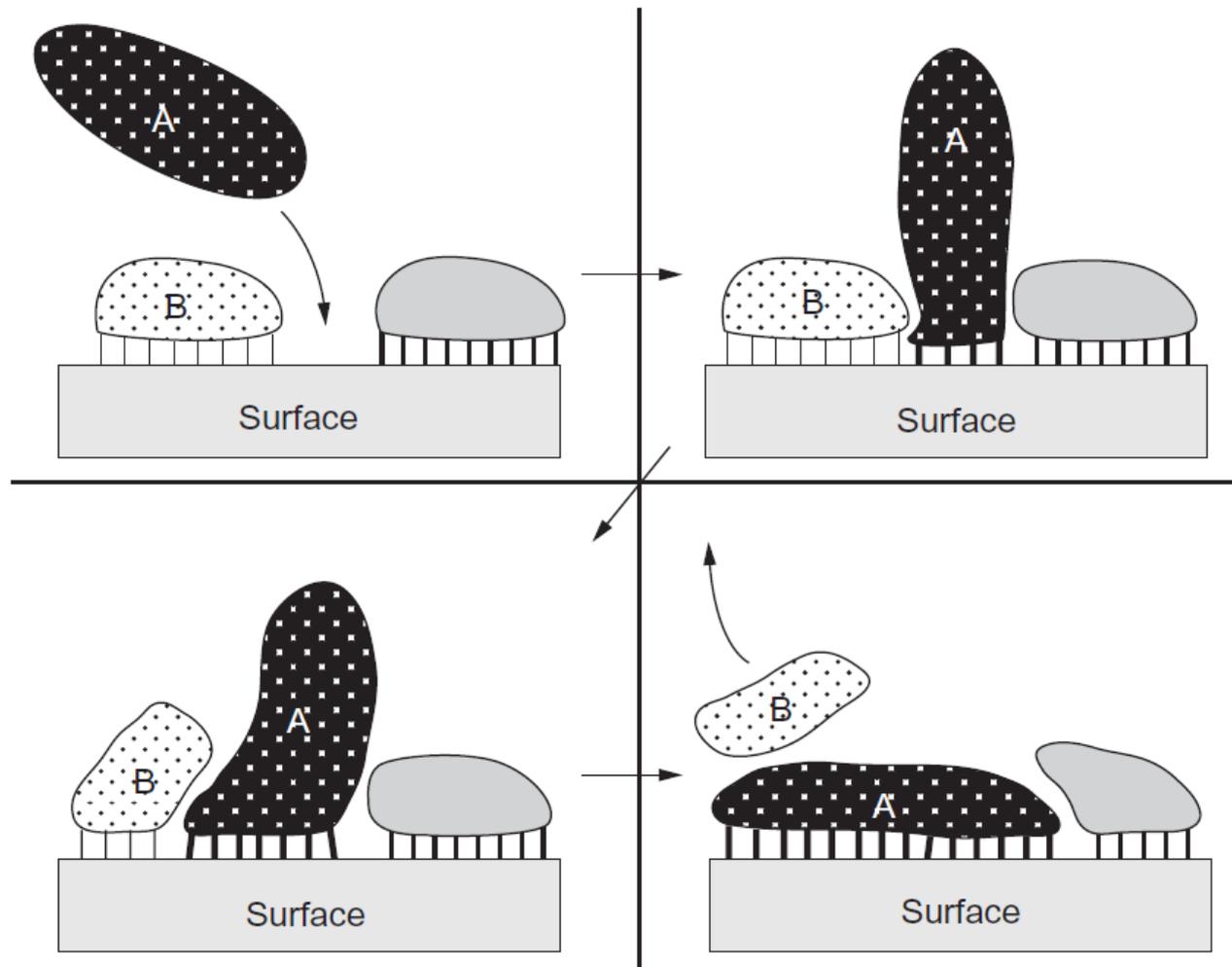
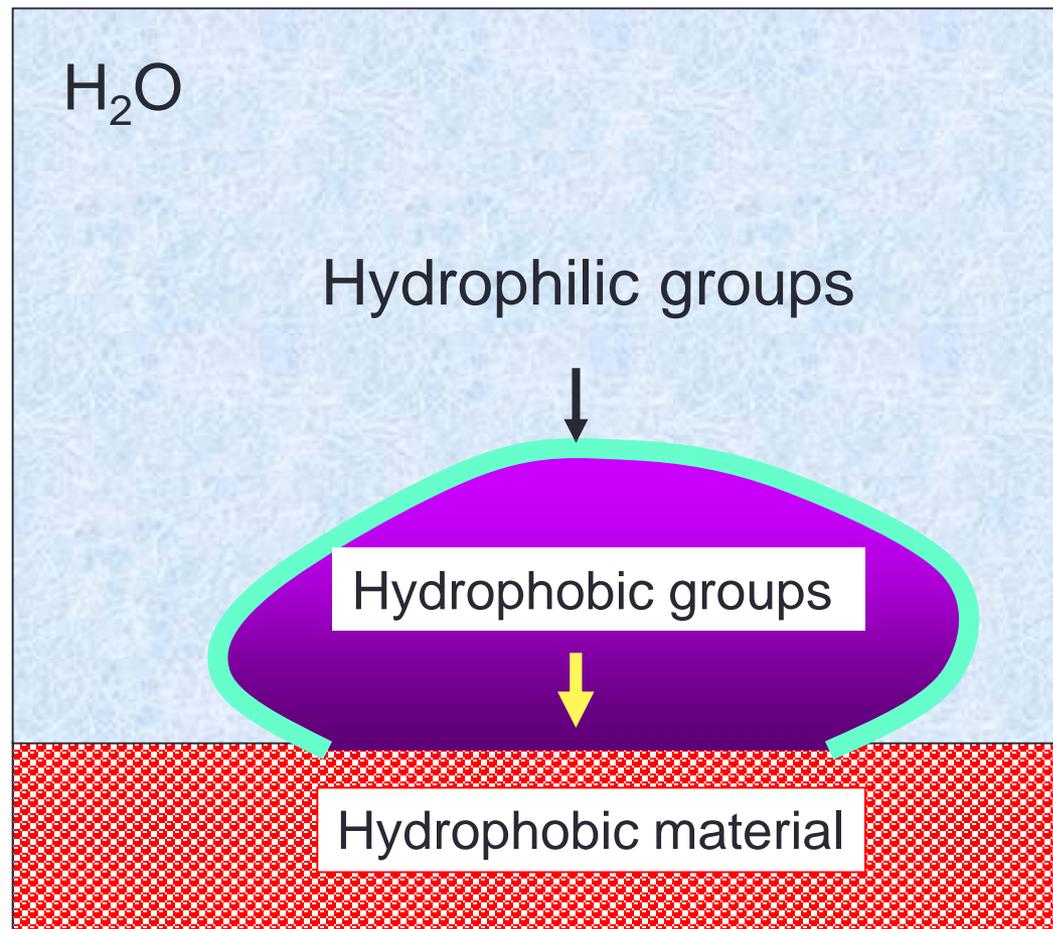
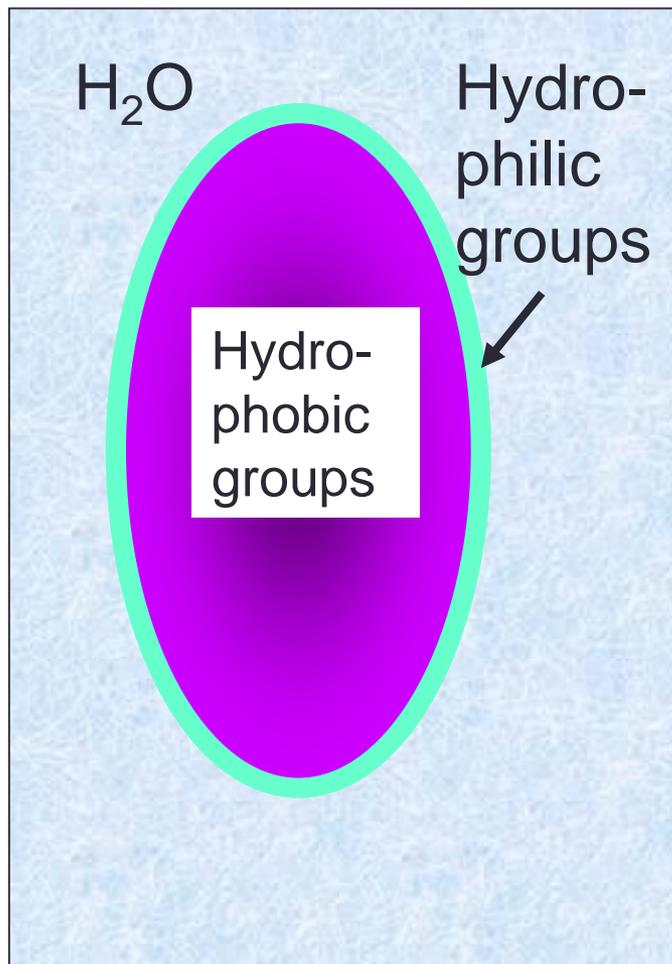
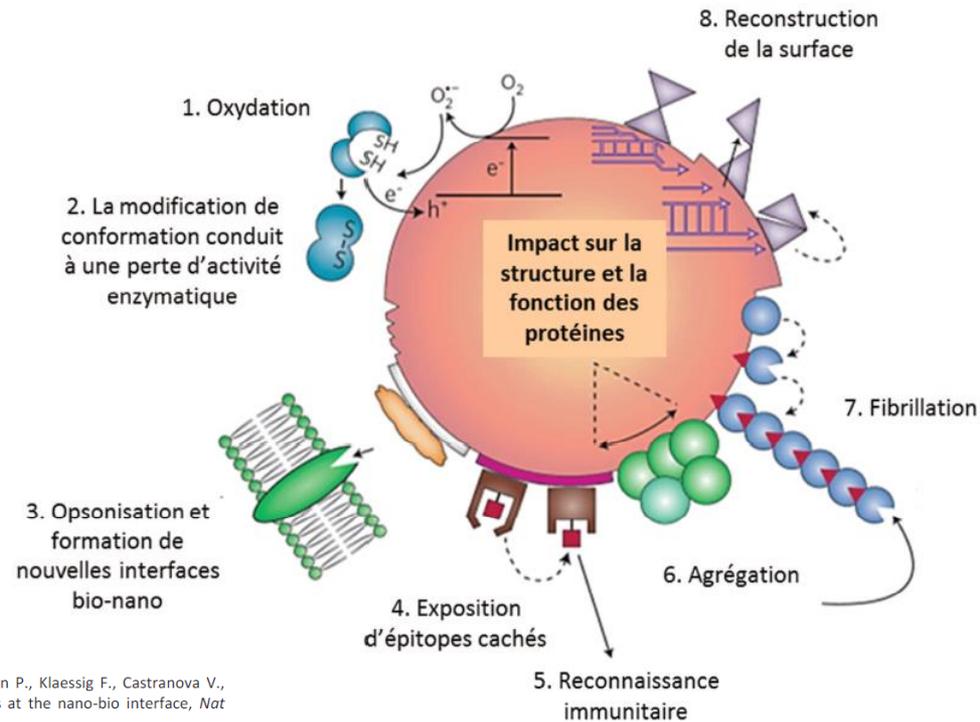


