



Comportement à la fatigue et à l'usure des biocéramiques utilisées dans la conception des prothèses ostéoarticulaires

Marwa Ben Braham

► To cite this version:

Marwa Ben Braham. Comportement à la fatigue et à l'usure des biocéramiques utilisées dans la conception des prothèses ostéoarticulaires. Biomécanique [physics.med-ph]. Université de Lyon; École nationale d'ingénieurs de Tunis (Tunisie), 2021. Français. NNT : 2021LYSEI070 . tel-03624481

HAL Id: tel-03624481

<https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-03624481>

Submitted on 30 Mar 2022

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



N°d'ordre NNT : 2021LYSEI070

THESE de DOCTORAT DE L'UNIVERSITE DE LYON

opérée au sein de

INSA Lyon

En cotutelle internationale avec

Ecole Nationale des Ingénieurs de Tunis

Ecole Doctorale ED 162

MÉCANIQUE, ÉNERGÉTIQUE, GÉNIE CIVIL, ACOUSTIQUE

Spécialité / discipline de doctorat :

Biomécanique

Soutenue publiquement le 03/11/2021, par :

Marwa BEN BRAHAM

Comportement à la fatigue et à l'usure des biocéramiques utilisées dans la conception des prothèses ostéoarticulaires

Devant le jury composé de :

NASRI Rachid
ZNAIDI Amna
AZARI Zitouni
DENAPE Jean
TRUNFIO-SFARGHIU Ana Maria
HAMZA Samir

Professeur des Universités
Maître de conférences HDR
Professeur des Universités
Professeur des Universités
CR CNRS HDR
Maître de conférences HDR

ENITunis
IPEI ElManar
ENIMetz
ENITarbes
INSA Lyon
INSAT

Présidente
Rapporteuse
Rapporteur
Examineur
Directrice
Directeur

À mes chers parents

Mes frères

Youssef

REMERCIEMENTS

Ce travail entre dans le cadre d'une collaboration impliquant quatre laboratoires : le Laboratoire de Mécanique des Contacts et des Structures (LaMCoS, INSA de Lyon), l'Institut de Chimie et Biochimie Moléculaires et Supramoléculaires (ICBMS, Université Claude Bernard Lyon 1), le Centre Ingénierie et Santé (École des Mines de Saint-Étienne) et l'Unité de Recherche de Nanobiotechnologie et Valorisation des Phytoressources Médicinales (INSAT, Université de Carthage). Je présente ma gratitude à tous les membres de ces institutions qui m'ont accueilli tout au long de la période de préparation de ma thèse de doctorat.

Je remercie vivement mes directeurs de thèse : Monsieur Samir HAMZA et Madame Ana-Maria TRUNFIO SFARGHIU pour leur soutien, leur confiance et leur encadrement scientifique dans le domaine biomédical et pour m'avoir offert la possibilité de découvrir le monde de la recherche.

Je remercie également Madame Saida MEBAREK, Madame Leyre BRIZUELA et Madame Carole BOUGAULT de l'ICBMS pour leur accompagnement et leur aide durant les tests biologiques. Mes remerciements vont aussi à Monsieur Eric RENAULT de Wright Group pour son implication en tant que fournisseur des implants de tests. Un grand merci à Monsieur Jean GERINGER pour les particules et les échantillons et surtout pour son soutien et ses conseils.

Je tiens à remercier également les différents membres du jury qui ont bien voulu jugé mon travail...

Merci aux collègues des équipes que j'ai fréquentés : Amira HANNOUN, Rabii JAZA, Nessrine DARRAGI, Alaeddine EL JAMAL, Eymard HOUARA KOMBA, Mirela-Maria SAVA, ... pour leur gentillesse et leur aide au cours de mes séjours à l'INSA Lyon.

Je tiens à remercier toutes les personnes qui m'ont aidée afin que ce travail soit possible.

TABLE DES MATIÈRES

INTRODUCTION GÉNÉRALE.....	1
CHAPITRE I : SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE	5
I. La prothèse de hanche.....	6
I. 1. Données anatomiques de l'articulation coxo-fémorale.....	6
I.2. Évolution temporelle des prothèses totales de hanche.....	14
I.2.3. Complications et révision de l'articulation coxofémorale	18
I.3. Couples prothétiques et usure au niveau de la hanche.....	20
II. Le couple Céramique-Céramique dans les prothèses totales de hanche	21
II.1. Généralités sur le couple CoC	21
II.2. L' Alumine (Al_2O_3) en tant que biomatériau.....	23
II.3. La Zircone (ZrO_2) en tant que biomatériau	24
II.4. Les composites d' Alumine-Zircone biomédicale.....	26
II.5. Complications liées aux couples CoC d'une PTH.....	28
III. Outils pour l'étude du comportement tribologique du couple CoC	31
III.1. Principes de la tribologie.....	32
III.2. Outils conceptuels en tribologie	33
III.3. La biotribologie	37
IV. Conclusion	38
CHAPITRE II : MATÉRIELS ET MÉTHODES.....	41
I. Implants utilisés	42
II. Méthodes de caractérisation des biomatériaux.....	43
II.1. Le profilométrie optique exploité.....	43
II.2. La microscopie Électronique à Balayage (MEB).....	44

II.3. La microscopie à fluorescence	45
III. Le simulateur de marche	47
IV. Culture cellulaire.....	49
IV.1. Préparation des particules céramiques	49
IV.2. Extraction des particules céramiques.....	50
IV.3. Préparation et extraction des particules UHMWPE.....	51
IV.4. Protocole de la culture cellulaire.....	52
V. Procédures de caractérisation biologique des particules	55
V.1. Test de viabilité (MTT)	55
V.2. Tests de minéralisation.....	55
V.3. Analyse histologique	57
V.4. Test d'inflammation : Prostaglandin E2 (PGE2)	58
VI. Analyse statistique des données	58
VII. Conclusion	58
 CHAPITRE III : ÉTUDE TRIBOLOGIQUE DU COUPLE CÉRAMIQUE-CÉRAMIQUE..	61
I. Caractéristiques cliniques des implants analysés.....	62
I.1. Evaluation visuelle.....	63
I.2. Résultats de l'évaluation visuelle.....	64
I.3. Scénario probable.....	66
II. Analyse de la rugosité des implants	66
III. Caractérisation microscopique des surfaces de contact	68
III.1. Observations des surfaces des têtes fémorales.....	68
III.2. Observations des surfaces des cupules.....	69
IV. Interprétation des résultats obtenues	71
V. Conclusion.....	72

CHAPITRE IV : ÉTUDE DE LA RÉPONSE BIOLOGIQUE DE LA BIOCÉRAMIQUE	74
I. Caractérisation des particules UHMWPE.....	75
II. Effets des particules UHMWPE et de céramique sur la viabilité cellulaire	78
III. Caractérisation microscopique des particules de céramique.....	79
IV. Viabilité des chondrocytes en fonction de la taille et le mode de génération des particules céramiques.....	81
V. Capacité de minéralisation des chondrocytes en présence des particules d'usure	82
VI. Analyse de la matrice extracellulaire des membranes des chondrocytes.....	83
VII. Réactions inflammatoires des cellules cultivées en présence de particules	86
VIII. Conclusion.....	87
DISCUSSION	89
CONCLUSION GÉNÉRALE	94
RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES	98
ANNEXE	109

LISTE DES FIGURES

CHAPITRE I :

Figure I. 1. Articulation coxo-fémorale	7
Figure I. 2. Vue du cotyle [3]	8
Figure I. 3. Orientation du cotyle par rapport à la tête fémorale.....	8
Figure I. 4. Ligaments au niveau de l'articulation de la hanche [5].....	9
Figure I. 5. Muscles au niveau de l'articulation de la hanche [5]	10
Figure I. 6. Plans anatomiques du corps humain.....	11
Figure I. 7. Les mouvements de la hanche [7]	12
Figure I. 8. Courbe de la force au niveau de l'articulation de la hanche durant un cycle de marche [11]	13
Figure I. 9. Prothèse des frères Judet [27].....	16
Figure I. 10. Prothèse totale de hanche de Charnley [33]	16
Figure I. 11. Eléments d'une Prothèse Totale de Hanche	17
Figure I. 12. Radiographie de la hanche droite d'une femme de 68 ans 10 ans après une arthroplastie totale de la hanche primaire sans ciment montre une ostéolyse inflammatoire ; la perte osseuse périarticulaire est indiquée par des flèches [49].....	19
Figure I. 13. Radiographie d'une luxation de PTH sur le côté gauche, résultant d'un relâchement du composant acétabulaire. L'infection de la prothèse a entraîné un relâchement du composant acétabulaire et une luxation secondaire [52]	20
Figure I. 14. Microstructure de la 3ème génération de l'alumine, avec une taille moyenne des grains $\leq 2\mu\text{m}$ [89]	24
Figure I. 15. Microstructure de la zircone stabilisée à l'yttrium (Y-TZP) [89]	25
Figure I. 16. Microstructure d'une composite ZTA BioloX® Delta : (1) grain d'Alumine ; (2) grain de Zircone stabilisé à l'Yttria ; et (3) plaquette de strontium. [***]	27
Figure I. 17. Mécanismes de renforcement de BioloX® Delta : A) Mécanisme de métastabilité des grains de zircone à l'intérieur de la matrice d'alumine. B) Mécanisme du blocage de propagation des fissures [105].....	27
Figure I. 18. Comparaison des angles d'antéversion entre des hanches grinçantes et des hanches saines [133]	31

Figure I. 19. Représentation du triplet tribologique	33
Figure I. 20. Circuit tribologique	35
Figure I. 21. Mécanismes d'accommodation de vitesse.....	35
Figure I. 22. Mécanismes d'usure [148]	36
Figure I. 23. Schématisation du triplet tribologique, du circuit tribologique et des Mécanismes d'accommodation de vitesse au niveau d'une prothèse de hanche en ZTA.....	38

CHAPITRE II :