Fig. 1.4 Representation of the Vroman effect, with protein B that arrives first to the surface being displaced by protein A, which creates more stable bonds with the surface available binding sites [4].

Changements conformationnels des protéines adsorbées sur une surface hydrophobe



Impact de l'interaction matériau/protéines sur les protéines

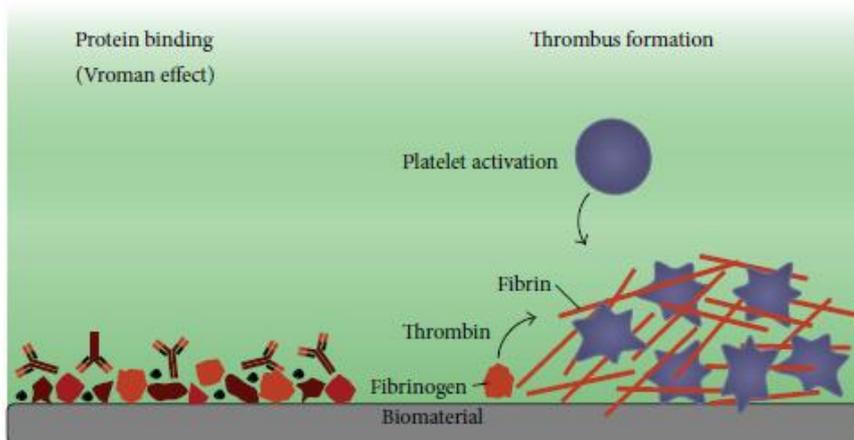


Nel A. E., Madler L., Velegol D., Xia T., Hoek E. M. V., Somasundaran P., Klaessig F., Castranova V., Thompson M. (2009) Understanding biophysicochemical interactions at the nano-bio interface, *Nat Mater* 8, 543-557.