Figure II. 1. Schéma du profilomètre optique utilisé [149].....	43
Figure II. 2. Principe de la microscopie électronique à balayage [151].....	45
Figure II. 3. Modifications de l'état électronique des indicateurs fluorescents lors de l'excitation et de l'émission de photons (profils de Jablonski) [X].	46
Figure II. 4 . Principe de fonctionnement d'un microscope confocal à balayage laser [X].....	47
Figure II. 5. Simulateur de marche à commande hydraulique utilisé (Technologie MTS dynamique).....	48
Figure II. 6. Cycle de la charge appliquée sur le couple prothétique durant un cycle de marche dans les conditions standards (ISO standard 14242-1, 2012).	49
Figure II. 7. Couple prothétique BIOLOX [®] delta utilisé pour la production des particules céramique [CeramTech, Plochingen, Allemagne]	50

CHAPITRE III :

Figure III. 1. Implant du patient 1 : a) bande d'usure (« Stripe wear »), b) traces de frottement sur la zone d'encoche indiquant la rotation de l'insert dans le métal-back et c) aucune trace d'impingement observée sur l'insert	65
Figure III. 2. Implant du patient 2 : a) bande d'usure (« Stripe wear »), b) trace d'impingement entre le col de la prothèse et la cupule céramique c) zones d'encoche claires indiquant un bon positionnement de l'insert dans le métal-back d) traces de transfert métallique	65
Figure III. 3. Implant du patient 3 : a) bande d'usure (« Stripe wear »), b) pas de traces d'impingement	66
Figure III. 4. Localisation des sites (M0, M1, M2 et M3) pour l'analyse de rugosité des têtes fémorales du a) patient 1, b) patient 2 et c) patient 3.	67

Figure III. 5. Observations microscopiques des zones non usées des trois têtes fémorales (1 : Rayures minces de friction ; 2 : Présence des plaquettes de strontium)	68
Figure III. 6. Observations microscopiques des zones endommagées des trois têtes fémorales (1 : Rayures minces de friction ; 2 : Présence des plaquettes de strontium)	69
Figure III. 7. Observations microscopiques des trois cupules (1 : Rayures du troisième corps tartinées ; 2 : fissures détectées sur la surface de la cupule)	70
Figure III. 8. Analyse EDX des trois cupules	70

CHAPITRE IV :

Figure IV. 1. Observations par microscopie à fluorescence. A) Particules d'UHMWPE digérées par HCl (Test n ° 1). B) UHMWPE obtenu en conditions lubrifiées (Test n ° 2). C) Particules UHMWPE obtenues par frottement sec (Test n ° 3).	76
Figure IV. 2. Analyse morphologique des particules UHMWPE obtenues à partir des tests sur simulateur de marche: D) Diamètre de cercle équivalent et E) Rapport de forme équivalent. 77	
Figure IV. 3. Effets des méthodes d'acquisition des particules UHMWPE sur la viabilité cellulaire.	78
Figure IV. 4. Effets des particules sur la viabilité cellulaire des chondrocytes. Les chondrocytes sont cultivés avec des particules de UHMWPE, CERsim et CERpress.....	79
Figure IV. 5. Observations en microscopie électronique à balayage (MEB). A) particules céramiques produites avec le simulateur <i>CERsim</i> B) particules céramiques produites avec la presse <i>CERpress</i> . C) Distribution massique des particules de céramique.	80
Figure IV. 6. Effets sur la viabilité cellulaire des particules de céramique fabriquées avec un simulateur par rapport aux particules de céramique fabriquées avec une presse : toutes les tailles CERsim et CERpress, des particules de taille micron CERs1 et nanoparticules CERs2.....	81
Figure IV. 7. Effets des particules céramiques sur la minéralisation des chondrocytes : Dépôts de calcium des chondrocytes évalués avec du rouge d'alizarine en présence des particules UHMWPE, CERs1 et CERs2.....	82
Figure IV. 8. Effets des particules céramiques sur la minéralisation des chondrocytes : L'activité enzymatique TNAP est calculée en présence de particules UHMWPE, CERs1 et CERs2.	83
Figure IV. 9. La structure cytologique des chondrocytes en présence de particules. A) Sans particules (Ctrl). B) Particules UHMWPE C) Particules de taille micron CERs1 et D)	

Nanoparticules céramiques CERS2. Les flèches indiquent les « clusters » et les zones compactes correspondant à des zones de minéralisation.	84
Figure IV. 10. Matrice extracellulaire de chondrocytes cultivés avec différentes particules (coloration de Von Kossa). . A) Sans particules (Ctrl). B) Particules UHMWPE C) Particules de taille micron CERS1 et D) Nanoparticules céramiques CERS2. Les flèches indiquent les zones minéralisées.....	85
Figure IV. 11. Semi-quantification de la minéralisation des chondrocytes en présence des différentes particules : UHMWPE, CERS1 et CERS2.....	86
Figure IV. 12. Production de PGE2 par les chondrocytes en présence de particules UHMWPE, CERS1 et CERS2.....	87

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I. 1 . Évolution chronologique des prothèses totales de hanche.....	14
Tableau I. 2. Taux des fractures de la tête fémorale en céramique	29
Tableau I. 3. Taux des fractures de la cupule en céramique	29
Tableau II. 1. Caractéristiques principales des implants analysés	42
Tableau II. 2. Entretien de la culture des chondrocytes primaires murins	54
Tableau III. 1. Analyse macroscopique des explants récupérés.....	64
Tableau III. 2. Analyse de rugosité des implants récupérés.....	67
Tableau III. 3. Scénarios possibles de vie de contact des trois explants récupérés en BioloX Delta : schémas de contact en vue latérale et détermination de la vitesse principale mécanismes d'accommodement.....	72

LISTE DES ABREVIATIONS

ALVAL	Aseptic Lymphocyte-dominated Vasculitis Associated Lesion
ARMD	Adverse Reactions to Metal Debris
ATZ	Alumina Toughened Zirconia
BCA	Bicinchoninic Acid
CoC	Ceramic on Ceramic
CoCrMo	Cobalt-Chrome-Molybdène
DMSO	Dimethyl Sulfoxide.
EDX	Energy Dispersive X Ray Analysis
HES	Héματοxyline - Eosine - Safran
HIP	Hot Isostatic Pressing
LTD	Lox Temperature Degradation
MEB	Microscopie Electronique à Balayage
MoM	Metal on Metal
MoP	Metal on Polyethylene
MTT	3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide
PGE2	Prostaglandin E2
PTEF	Polytétrafluoroéthylène
PTH	Prothèse Totale de Hanche
TNAP	Tissue Nonspecific Alkaline Phosphatase
UHMWPE	Ultra-High Molecular Weight Polyethylene
Y-TZP	Yttria Stabilized Tetragonal Zirconia Polycrystal
ZTA	Zirconia Toughened Alumina

INTRODUCTION GÉNÉRALE

Le corps humain a réussi à établir son équilibre et trouver des solutions intéressantes pour prévenir les dégradations au niveau des articulations à l'aide d'un système de lubrification « naturel » assuré par le liquide synovial. Ces ostéo-articulations peuvent résister « naturellement » à une durée de vie supérieure à 70 ans avec une faible usure.

La hanche ou l'articulation coxo-fémorale est une articulation (une énarthrose) qui permet de joindre la cuisse au bassin. La pathologie dégénérative (usure) y est fréquente, soit primitive (sans cause évidente), soit secondaire, un vice architectural (congénital ou acquis). Cette articulation est sollicitée à des contraintes de compression cyclique induisant une contribution de fluage et de fatigue.

Au fil du temps, grâce aux progrès de la médecine, l'espérance de vie humaine à la naissance ne cesse d'augmenter en Tunisie comme celle en France. Cependant, la durée de vie des ostéo-articulations a désormais diminué d'une manière significative avec le vieillissement de la population et encore suite à la surcharge appliquée sur ces articulations soit à cause du problème de l'obésité qui ne cesse à se répandre, soit en raison des activités physiques excessives. En effet, une augmentation significative du nombre de pathologies est remarquée affectant majoritairement les personnes âgées devenant ainsi un problème de santé publique majeur. Ces maladies inflammatoires et dégénératives au niveau des articulations sont pour la plupart induites par un vieillissement ou un traumatisme et évoluent vers l'usure des cartilages entraînant un dysfonctionnement articulaire.

Par indisponibilité du traitement capable de réparer le tissu cartilagineux, la pose d'un implant articulaire suite à une intervention chirurgicale dite arthroplastie reste la solution la plus courante. Le principe de l'arthroplastie consiste à substituer les surfaces articulaires atteintes par des matériaux synthétiques capables de subir des chargements durant l'activité physique.

Le présent travail s'articule autour de la caractérisation de la prothèse totale de la hanche. La défaillance de l'implant et le recours à la chirurgie de révision constituent toujours des problèmes cliniques liés à la prothèse totale de la hanche impliquant, de nos jours, un nombre trop élevé de patients.

La prévalence de l'arthroplastie initiale et de révision pour les prothèses totales de la hanche a considérablement augmentée : 245 625 arthroplasties primaires et 6 067 interventions de reprise en 2013-2018 [Rapport annuel 2019 du registre national de remplacement articulaire de l'Association Australienne d'Orthopédie]. Cependant, les conséquences économiques de cette demande sur les hôpitaux sont lourdes. En Tunisie, le besoin en Prothèse Totale de la Hanche (PTH) est fréquent. D'où, la nécessité de résoudre ou réduire les problèmes de défaillance des implants est de première importance.

Plusieurs couples de frottement ont été développés au fil des années afin de diminuer l'usure et le phénomène de fatigue des PTH : métal / polyéthylène ; céramique / polyéthylène ; métal / métal ; céramique / céramique. L'estimation ex vivo de l'usure de ces couples montrent une usure très faible pour les couples métal / métal et céramique / céramique, mais certains résultats in vivo sont discordants car malgré une faible usure, les particules nanométriques de type métal et céramique peuvent être très toxiques pour l'organisme, leur réaction biologique pouvant être amplifiée pour certains milieux biologiques dégénératifs ou inflammatoires.

L'objectif principal de notre étude est de comprendre et de maîtriser les interactions mécaniques et physicochimiques entre l'environnement biologique (notamment le lubrifiant) et les surfaces des PTH de type céramique/céramique. Ainsi des expertises in vivo, des tests d'usure et des tests de toxicité des particules d'usure in vitro seront réalisées afin d'optimiser l'interaction céramique / tissus periarticulaires et ainsi d'augmenter la durée de vie in vivo des implants PTH en céramique. Ce travail a été réalisé dans le cadre de collaboration de plusieurs structures de recherche :

- Le Laboratoire de Mécanique des Contacts et des Structures (LaMCoS, INSA de Lyon),
- L'Institut de Chimie et Biochimie Moléculaires et Supramoléculaires (ICBMS, Université Claude Bernard Lyon 1),
- Le Centre Ingénierie et Santé (École des Mines de Saint-Étienne),
- L'Unité de Recherche de Nanobiotechnologie et Valorisation des Phytoressources Médicinales (INSAT, Université de Carthage).

Le premier chapitre est consacré à une revue de la littérature. Une description de l'articulation de la hanche naturelle permet d'introduire le concept de la prothèse totale de la hanche et son évolution. Nous exposons une étude anatomique de l'articulation de hanche ainsi que les performances des PTH en biocéramiques à travers une étude comparative entre les différents

matériaux céramiques et les complications possibles. Nous exposons par la suite les concepts tribologiques essentiels pour l'étude du comportement à l'usure des céramiques.

Le second chapitre présente les techniques et les méthodes expérimentales mises en œuvre au cours de ce travail. Nous décrivons les explants céramiques mis en disposition pour la caractérisation tribologique ainsi que l'ensemble des méthodes de caractérisation employées. Ensuite, nous présentons le protocole de la culture cellulaire et les différentes procédures de caractérisation employées afin d'analyser la réponse biologique des particules d'usure.

Le troisième chapitre traite l'étude tribologique des surfaces de frottement tête – cupule des trois implants de hanche CoC récupérés de trois patients différents suite à des opérations de révision. Le couplage des résultats des différentes techniques nous permet d'identifier les mécanismes d'accommodation de vitesse et le circuit tribologique et donc de fournir une meilleure compréhension de la vie du contact in vivo de ces explants de hanche CoC.

Dans le quatrième chapitre, nous rapportons la réponse biologique des chondrocytes en présence des particules de céramique de tailles micron et nanométrique en comparaison avec les particules en polyéthylène à très haut poids moléculaire (UHMWPE). Les particules utilisées sont des particules d'usure réelles obtenues sur un simulateur de marche (CERsim) et elles sont comparées à des particules obtenues par des méthodes usuelles pour évaluer la biocompatibilité de céramique : machine de presse (CERpress). Cette étude tient compte d'un chargement en fatigue compression du couple céramique.

CHAPITRE I

SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

Le présent chapitre représente une synthèse bibliographique sur les prothèses ostéo-articulaires, en particulier les prothèses coxofémorales en biocéramiques. Ainsi, nous présentons une étude descriptive de l'articulation de la hanche, englobant sa biostructure et les mouvements possibles, avec une analyse biomécanique des chargements au niveau de l'articulation de la hanche au cours de la marche. Nous exposons, par la suite, les performances des prothèses totales de la hanche en biocéramiques à travers une étude comparative entre les différents matériaux céramiques et les complications possibles. L'étude du comportement à l'usure suite à des chargements en fatigue cyclique des céramiques nécessitant l'explication des concepts tribologiques essentiels pour mieux comprendre le comportement tribologique des implants en céramique est exposée dans ce chapitre.

I. La prothèse de hanche

L'arthroplastie de hanche est une opération très fréquente et couronnée de succès. Le plus souvent en cas d'arthrose, la Prothèse Totale de la Hanche est implantée afin de retrouver la mobilité et la qualité de vie des patients.

La marche humaine est une activité qu'on imagine simple vu qu'elle est exécutée d'une manière spontanée. Il s'agit d'un phénomène complexe qui implique la coordination des mouvements successifs des parties corporelles afin de garantir l'équilibre du corps lors de la marche [1].

I. 1. Données anatomiques de l'articulation coxo-fémorale

I.1.1. Ostéologie

L'articulation de la hanche, ou coxo-fémorale, est une articulation synoviale de type rotule (avec 3 degrés de liberté) qui relie le membre inférieur au tronc. Elle est constituée d'une tête fémorale articulée dans une cavité semi-sphérique de l'acétabulum dite cotyle dont la surface de contact est recouverte du cartilage (Figure I.1). Le maintien et la stabilité de la tête dans l'acétabulum sont garantis à travers la profondeur de la cotyle, le centrage de la tête, la pression intra-articulaire ainsi que les ligaments et les muscles periarticulaires.

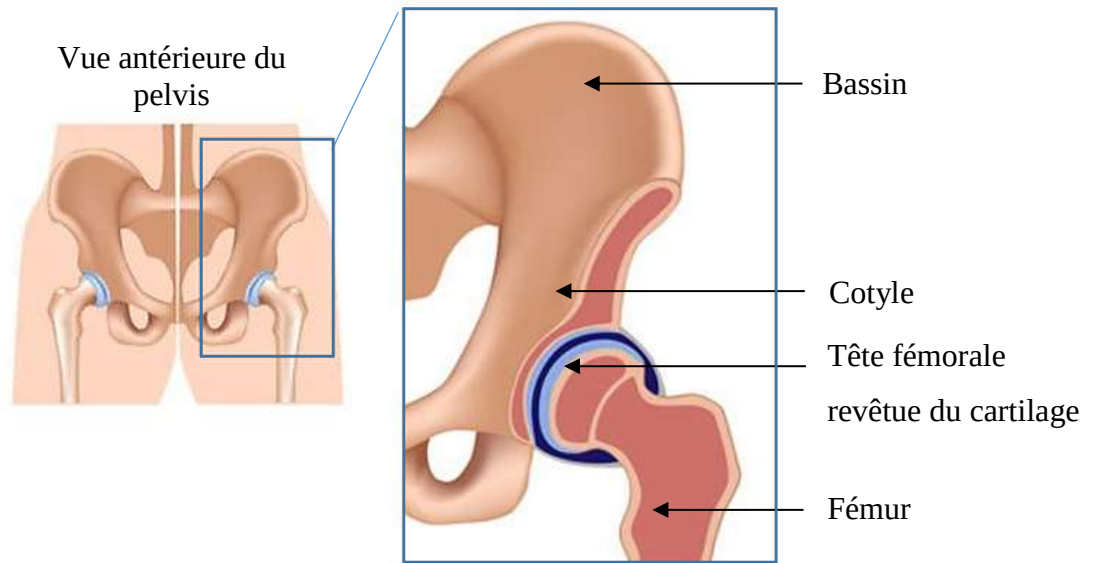


Figure I. 1. Articulation coxo-fémorale

- La tête fémorale

Cette tête est une portion de 2/3 d'une sphère ayant un diamètre compris entre 40 et 50 mm selon la personne et une ouverture angulaire de 240° . Elle est portée par le col fémoral qui assure le rattachement à la diaphyse du fémur. L'axe du col est oblique en haut, en dedans et en avant. Il forme avec l'axe diaphysaire un angle dit « d'inclinaison » ou angle cervico-diaphysaire de l'ordre de 150° chez l'enfant tandis que pour les adultes, il est de l'ordre de 125° et évolue vers 120° avec l'âge [2].

- Le cotyle

Le cotyle empoche la tête fémorale. Il est localisé sur la face latérale de l'os iliaque en prenant la forme d'une demi-sphère circonscrite par le sourcil cotyloïdien (Figure I.2). Il présente deux parties :

- La cavité acétabulaire : il s'agit d'une surface semi-lunaire, périphérique, encroûtée de cartilage, en forme de croissant dont les cornes délimitent l'incisure acétabulaire et sont raccordées entre elles par un ligament en pont qui est le ligament transverse de l'acétabulum.
- La fosse acétabulaire : représente la partie centrale de la cotyle (arrière fond cotyloïdien) située en retrait comparée au croissant articulaire et n'entre pas en contact avec la tête fémorale.

L'axe du cotyle forme avec l'horizontale un angle de 30° à 40° et de même un angle entre 30° et 40° avec le plan frontal (Figure I.3). Et ce entraîne que la partie supérieure de la cotyle dépasse la tête en dehors avec un angle de 25° à 30° dit « angle de recouvrement » [3].

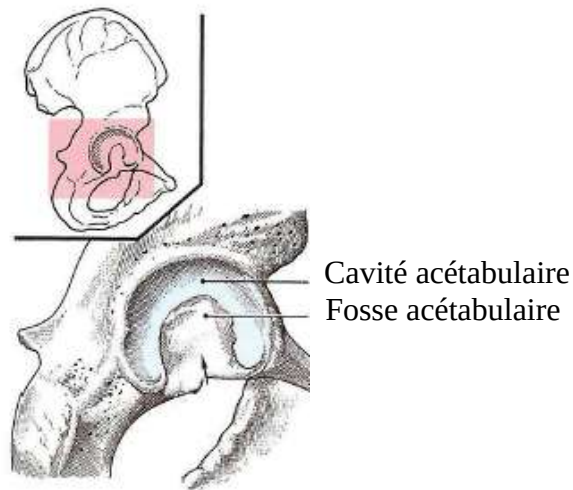


Figure I. 2. Vue du cotyle [3]

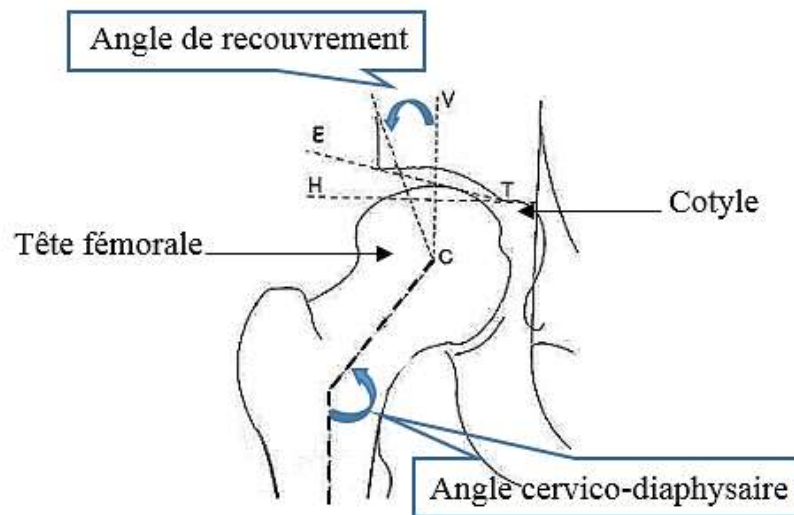


Figure I. 3. Orientation du cotyle par rapport à la tête fémorale

- Le cartilage

Le cartilage est un tissu spécialisé, composé d'un seul types des cellules, les chondrocytes, et d'une matrice extracellulaire organisée en un réseau de fibres de collagène II enchâssant des macroagrégats de protéoglycanes hydrophiles. Le renouvellement du tissu cartilagineux est assuré par les chondrocytes. Sa particularité se résume en n'étant ni vascularisé ni innervé. Ainsi, il doit être à la fois rigide dans le but de garantir la précision des mouvements et souple afin d'assurer la répartition convenable des pressions et les transmettre aux tissus osseux sous-jacents [4].