1/ Adsorption protéique à la surface du matériau

Dans les premières secondes après l'implantation
Spontanée et rapide

Effet Vroman : adsorption/désorption de protéines sur une surface



Formation d'un thrombus qui fournit une matrice provisoire autour du biomatériau : activation plaquettaire et accumulation de fibrine et de fibrinogène



Favoriser l'adhésion cellulaire
→ recrutement de cellules immunitaires

Protéines impliquées :

- Albumine
- Fibrinogène
- Fibronectine
- Vitronectine
- γglobuline
- Protéines du complément
- Protéines immunomodulatrices

liaisons électrostatiques
Interactions hydrophobes

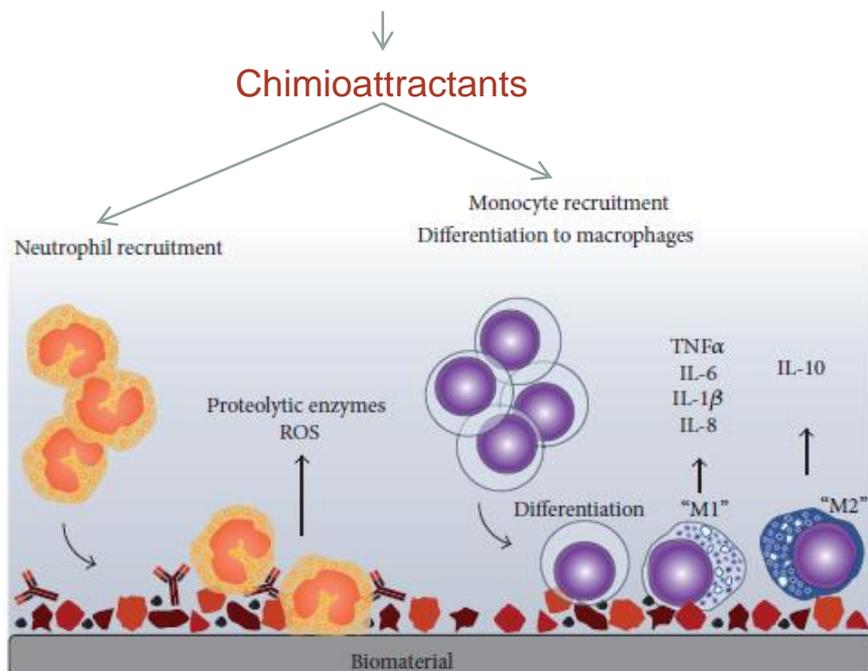
Développement de la phase aiguë inflammatoire

1/ Adsorption protéique à la surface du matériau

2/ Cascade inflammatoire aiguë

Libération de signaux de danger par cellules lésées
+ Plaquettes activées et cellules endothéliales

Qqs heures à qqs jours



Au niveau du site d'implantation

But : dégrader le matériau

M1 → M2

Pro-inflammatoire +
phagocytose « frustrée »
Activité de dégradation
augmentée (ROS, ...)

Faible capacité de dégradation +
cytokine anti-inflammatoire

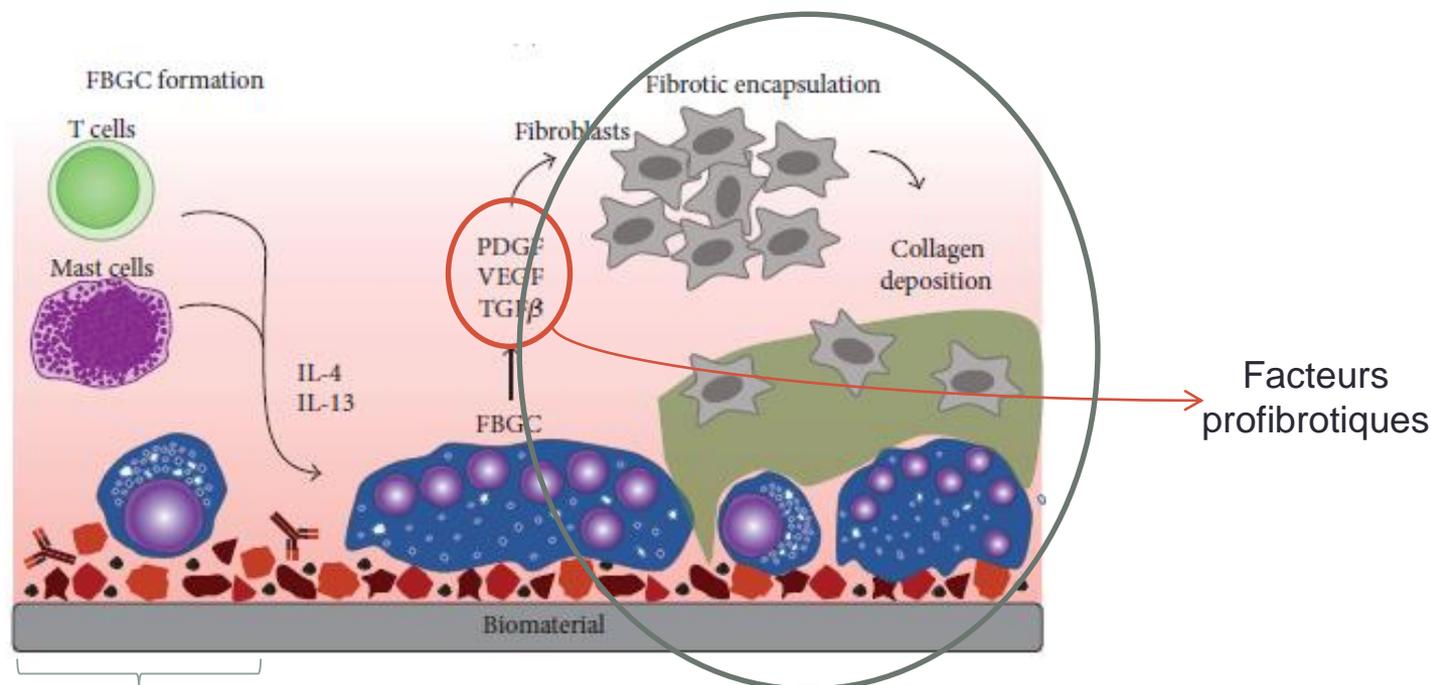
Environnement pro-dégradation à la
surface du matériau

Remodelage tissulaire

Phagocytose impossible → fusion des macrophages à la surface du matériau

Formation des « Foreign Body Giant Cells »

3/ Inflammation chronique



Cellules provoquant la formation des FBGC

Isolement du biomatériau du tissu hôte par son encapsulation dans un système fibrotique (dépôt de collagène dans le but de réparer le tissu lésé mais fibrose car en excès)