Le cartilage est primordiale pour le bon fonctionnement de l'articulation vu son rôle important à assurer le glissement des surfaces articulaires l'une sur l'autre durant le mouvement ainsi leur mobilité dans l'espace tout en assurant l'amortissement de l'effort et sa répartition dans l'articulation.

- Les ligaments

Le maintien en contact des surfaces articulaires est assuré à l'action de puissants ligaments [5] représentés dans la figure I.4 :

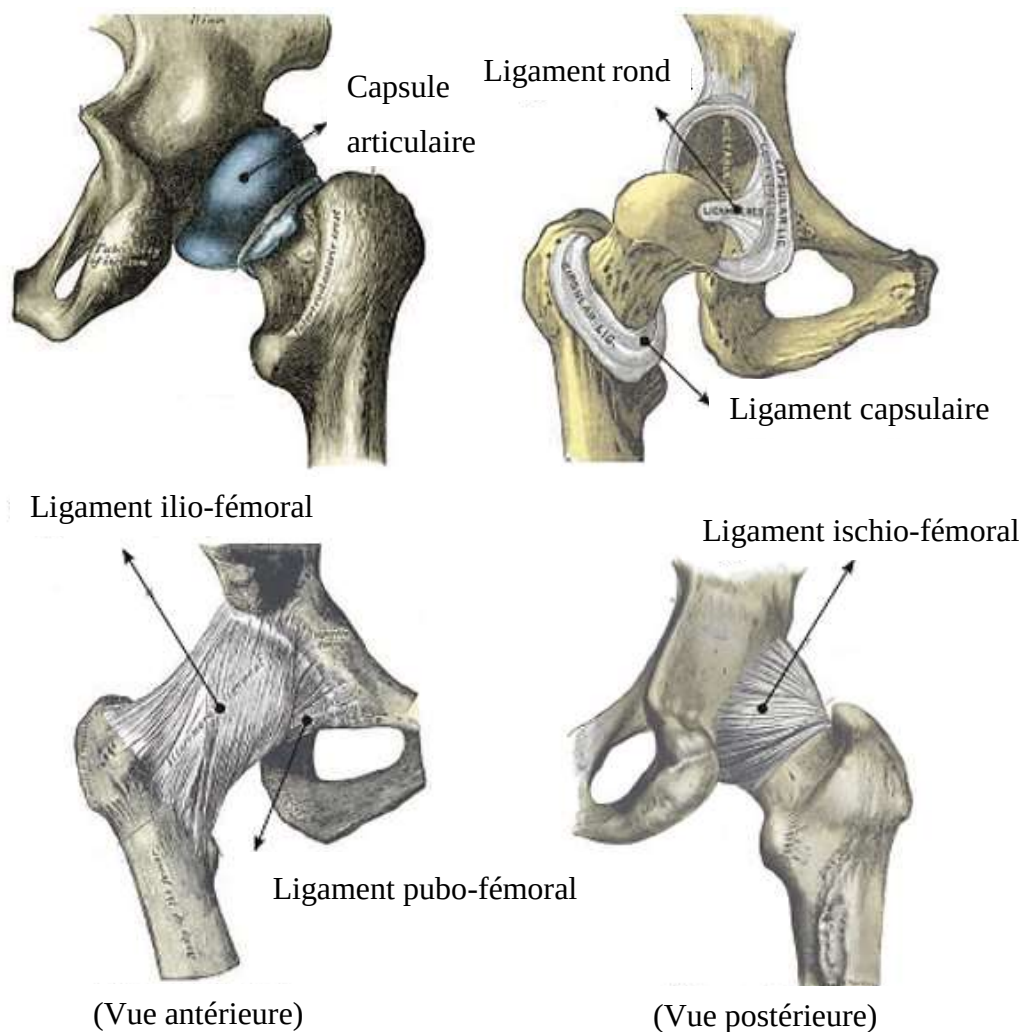


Figure I. 4. Ligaments au niveau de l'articulation de la hanche [5]

- La capsule articulaire ou ligament capsulaire : il s'agit d'une enveloppe fibreuse et élastique enfermant l'articulation et tapissée d'une manière souple et continue du liquide synoviale. Elle assure la stabilité de l'articulation.
- Le ligament ilio-fémoral : c'est le plus puissant du corps humain et renforce la capsule articulaire.

- Le ligament pubo-fémoral : consolide la capsule dans sa partie antéro-inférieure.
- Le ligament ischio-fémoral : renforce la partie postéro-supérieure de la capsule articulaire.
- Le ligament rond : Il représente un lien entre la tête fémorale et le fond acétabulaire. Il contribue à la répartition de la synovie dans la cavité articulaire lors du mouvement et à la vascularisation de la tête du fémur ainsi qu'à l'amortissement élastique au niveau de l'articulation pour combler la fosse acétabulaire.

I.1.2. Myologie

Les muscles jouent un rôle indispensable dans la stabilité de l'articulation de la hanche. Les principaux de la hanche sont [5] :

- Le psoas iliaque : assure la flexion de l'articulation coxo-fémorale, et joue le rôle d'un rotateur externe de la cuisse.
- Le tenseur du fascia lata : est un muscle fléchisseur, abducteur (en écartant la cuisse du plan médian du corps) et rotateur de la cuisse.
- Le muscle moyen adducteur : son action est l'adduction et la rotation externe.
- Le muscle droit fémoral : permet principalement l'adduction de la cuisse ainsi que sa rotation externe.
- Le muscle sartorius : permet la flexion et l'abduction de la cuisse sur le bassin.
- Le muscle grand adducteur : sa fonction essentielle consiste à assurer l'adduction et la rotation (Figure I.5).

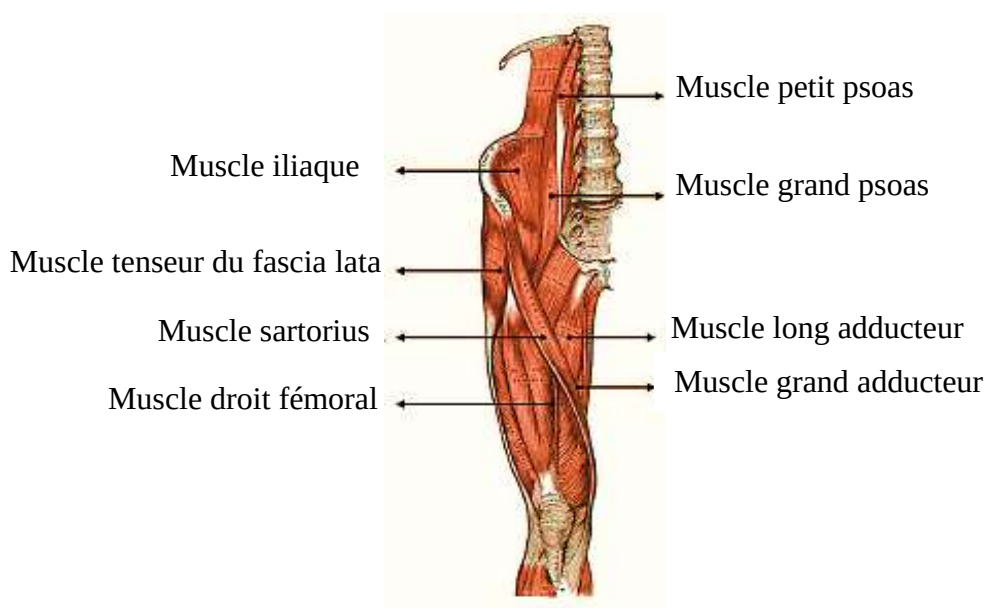


Figure I. 5. Muscles au niveau de l'articulation de la hanche [5]

I.1.3. Plans anatomiques

Le mouvement des segments du corps humain s'effectue dans trois plans de l'espace, selon les trois directions et en considérant la position anatomique de l'individu comme une référence. En effet, la position anatomique est définie comme la position dans laquelle le corps est debout, droit avec les pieds parallèles ainsi que les bras de chaque côté du corps et les paumes de main sont dirigées vers l'avant [5]. Le plan sagittal décompose le corps en côtés droit et gauche. Le plan frontal, appelé aussi le plan coronal divise le corps en portions antérieure et postérieure. Le corps est encore décomposé en portions supérieure et inférieure à travers le plan transverse (Figure I.6).

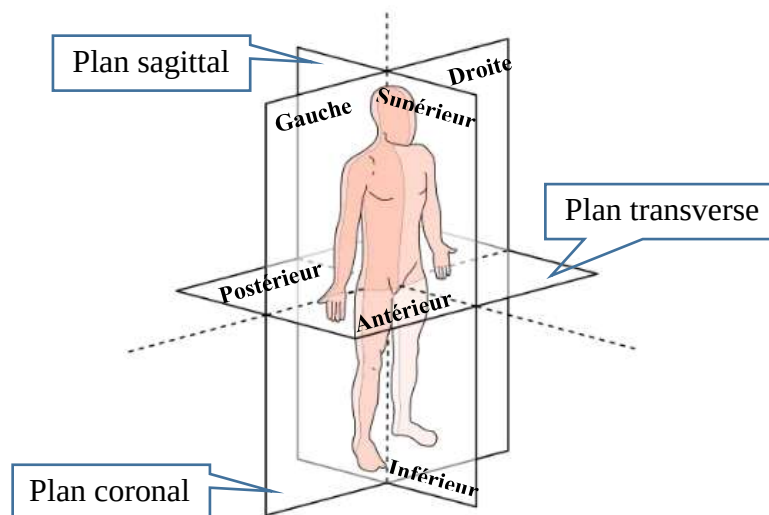


Figure I. 6. Plans anatomiques du corps humain

I.1.4. Mouvements biomécaniques de la biostructure humaine

L'articulation coxo-fémorale relie le membre inférieur avec le tronc à l'aide d'une liaison de type rotule caractérisée par trois degrés de liberté (rotation) représentant les mouvements possibles. La longueur du col fémoral et son inclinaison par rapport à l'axe du fémur ont pour effet de convertir ces mouvements angulaires en mouvements de rotation de la tête du fémur dans l'acétabulum. Ces mouvements, représentés par la figure I.7, sont la flexion/extension, l'adduction/abduction et la rotation interne/externe [6] :

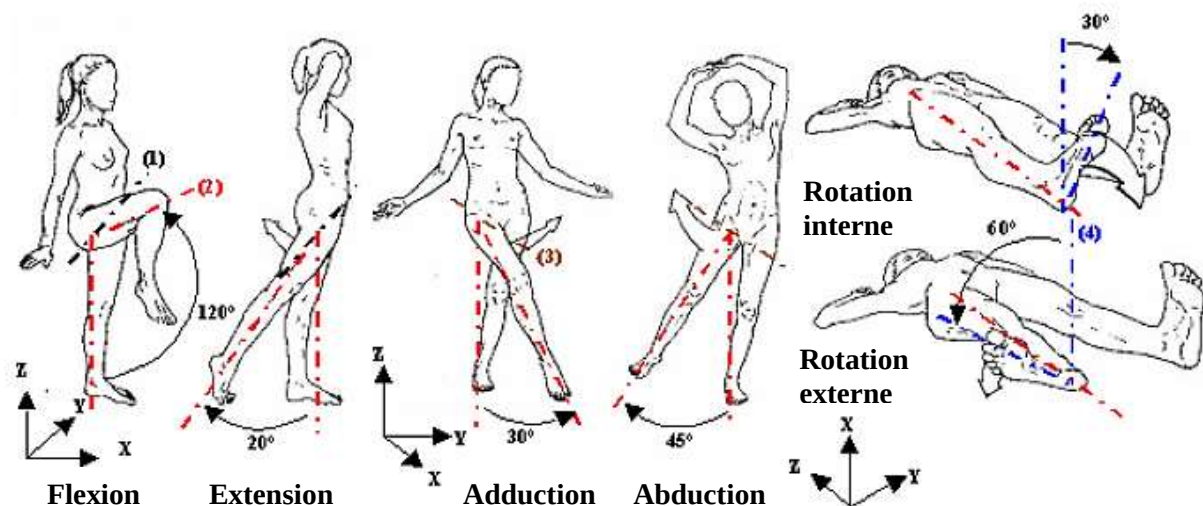


Figure I. 7. Les mouvements de la hanche [6]

- Mouvement de flexion/extension

Il s'agit d'un mouvement de rotation autour du plan frontal. En flexion, l'amplitude varie selon la position du genou : 120° genou fléchi et 90° genou étendu. Tous les ligaments de l'articulation coxo-fémorale sont détendus et les muscles qui interviennent durant la flexion sont l'ilio-psoas, le sartorius, le droit du fémur, le tenseur du fascia lata, le pectiné, le long adducteur et le gracile. Toutefois, l'extension est limitée à 20° et le ligament intervenant est essentiellement l'ilio-fémoral. Les muscles fessiers surtout le grand fessier ainsi les ischio-jambiers sont les muscles extenseurs de la hanche également le muscle grand adducteur.

- Mouvement d'adduction/abduction

L'abduction est un mouvement qui s'articule autour du plan sagittal limitée à 45° par le contact du col sur l'acétabulum. Elle est bloquée par la mise en tension des ligaments ilio et pubo-fémoraux et des muscles adducteurs tels que moyen fessier, le tenseur du fascia lata et le grand fessier. Quant à l'adduction, les deux membres inférieurs sont en contact l'un avec l'autre ce qui explique la combinaison de l'adduction avec soit une flexion ou une extension afin d'éviter le blocage par le membre opposé. C'est une rotation de 20° à 30° faisant intervenir des muscles tels que les trois muscles adducteurs, le pectiné, le gracile, les ischio-jambiers et le grand fessier ainsi que le carré fémoral et les muscles obturateurs.

- Mouvement de rotation interne/externe

Ce mouvement représente une rotation autour de l'axe vertical. La rotation externe est limitée à 30° puisque les muscles intervenant sont les fibres antérieures des moyen et petit fessiers, le tenseur du fascia lata et le grand adducteur. Elle est encore limitée par la tension du ligament ischio-fémoral. Cependant, la rotation externe peut atteindre 60° vu que c'est la tension des ligaments antérieurs (ilio et pubo-fémoral) qui la gouverne en plus des muscles pelvi-trochantériens (carré fémoral, piriforme et obturateurs) et des muscles fessiers insérés en arrière de l'articulation (grand fessier, fibres postérieures des petit et moyen fessiers).

I.1.5. Niveau de chargement au niveau de la hanche

La marche est une série de mouvements, qui s'enchaînent et se répètent, effectuée par les membres inférieurs du corps. Une seule séquence de mouvements réalisés par une jambe se définit comme le «cycle de marche». Plusieurs études ont été menées pour la détermination des forces au niveau de l'articulation de la hanche pendant le cycle de marche [7-10]. Ces études ont proposé des résultats qui convergent vers la description de la courbe de force à double maximum caractéristique de la marche (Figure I.8).

Les maxima de la force résultante calculés pendant la marche sont de l'ordre de 180 à 400 % du poids (P) du corps en appui statique unipodal. La vitesse de la marche est un paramètre important qui influence la valeur maximale de la force. Ainsi, pendant le cycle de marche, le maximum de force peut évoluer de 200% du poids pour une vitesse faible à 400 % du poids pour une vitesse élevée [11].

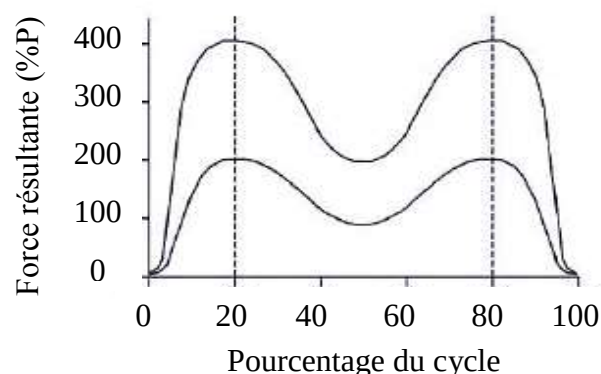


Figure I. 8. Courbe de la force au niveau de l'articulation de la hanche durant un cycle de marche [7]

Lors de la marche, les contraintes sont maximales au niveau de la partie supérieure de l'acétabulum, essentiellement du côté médial, ce qui correspond aux régions dégénérées de l'acétabulum observées in vivo. La distribution de la pression de contact et la valeur du pic jouent un rôle déterminant dans la dégénération du cartilage et dans l'usure des implants. Les débris de l'usure peuvent ensuite être, à plus ou moins long terme, la source soit de certaines réactions inflammatoires soit d'une ostéolyse menant au descellement de la prothèse [12].

I.2. Évolution temporelle des prothèses totales de hanche

II.2.1. Historique

L'évolution historique de la prothèse totale de hanche est résumée dans le tableau I.1 :

Tableau I. 1 . Évolution chronologique des prothèses totales de hanche

Date	Auteurs	Résultats
1891	Themistocles Glück	- Il a remplacé la tête fémorale par une tête en ivoire fixée par des vis en Nickel (le Nickel est bien connu comme un biomatériau) [13,14].
1925	Marius Smith-Petersen	- Il a créé la première arthroplastie de moule en verre. Il s'agissait d'un hémisphère creux qui pouvait s'adapter sur la tête fémorale et fournir une nouvelle surface lisse pour le mouvement. - Bien que le verre soit un matériau biocompatible, il n'a pas résisté aux grandes forces traversant l'articulation de la hanche et s'est brisé à cause de la fragilité des verres [15].
Les années 1940	les frères Judet	- Ils ont mis en place un procédé appelé hémiarthroplastie permettant le remplacement entier de la tête par une sphère de même calibre en méthacrylate de méthyle plus connu sous le nom de Plexiglas. Cette tête artificielle est reliée au fémur à travers un col en métal (Figure I.9). - Ce procédé a démontré son échec à moyen terme dû à une intolérance aux débris d'usure de l'acrylique pour laisser la place au métal.