→ Capsule autour du matériau

Exemple de « foreign body giant cells » sur un implant cochléaire

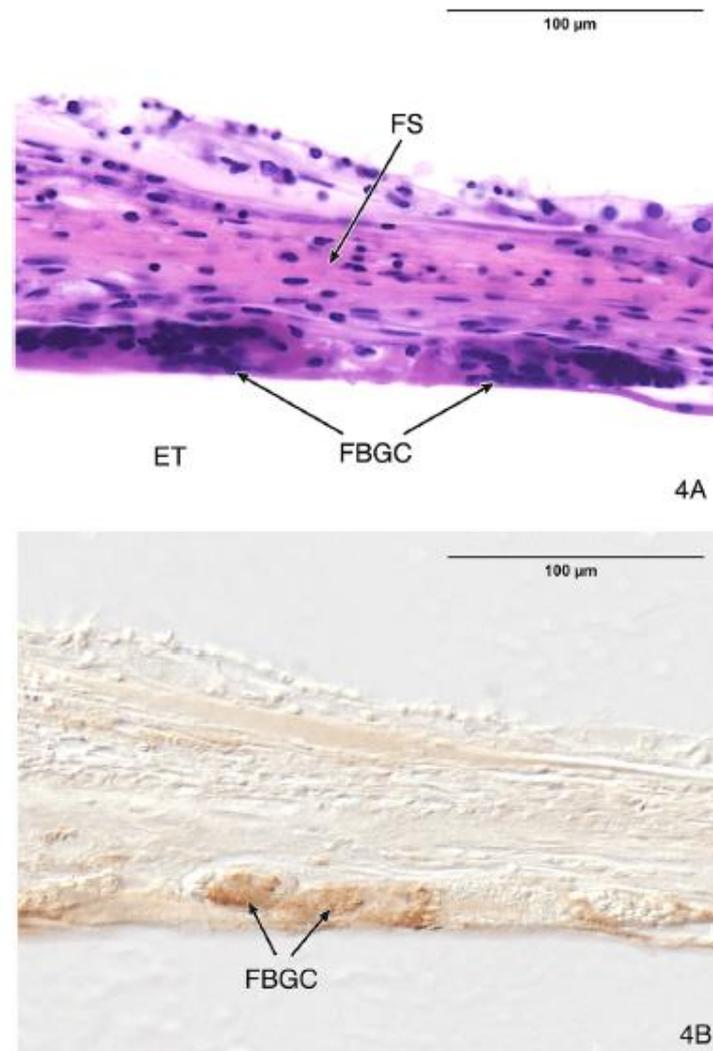
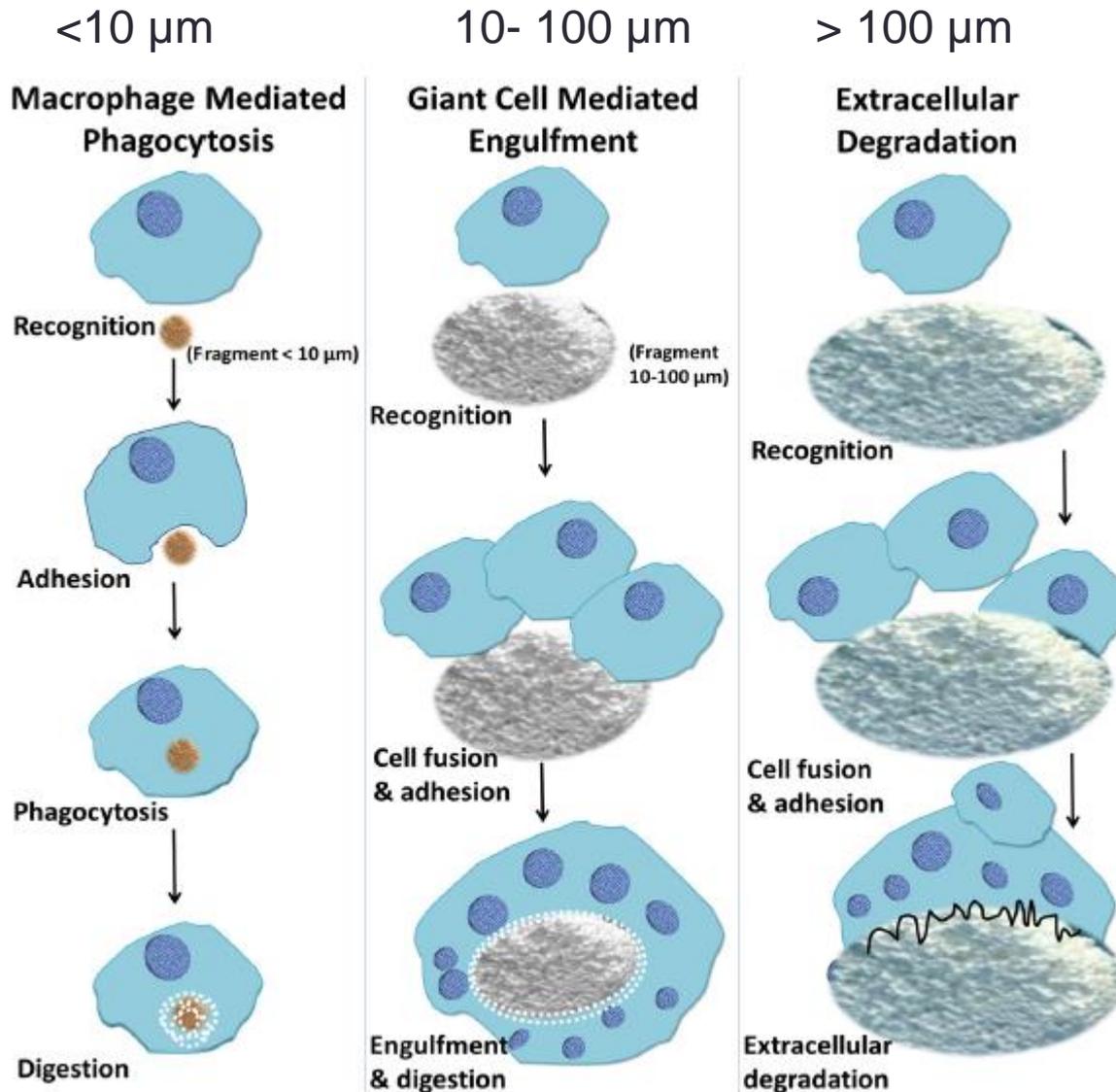


Fig. 4. A. The fibrous sheath surrounding the electrode track in case #4, left ear. There were multinucleated foreign body giant cells (FBGC) between the fibrous sheath (FS) and the electrode track (ET). B. The foreign body giant cells (FBGC) were immunostained using anti CD-68 antibody.