1953	George McKee	Il a utilisé la tige de Thompson modifiée (une hémiarthroplastie cimentée utilisée pour le traitement des fractures du col du fémur) avec une nouvelle coque monobloc en chrome-cobalt comme nouveau cotyle. Cette prothèse avait un bon taux de survie, avec une étude montrant récemment un taux de survie à 28 ans de 74% [16]. Pourtant, cette méthode est devenue impopulaire au milieu des années 1970 en raison des effets locaux des particules métalliques observées lors d'une chirurgie de révision pour échec prothétique [17].
début des années 60	Sir John Charnley	- Il a réussi à mettre en œuvre une prothèse avec une tête métallique contre une cupule en polymère, après son échec avec le téflon, se composant de trois parties : une tige fémorale en acier inoxydable avec une petite tête fémorale métallique de 22 mm, un composant acétabulaire en polyéthylène haute densité et du ciment osseux acrylique pour assurer la fixation de ces composants (Figure I.10) [18]. - Des observations plus tard ont conclu que l'usure des prothèses dépend du type de polymère. Après l'utilisation du polyéthylène, d'autres types de polymères ont été mis en œuvre tels que le polytétrafluoroéthylène (PTFE) puis polyéthylène à très haut poids moléculaire (Ultra High Molecular Weight Polyethylene : UHMWPE) [19].
Les années 60	McKee-Farrar	- La tête fémorale utilisée dans la prothèse est plus large pour assurer la stabilité et la mobilité [20]. - Des taux de descellement importants ont été signalés, ce n'était pas la forme de la prothèse qui était en cause, ni le ciment, mais les débris métalliques dus aux frottements métal sur métal.

		- Tout comme Charnley, Mac Kee et Farrar ont décidé donc d'abandonner le couple métal-métal pour utiliser une cotyle polyéthylène à haute densité. Cependant, les débris de polyéthylène libérés dans les couples MoP (« Metal-on-Polyethylene ») était la cause d'apparition des problèmes d'ostéolyse [21].
les années 1970	Pierre Boutin	- Il a commencé avec une Prothèse Totale de Hanche (PTH) dont la cotyle est en céramique et la pièce fémorale en deux parties : une tête en céramique fixée sur un corps en acier [22]. Puis, les têtes fémorales en céramique deviennent, à partir de 1975, couramment utilisées contre des cupules en polyéthylène.



Figure I. 9. Prothèse des frères Judet [23]



Figure I. 10. Prothèse totale de hanche de Charnley [24]

I.2.2. Mise en œuvre des prothèses de la hanche

Depuis les années 1950, les études concernant la biomécanique de l'articulation de la hanche ont contribué dans l'évolution du design et des matériaux utilisés dans les PTH. Une prothèse totale de hanche est constituée de trois parties essentielles : la tige fémorale, la tête fémorale et le cotyle. La tige fémorale représente la partie inférieure de la prothèse. Cette tige est insérée dans le canal médullaire du fémur et est retenue en place soit par du ciment chirurgical soit par ostéointégration. A son extrémité supérieure, la tête fémorale en métal ou en céramique s'emboîte sur le col via un cône. Le cotyle est fixé dans la cavité acétabulaire du bassin. Elle est composée généralement de deux parties : le métal-back, appelé aussi l'anneau cotyloïdien, une partie métallique hémisphérique fixée sur l'os du bassin ; et la cupule (ou insert) en céramique ou en UHMWPE fixée dans la partie concave du métal-back pour emboîter la tête fémorale et former ensemble les deux surfaces de contact de l'articulation (Figure I.11).

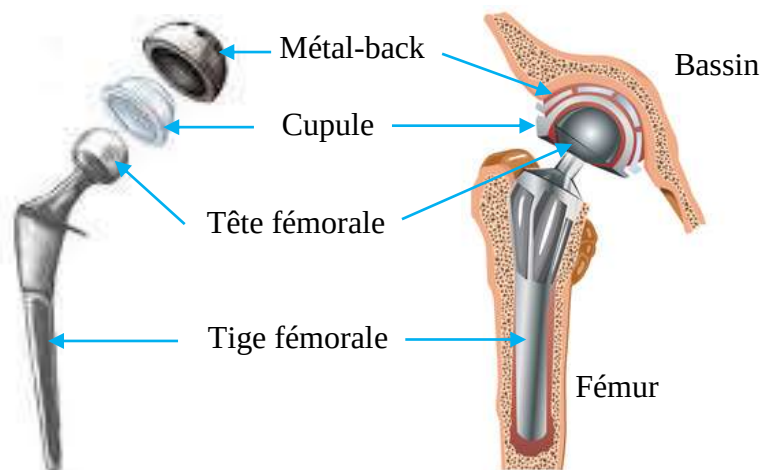


Figure I. 11. Eléments d'une Prothèse Totale de Hanche

L'arthroplastie est l'intervention chirurgicale qui vise à remplacer l'articulation défectueuse de la hanche par une PTH. Lors de cette intervention chirurgicale, la première étape consiste à séparer l'articulation de la hanche et extirper les parties endommagées. Les parties de l'articulation qui vont empêcher l'implant sont par la suite nettoyées. Puis, le cotyle est positionné dans le bassin. Selon la taille prédéfinie de la tige fémorale, l'étape suivante correspond à la préparation de la cavité médullaire dans le fémur à l'aide des râpes adéquates de dimensions croissantes qui sont successivement introduites dans la diaphyse fémorale. Enfin, la tige fémorale est enfoncée dans cette cavité et assemblée avec la tête pour obtenir par conséquent l'articulation artificielle de la hanche. Les techniques chirurgicales utilisées dans l'arthroplastie sont nombreuses et en développement telle que la technique mini-invasive et

assistée par ordinateur qui ont attiré beaucoup d'attention dans la communauté d'orthopédie [25].

L'arthroplastie totale de hanche constitue l'une des interventions chirurgicales les plus abouties dans le domaine de l'orthopédie à l'échelle mondiale. Plus d'un million d'interventions sont réalisés dans le monde chaque année [26]. Les résultats cliniques et le fonctionnement de l'implant sont excellents dans le temps avec une survie supérieure à 95% à dix ans, selon les données des registres nationaux [27], et plus de 80% des prothèses survivent à 25 ans de suivi [28]. Environ 140 000 prothèses de hanche sont implantées chaque année en France [29]. En Australie, le nombre des interventions d'arthroplastie primaires a doublé entre la période de 1999 et 2018 (environ 115 000 entre 1999 et 2005 et plus que 245 000 entre 2013 et 2018) [40]. Aux Etats-Unis, le nombre des interventions d'arthroplastie de hanche est prévu d'augmenter de 71% en 2030 pour atteindre 635 000 [30]. Cette tendance est observée surtout dans les pays industrialisés et elle est prévue de poursuivre au cours des prochaines décennies en raison du vieillissement de la population, de l'incidence croissante du surpoids et de l'amélioration des soins médicaux dans les pays en développement.

I.2.3. Complications et révision de l'articulation coxofémorale

La révision ou la reprise prothétique est une intervention chirurgicale qui consiste à ôter l'ensemble ou simplement une partie des composants prothétiques, fémorale ou acétabulaire, et à la remplacer par une autre neuve. Malgré les progrès des techniques chirurgicales et des implants réalisés, ces révisions partielles ou totales restent inévitables en raison des patients de plus en plus jeunes et actifs [31]. Les interventions de révision sont plus complexes et présentent un taux de complications post-chirurgicales plus élevé que celui pour les arthroplasties primaires. C'est pour cette raison elles nécessitent un matériel plus complexe et une plus grande expertise de toute l'équipe chirurgicale, de manière qu'il semble préférable d'être pratiquées, dans des centres de référence. [32].

Les raisons de révision sont très variables et plusieurs études ont été menées afin de chercher la fréquence de ces diverses causes [27, 33-35]. la cause la plus fréquente est le descellement aseptique, conséquence d'une résorption osseuse autour de la prothèse. La première cause de descellement est la libération des particules d'usure générées au niveau de la surface articulaire et leur migration dans les tissus avoisinants provoquant des réactions cellulaires favorisant l'ostéolyse réactionnelle (Figure I.12). Le descellement aseptique peut être aussi d'origine mécanique, en effet, une fixation initiale inadéquate ou bien une perte mécanique de la fixation

au fil du temps peut engendrer une distribution des contraintes ainsi une résorption locale de l'os (ostéolyse) [36, 37].



Figure I. 12. Radiographie de la hanche droite d'une femme de 68 ans 10 ans après une arthroplastie totale de la hanche primaire sans ciment montre une ostéolyse inflammatoire ; la perte osseuse périarticulaire est indiquée par des flèches [36]

Les autres causes de révision peuvent être l'instabilité (luxations), les fractures péri-prothétiques et l'infection. La luxation est définie comme la perte complète du contact articulaire entre la tête fémorale et la cupule (Figure I.13). Elle apparaît souvent dans les premiers mois après l'arthroplastie, avant que les tissus environnants soient entièrement reconstruits, et elle peut être principalement due à des facteurs liés au patient (sexe, âge, présence des troubles neuromusculaires,...), à la prothèse (couple de frottement, diamètre de la tête fémorale,...) et à la procédure chirurgicale (approche chirurgicale, positionnement du composant acétabulaire et fémoral, tension des tissus mous, expérience du chirurgien,...) [38,39]. Les fractures péri-prothétiques ont été reportées avec un taux allant de 12 % à 20 % et sont associées à des facteurs liés au patient (sexe, présence de polyarthrite rhumatoïde, présence de grandes lésions ostéolytiques, âge,...) et à la technique chirurgicale appliquée [40]. La cause la plus dévastatrice mais plus rare, qu'elle soit précoce ou tardive, est l'infection. Plusieurs facteurs de risques ont été mis en évidence, tels que l'obésité, le diabète, la corticothérapie, la dénutrition protidique, l'anémie, ou encore le tabagisme. Il est donc indispensable de prendre en compte ces facteurs de risques afin de limiter le risque infectieux, de sorte de qu'il semble parfois obligatoire de retarder ou contre-indiquer la chirurgie [41].