Influence de la taille du biomatériau sur les capacités de phagocytose des macrophages



1. Injury

2. Blood-biomaterial interaction

3. Provisional matrix formation

4. Acute inflammation

5. Chronic inflammation

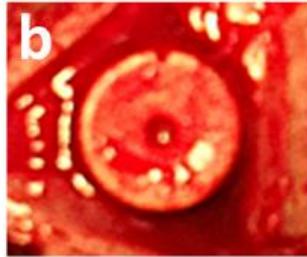
6. Granulation tissue

7. Foreign body reaction

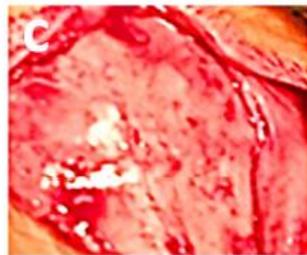
8. Fibrous capsule formation



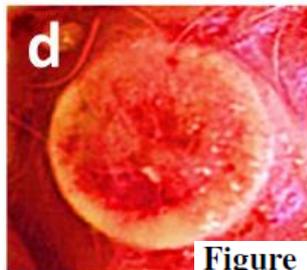
Implantation



Interaction sang-biomatériau



Tissu inflammatoire



Implant emprisonné dans une capsule fibreuse

Figure 1. The sequence of host reactions upon implantation of biomaterial device *in vivo*. (a) Surgical incision and implant being placed causing injury; (b) blood-biomaterial interaction upon implantation; (c) inflamed soft tissue; (d) implant enclosed by fibrous capsule.

Revêtements biocompatibles du matériau : masquer la surface de contact



Rendre l'interface dispositif/tissu plus hydrophile



Minimiser les réactions tissulaires



Améliorer la fonctionnalité du dispositif et sa durée de vie

Quelques exemples de modifications de surface et leurs conséquences sur la réponse biologique

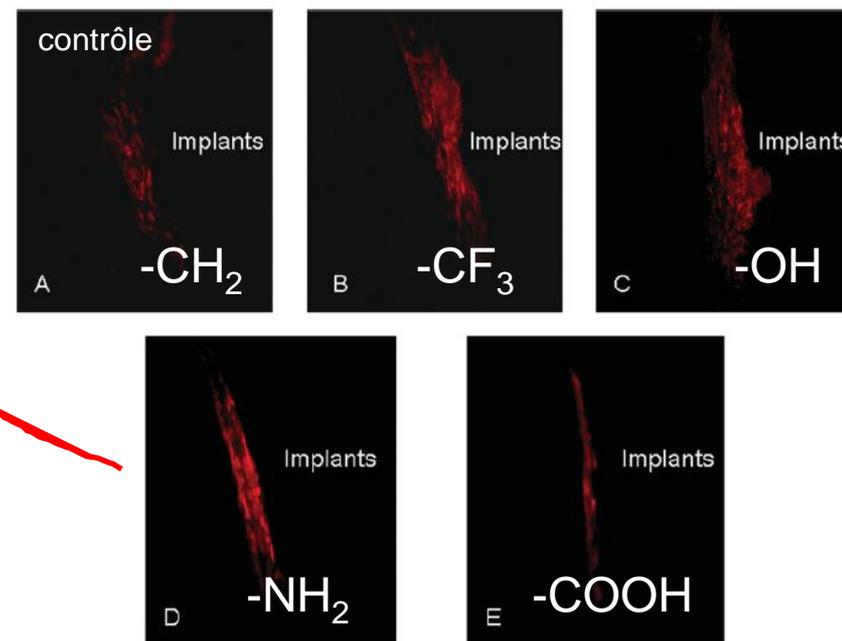
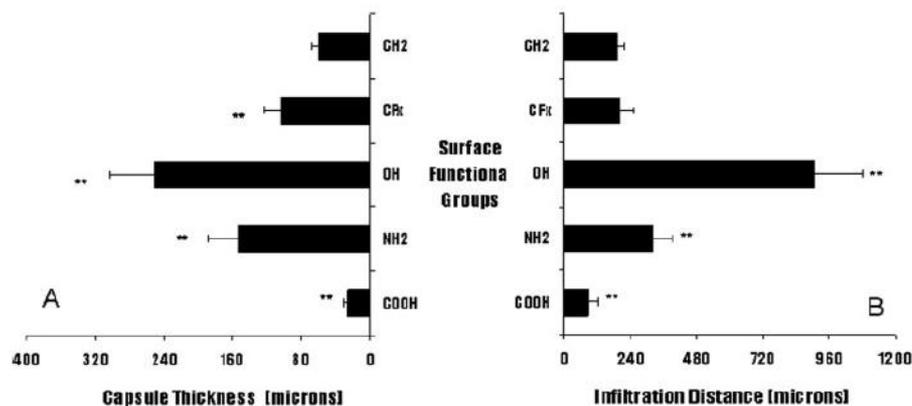
- Microsphères (sous-cutanées)
- Implant osseux
- Scaffolds (régénération tissulaire)
- Prothèses vasculaires

Modifications de surface de microsphères de polypropylène pour implantation sous-cutanée chez la souris

TABLE I
Monomers and Plasma Conditions Employed in Depositing Polymer Films on the Polypropylene Particles

Monomer Name	Plasma Condition	Water Contact Angle (°)	Surface Chemistry	Nature of Surface
Di(ethylene glycol) vinyl acetate	20/300, 33.7 W, 60 mTorr, 60 min	45	-OH	Hydrophilic
Ethylene diamine	15/35, 200 W, 78-80 mTorr, 15 min	12-14	-NH ₂	Hydrophilic, cationic
Perfluorohexane	25/200, 200 W, 200 mTorr, 30 min	135	-CF ₃	Hydrophobic
Vinyl acetic acid	0.75/20, 200 W, 80 mTorr, 15 min	29-30	-COOH	Hydrophilic, anionic

Analyse des tissus 2 semaines post-implantation



Infiltrat de Phagocytes : cellules CD11b⁺

Corrélation entre réaction fibreuse et profondeur d'infiltration cellulaire :

-NH₂ > -OH > -CF₃ > -CH₂ > -COOH

Réponse inattendue : il est établi que -OH réduit adsorption protéique et l'adhésion cellulaire

Conclusion : Fonctionnalisation de la surface des microsphères a un profond impact sur la réponse tissulaire comme le montrent l'épaisseur de la capsule et l'infiltration cellulaire autour de l'implant.

Modifications de surface → Action sur les propriétés fonctionnelles des cellules

Cellules ostéoblastiques
(synthèse de la matrice osseuse et minéralisation)

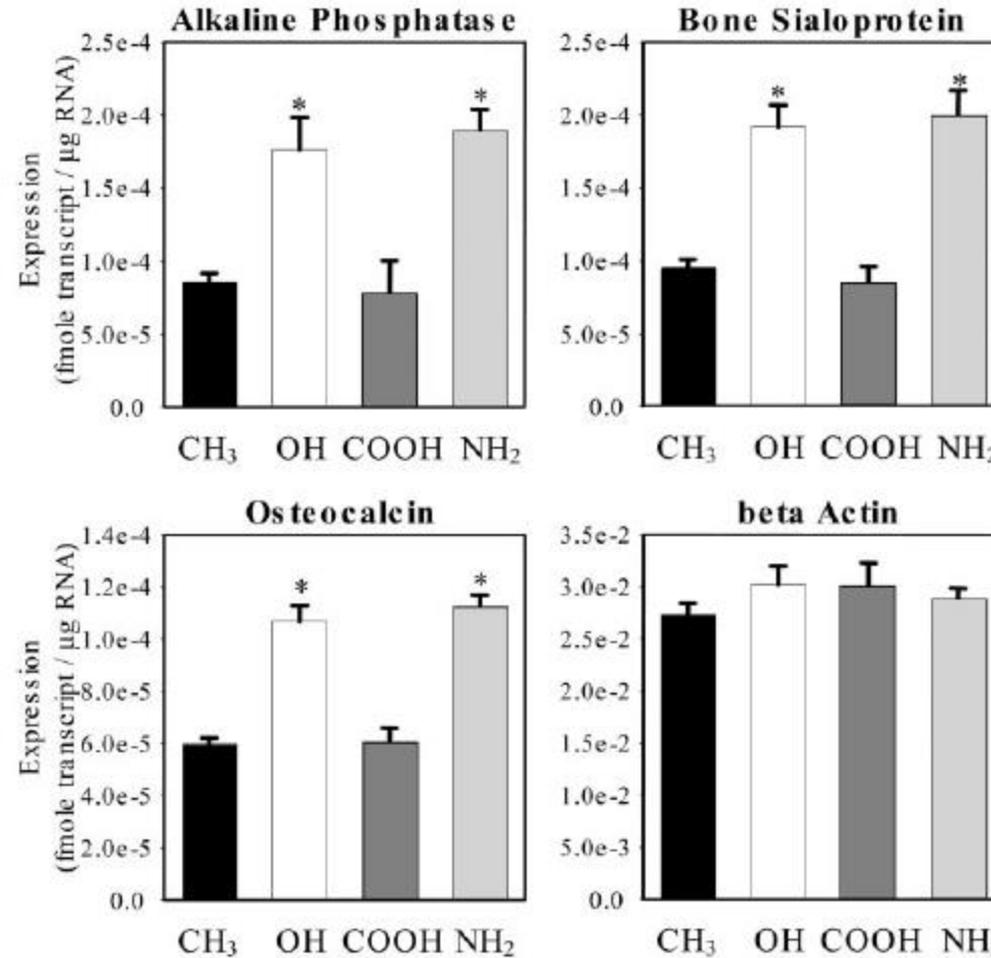
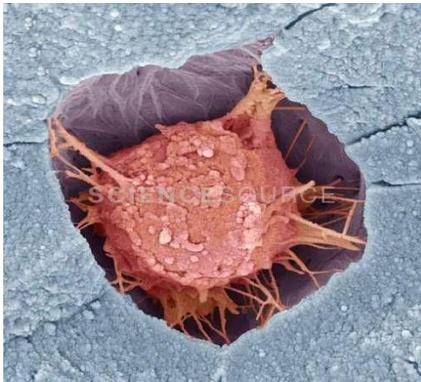


Fig. 2. Surface chemistry modulates osteoblastic gene expression. MC3T3-E1 cells were cultured on SAMs coated with equivalent FN surface densities (40 ng/cm²). Osteoblast-specific gene expression at 7 days was quantified by real-time RT-PCR (*vs. CH₃ and COOH, P < 8 × 10⁻⁶). Data are plotted as mean ± SE.