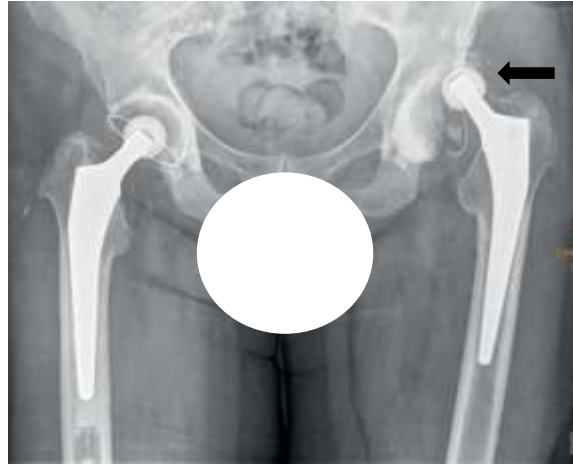


Figure I. 13. Radiographie d'une luxation de PTH sur le côté gauche, résultant d'un relâchement du composant acétabulaire. L'infection de la prothèse a entraîné un relâchement du composant acétabulaire et une luxation secondaire [39]

I.3. Couples prothétiques et usure au niveau de la hanche

Diverses combinaisons de biomatériaux sont utilisées actuellement dans les PTH afin d'optimiser l'implant et d'atténuer les risques de sa défaillance. Les combinaisons de matériaux les plus utilisées en arthroplastie de la hanche sont divisées en deux classes principales : dur-mou (couples métal-polyéthylène (MoP), céramique- polyéthylène (CoP)) et dur-dur (métal-métal (MoM) et céramique-céramique (CoC)). L'usure des surfaces articulaires est la principale menace qui peut raccourcir la durée de vie des implants et augmenter les taux de révision. Des millions de particules d'usure de tailles et de formes variées sont générées dans les surfaces articulaires et migrent vers les tissus périprothétiques provoquant ainsi des réactions inflammatoires et des complications.

La combinaison de la tête fémorale Cobalt-Chrome-Molybdène (CoCrMo) s'articulant sur le composant acétabulaire en polyéthylène à poids moléculaire ultra-élevé (UHMWPE) reste le couple de référence pour les PTH grâce aux excellents résultats à long terme disponibles. Ses bonnes propriétés physico-chimiques et mécaniques ont fait de l'UHMWPE le matériau de choix en arthroplastie de la hanche [42]. Néanmoins, les débris d'usure de l'UHMWPE, ayant une taille comprise entre 0,1 et 10 μm et de formes diverses et irrégulières [43,44], ont été l'inconvénient majeur des PTH avec les couples dur-mou (MoP et CoP), ce qui peut être l'origine des complications telles que l'ostéolyse, la luxation de l'implant et le descellement aseptique [45]. Cependant, certaines avancées liées à la diminution du taux d'usure des débris

UHMWPE ont été développées comme la réticulation par irradiation, traitement thermique ou adjonction antioxydant [46].

Des nouvelles générations des implants avec des couples dur-dur, sont disponibles sur le marché pour réduire le taux d'usure volumétrique et résoudre le problème des débris d'usure UHMWPE [47]. L'introduction de ces couples de frottement a réduit le taux d'usure de 0,1 à 1 et de 0,02 à 0,1 mm³ / million de cycles pour les couples MoM et CoC, respectivement [48,49]. Cependant, des nouveaux problèmes liés aux petites particules métalliques et leur relation avec l'environnement local ont été soulevés [50].

L'utilisation des implants en MoM a chuté de un tiers des cas aux États-Unis et plus de 1 cas sur 5 au Royaume-Uni en 2000 à moins de 1% des cas aujourd'hui [50]. Cette chute a été attribuée à la libération importante de particules métalliques (ayant une taille beaucoup plus petite que celle des particules de UHMWPE), qui peuvent induire des réactions locales au niveau des tissus périarticulaires et des réactions systémiques avec élévation de la quantité d'ions chrome et cobalt dans le sang [51]. Ces réactions peuvent prendre différents aspects : réactions histologiques spécifiques connues sous le nom d'ALVAL (aseptic lymphocyte-dominated vasculitis-associated lesion) [52], nécrose tissulaire local dû à la corrosion appelé métallose [53] et développement de masses liquidiennes ou solides qualifiées de pseudo-tumeurs [54]. Toutes ces manifestations locales sont regroupées sous le terme de réactions indésirables aux débris métalliques (adverse reactions to metal debris ou ARMD) et peuvent apparaître à court, moyen et long termes après l'implantation [55].

II. Le couple Céramique-Céramique dans les prothèses totales de hanche

II.1. Généralités sur le couple CoC

La «céramique» est généralement définie comme «un matériau inorganique non métallique traité ou consolidé à des températures élevées [56]. Etant donné les propriétés mécaniques, tribologiques et biologiques des matériaux céramiques, le couple CoC constitue un choix intéressant pour résoudre le problème des particules d'usure et assurer la survie à long terme de la prothèse de hanche surtout pour des sujets jeunes et actifs.

Concernant ses propriétés mécaniques, la céramique est caractérisée par une bonne résistance mécanique, une faible densité et une forte dureté (le diamant est le seul matériau plus dur que

la céramique). De plus, le comportement fragile de la céramique provoque sa rupture brutale sans déformation plastique (voire très peu) mais plutôt suite à une déformation plastique très localisée aux alentours d'un défaut du matériau comme les joints de grains, les porosités, les microfissures sous l'effet de concentration des contraintes mécaniques. Par ailleurs, les céramiques sont des matériaux extrêmement rigides, (avec un module d'élasticité 380 GPa respectivement 100 et 300 fois plus rigide que les polymères et l'os), entraînant des conséquences multiples : tout d'abord, la sphéricité des surfaces de frottement doit être très précise, pour avoir une parfaite congruence, réduire au maximum les contraintes locales et permettre une bonne lubrification de l'interface [57,58]. Ensuite, la différence d'élasticité entre la céramique et l'os augmente les contraintes en cisaillement au niveau de l'interface, ce qui explique ainsi les difficultés de fixation des cotyles en céramique rencontrées dans le passé [59].

Plusieurs facteurs agissent sur les propriétés tribologiques de la céramique tels que ses propriétés physico-chimiques (mouillabilité, dureté,...), sa qualité (taille des grains, pureté,...), les interfaces d'articulation des implants (sphéricité, fini de surface, « clearance » ou jeu articulaire,...). La haute mouillabilité des matériaux céramiques garantit la présence du film de lubrification, entraînant un faible coefficient de frottement. De plus, la « clearance » et la rugosité (rugosité moyenne arithmétique R_a de l'ordre du nanomètre) jouent un rôle majeur pour améliorer la résistance à l'usure des couples prothétiques en CoC. En effet, plus la « clearance » est faible (20 à 100 μm), plus les surfaces sont conformes et plus l'air de contact est élevée afin de garantir une meilleure lubrification et une plus grande distribution des contraintes de surface. Encore, plus la rugosité est importante (plus d'aspérités de surface), plus de déformations et des microfissures se créent localement contribuant à la dégradation des surfaces d'articulations. La dureté des matériaux céramiques assure un état de surface faiblement rugueux en comparaison avec les autres matériaux utilisés dans les couples prothétiques [60,61].

Les céramiques utilisées dans les couples prothétiques sont classées comme biologiquement inactives en raison de la réponse tissulaire lorsqu'elles sont implantées dans un environnement osseux. La réponse tissulaire à un implant biologiquement inactif, presque inerte, se présente soit par la formation d'une capsule fibreuse non adhérente soit sous forme d'un contact direct entre la prothèse en céramique et l'os. L'épaisseur de la couche fibreuse dépend de nombreux facteurs, tels que les conditions de l'implant et du tissu hôte, les conditions de mouvement et d'ajustement à l'interface et la charge mécanique. La stabilité mécanique des implants en céramiques dans l'os est obtenue par leur géométrie et par le frottement. L'os croît en

irrégularités de surface et se remodèle autour de l'implant pour optimiser les contraintes. Ce type d'attachement est appelé «fixation morphologique». La formation de cette membrane fibreuse est favorisée par la présence des forces de cisaillement alors que le contact direct est favorisé par les forces en compression [62,63].

La durée de vie actuelle des PTH est en moyenne de 15 à 20 ans. Toutefois, le vieillissement de la population et l'implantation des prothèses chez des patients de plus en plus jeunes exigent une durée de vie des prothèses supérieure à une trentaine d'années. L'utilisation de céramiques est devenue une bonne alternative pour remplacer le métal et polymère à cause de toutes leurs complications précédemment présentés. De ce fait, il est indispensable d'améliorer la fiabilité des matériaux céramiques utilisées qui sont l'alumine, la zircone ainsi que les composites alumine-zircone.

II.2. L'Alumine (Al_2O_3) en tant que biomatériau

L'oxyde d'alumine (Al_2O_3) a été le premier matériau céramique massivement utilisé en orthopédie. Il a été introduit dans le couple prothétique des PTH dans les années 70 [36]. Il s'agit d'une céramique dense polycristalline obtenue à partir de poudre d'oxyde d'aluminium compressée à très haute température (1600°C). L'alumine est présente une très bonne biocompatibilité et elle est stable chimiquement et résistante à l'usure car elle a une dureté élevée malgré sa ténacité modérée qui demeure un inconvénient à prendre en compte. La taille moyenne des grains de l'alumine doit être inférieure à 2,5 μm conformément à la Norme ISO 6474-1 : 2019. Il est d'une pureté très élevée (>99.5) et de haute densité (>3.94), permettant de résister à la corrosion in vivo. Sa mouillabilité est ainsi plus élevée que celle des métaux et polymères (angle $\alpha = 44^\circ$) ce qui assure une lubrification articulaire optimale [64,65].

Trois générations d'alumine peuvent être distinguées : l'alumine de première génération (les années 1974-1988) avait une basse densité, une porosité élevée ainsi qu'une grande taille de grain. Par la suite, la deuxième génération (1988-1994) céramiques d'alumine a été introduite dans le marché (dont BioloX® de CeramTec) avec une dureté et une résistance à la flexion plus élevées, ainsi qu'une taille de grain plus petite. L'amélioration des procédés de fabrication telle que le pressage isostatique à chaud (HIP « hot isostatic pressing ») a permis de développer les propriétés mécaniques et tribologiques de l'alumine et a conduit à la troisième génération (depuis 1997), dont BioloX® forte, ayant une encore plus petite taille de grain et une très haute pureté (Figure I.14) [57, 66-68].