Se servir de la
FBR pour
régénérer un
tissu

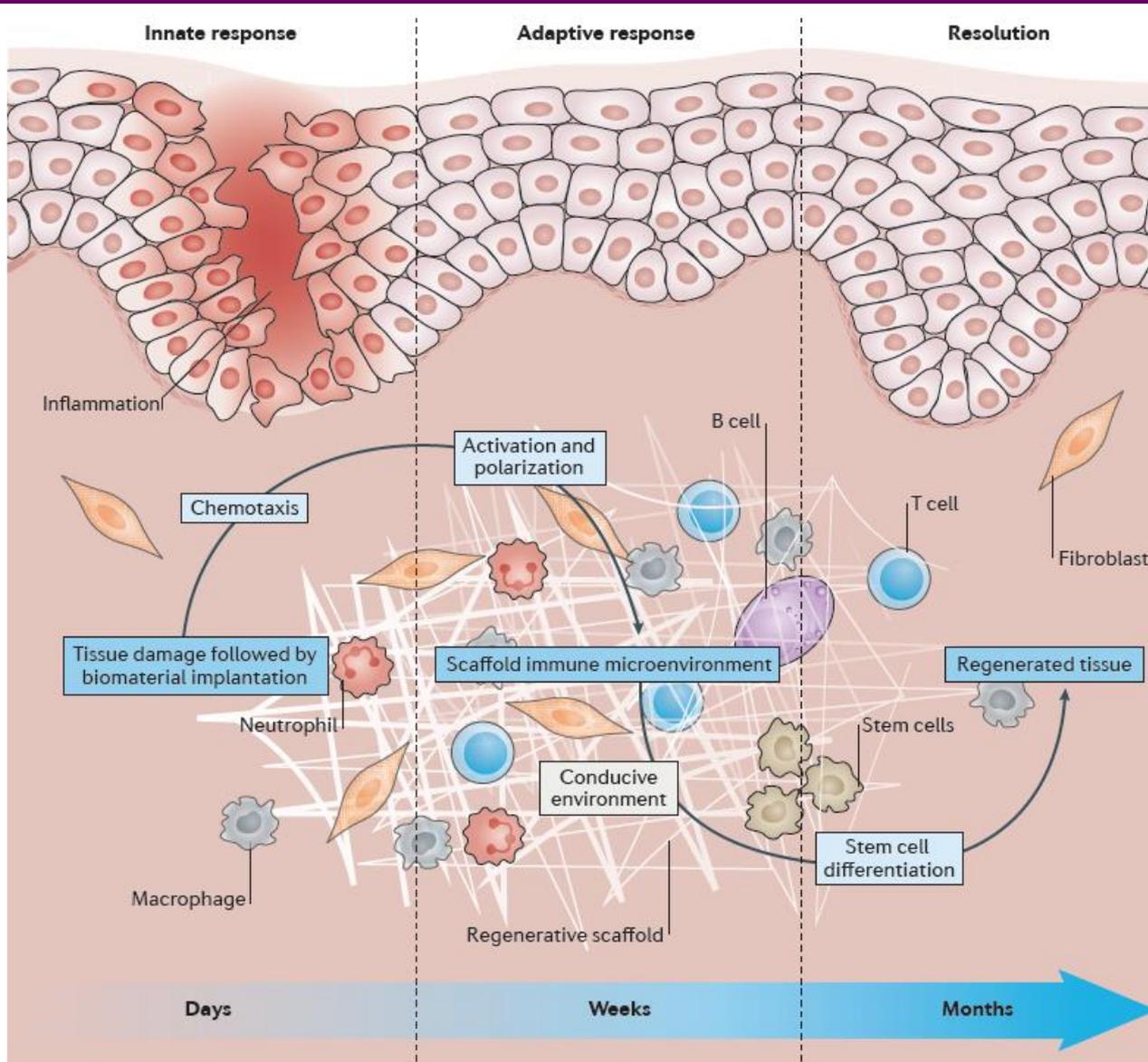


Figure 3 | **Regenerative immunology and the associated role of biomaterials.** Signals associated with injury (and the implantation of a scaffold) first bring innate immune cells to the region and activate local cells; this is followed by activation and polarization of adaptive immune cells. Depending on the phenotype of these immune cells, their interaction with other cell types, such as stem cells, and cues from the local microenvironment (including the biomaterial scaffold), either tissue resembling the original host tissue or more fibrous scar tissue can form. Formation of a pro-regenerative immune microenvironment supports the development of proper replacement tissue; however, unbalanced activation of the immune response can produce fibrosis or damaging inflammation.

Notion d'hémocompatibilité

Biomatériaux au contact du sang doivent satisfaire 3 exigences :

- 1- Ne pas être à l'origine de la génération de **thrombine**
- 2- Ne pas avoir de propriétés adhésives vis-à-vis des **plaquettes** / ne pas induire d'agrégation
- 3- Ne pas activer le **système du complément**

Mais...la génération de thrombine est quasiment inévitable (l'adsorption protéique en surface du matériau active la cascade de coagulation)

La seule façon d'obtenir un matériau à surface réellement hémocompatible serait de le recouvrir d'un endothélium fonctionnel!

Endothélialisation d'une prothèse vasculaire

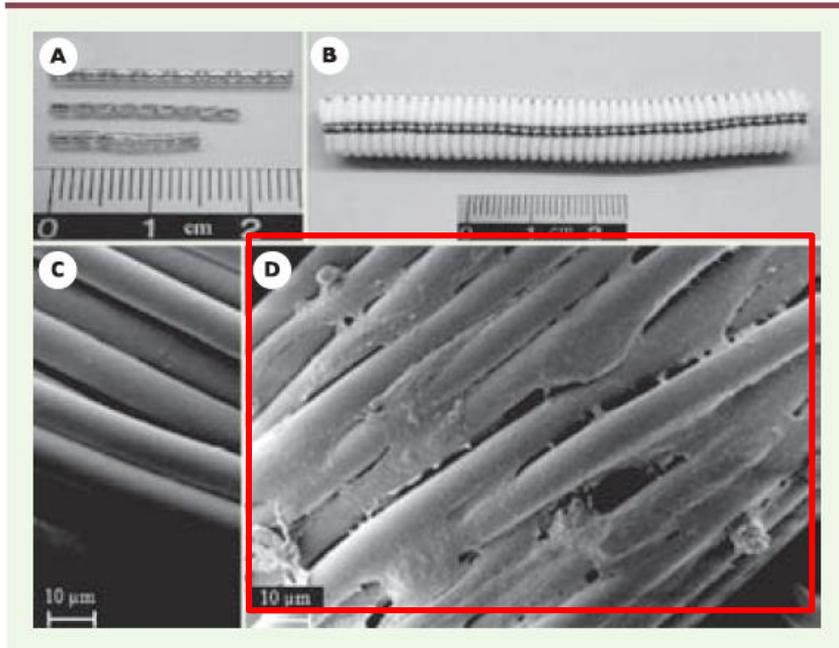
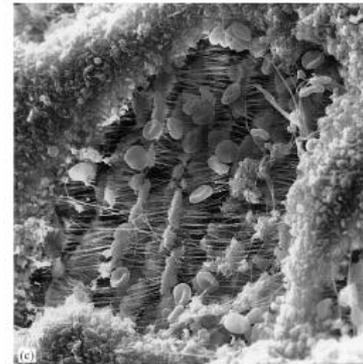


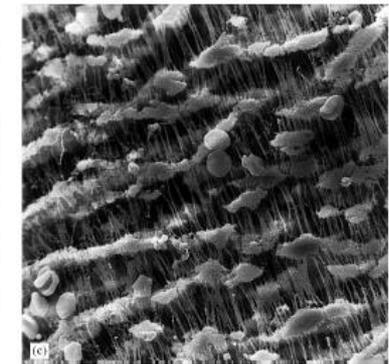
Figure 2. Exemple de prothèses vasculaires et de leur recouvrement. (A) Endoprothèses métalliques (stents). (B) Prothèse vasculaire en polyéthylène téréphtalate (PET ou Dacron®). Microscopie électronique à balayage avant (C) et après (D) recouvrement d'une prothèse en Dacron® par des polymères et croissance *in vitro* de cellules endothéliales humaines.

Thrombogenicité d'une membrane de recouvrement d'un stent

Réduction de la formation du thrombus



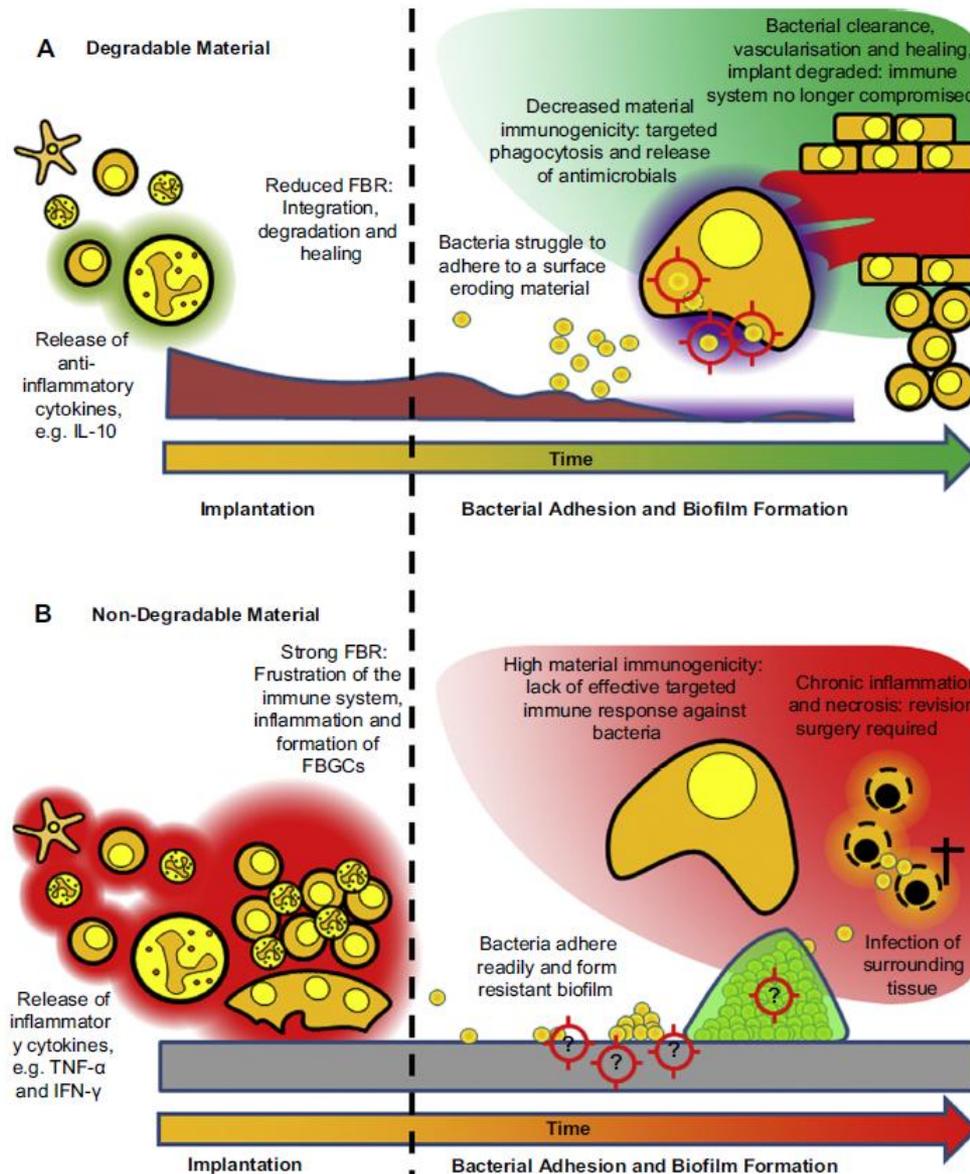
Membrane de PTFE avec à sa surface un thrombus organisé (MEB)



Membrane modifiée avec de l'héparine (MEB)

Hypothèse d'une résistance à l'infection par les *biomatériaux dégradables* vs *non dégradables*

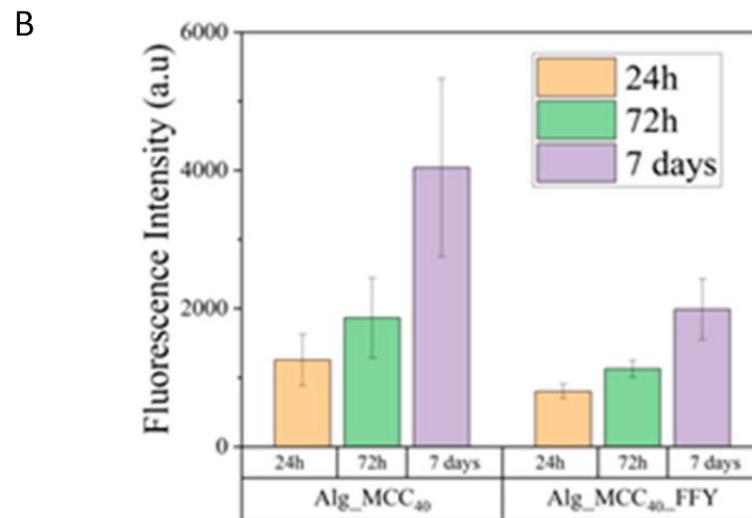
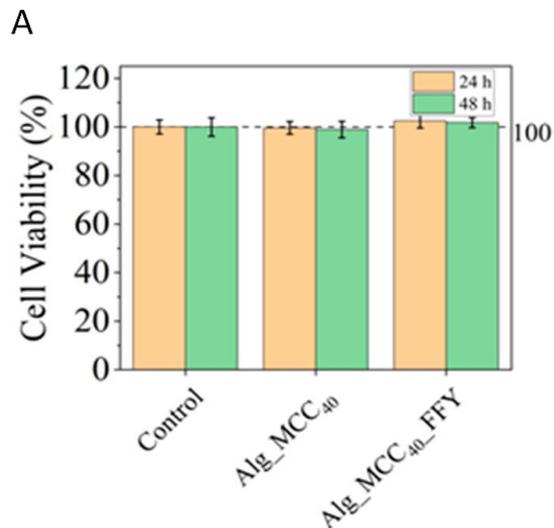
↘ Immunogénicité
Restaurer le
fonctionnement du
système immunitaire



Amélioration de la
vascularisation
→ Clearance
bactérienne et
infiltration
lymphocytaire
possible

Question 1 : donner la définition de la biocomptabilité d'un biomatériau. Quelle réaction biologique est mise en jeu lors de l'implantation d'un biomatériau sous la peau, par exemple ?

Question 2 : La viabilité des cellules MG63 au contact des échafaudages (scaffolds) 3D d'hydrogels (Alg_MCC40 et Alg_MCC40_FFY) pendant 24 et 48h a été mesurée et exprimée en pourcentage de la viabilité des cellules contrôles (A). La prolifération des cellules au contact des scaffolds 3D d'hydrogels (Alg_MCC40 et Alg_MCC40_FFY) ont été déterminées après 24, 72h et 7 jours. La fluorescence émise suite à la métabolisation de ce réactif est proportionnelle au nombre de cellules présentes (B).



Décrivez brièvement les résultats obtenus et concluez sur l'intérêt des échafaudages 3D à base d'alginate sur la viabilité et la prolifération des cellules MG-63.