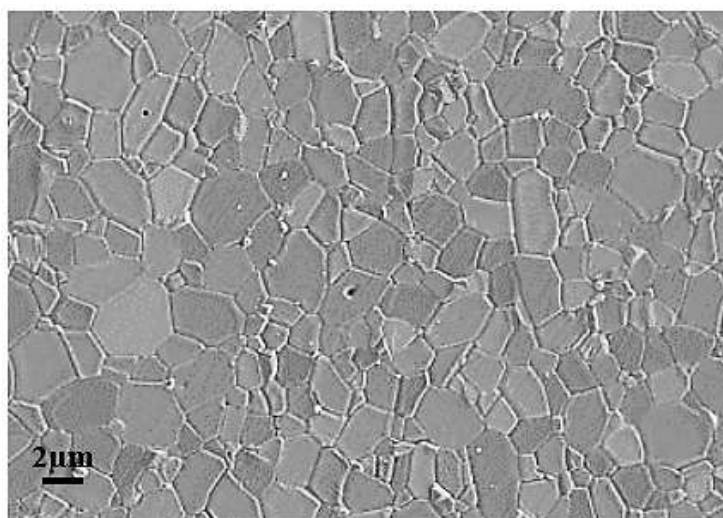


Figure I. 14. Microstructure de la 3^{ème} génération de l'alumine, avec une taille moyenne des grains $\leq 2\mu\text{m}$ [66]

II.3. La Zircone (ZrO_2) en tant que biomatériau

La zircone, ou l'oxyde de zirconium (ZrO_2), a été introduite en orthopédie dans les années 1980 comme une alternative pour les prothèses en alumine. Elle montre des caractéristiques mécaniques importantes telle qu'une ténacité élevée, une excellente résistance à l'usure et une haute contrainte à la rupture. La taille moyenne des grains de zircone ne doit pas dépasser $0,6\mu\text{m}$ selon la norme ISO 13356 : 2015 [69]. En comparaison avec l'alumine, ces caractéristiques permettent le développement des implants à la fois soumis à des chargements mécaniques plus élevés et ayant des nouvelles géométries telles que les têtes fémorales de petit diamètre (22 mm) [66,70]. Le principal désavantage de la zircone est son instabilité chimique à basse température ou le phénomène de dégradation à basse température LTD («Low Temperature Degradation»). Au début des années 2000, une série des ruptures des têtes fémorales en zircone Prozyr® après moins de deux ans de l'implantation a été associée à ce phénomène de vieillissement de sorte qu'une question controversée a été fortement posée sur l'avenir de la zircone en tant que biomatériau [71].

La zircone pure existe sous forme de trois phases cristallines : la phase monoclinique stable à basse température (de la température ambiante jusqu'à 1170°C), la phase quadratique ou tétragonale stable entre 1170°C et 2370°C et la phase cubique stable en haute température (de 2370°C à 2680°C) [72]. La transformation de phase tétragonale-monoclinique (t-m) est un élément fondamental dans le matériau zircone. Lors du refroidissement, la transformation de la

phase tétragonale (t) à la phase monoclinique (m) induit des contraintes de cisaillement et une augmentation substantielle du volume ($\sim 4,5\%$) [73]. Cette expansion volumique génère un champ de contraintes de compression qui s'oppose aux contraintes de tension pour ralentir la propagation de la fissure : c'est le mécanisme de renforcement par transformation de phase [74].

Bien que ce soit généralement bénéfique, la transformation de phase (t-m) peut également être déclenchée par un environnement humide tel que celui de la hanche, ce qui réduit la ténacité à la rupture [75] et augmente la rugosité des surfaces [76]. Il est donc primordial d'empêcher cette transformation de phase au cours de la préparation du matériau particulièrement lors du refroidissement après frittage. En effet, les phases quadratique et cubique à température ambiante montrent des propriétés mécaniques bien plus intéressantes que la phase monoclinique d'où l'idée du maintien de ces deux phases. Plusieurs facteurs ont un impact sur la métastabilité de la transformation comme la pureté, la taille des grains, la forme des particules, le type et la quantité des oxydes stabilisants, la rugosité de surface et le procédé de frittage. La technique la plus utilisée pour le maintien de la phase tétragonale pour les zircons est le dopage par des éléments d'alliage tels que les oxydes d'yttrium, cérium, magnésium et calcium. La zircone stabilisée à l'yttrium, Y-TZP (« Ytria stabilized Tetragonal Zirconia Polycrystal »), 2-3 % molaire d'yttrium, est la composition la plus utilisée depuis les années 1990 montrant des meilleures propriétés mécaniques et stabilité chimique (Figure I.15) [70].

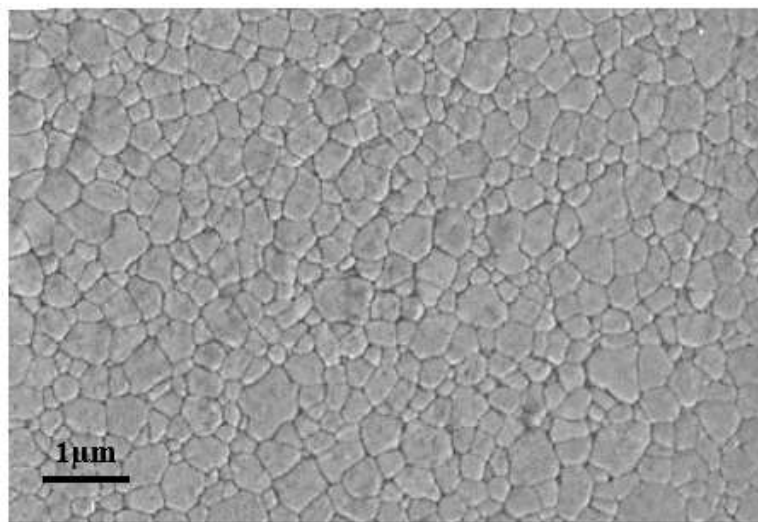


Figure I. 15. Microstructure de la zircone stabilisée à l'yttrium (Y-TZP) [66]

II.4. Les composites d'Alumine-Zircone biomédicale

Les composites céramiques sont une deuxième alternative, plus largement disponible, à la zircone après le zirconium oxydé [77]. Le principe de l'introduction des céramiques composites alumine-zircone consiste à avoir une combinaison des propriétés de chacun de ces deux matériaux : la dureté et la stabilité chimique de l'alumine ainsi que le mécanisme de renforcement par transformation de phase caractérisant la zircone. Le bon compromis de ces deux matériaux est d'atténuer leurs désavantages à savoir les phénomènes de rupture fragile et de vieillissement à basse température, respectivement. Deux classes majeures de composites ont été distinguées en fonction du constituant majoritaire : la zircone renforcée en alumine ou « Alumina Toughened Zirconia » (ATZ) et l'alumine renforcée en zircone ou « Zirconia Toughened Alumina » (ZTA).

Pour les composites ATZ, le constituant majoritaire représente la zircone avec environ 80 % volumique. Le but d'ajouter les grains d'alumine consiste à améliorer la dureté du matériau tout en gardant une bonne ténacité et résistance à la flexion de la zircone. La sensibilité de cette combinaison au phénomène du vieillissement à basse température est améliorée garantissant un certain niveau de stabilité avec l'addition des particules d'alumine en comparaison avec la zircone monolithique [78,79].

Les composites ZTA ont été introduites dans les applications prothétiques dans les années 2000 dont Biolox® Delta du Ceramtech en 2003. Elles sont constituées d'une composition riche en alumine (l'alumine est la phase primaire ou continue avec 70 à 95%) où la zircone (constitue la phase secondaire avec 30% à 5%) est uniformément dispersée dans la matrice d'alumine (Figure I.16).

À condition que la majeure partie de la zircone soit retenue dans la phase tétragonale, l'ajout de zircone à l'alumine se traduit par une résistance et une ténacité à la rupture plus élevées avec une faible réduction de la dureté et du module élastique par rapport aux céramiques d'alumine monolithiques. De plus, les excellentes caractéristiques d'usure et la faible sensibilité au vieillissement des céramiques d'alumine sont également préservées dans les ZTA [80].

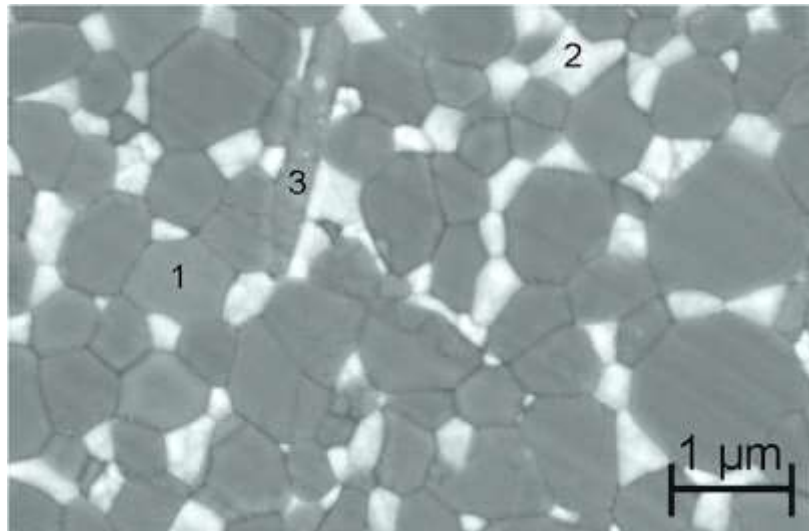


Figure I. 16. Microstructure d'une composite ZTA BioloX® Delta : (1) grain d'Alumine ; (2) grain de Zirconie stabilisé à l'Yttria ; et (3) plaquette de strontium [81].

Cette thèse porte sur l'étude de la composite BioloX® Delta. Ce matériau se compose d'une matrice d'alumine à 80 % volumique, de particules de zirconie stabilisée à l'yttrium (1,3 % molaire) à 17 % et quelques traces d'oxyde de strontium (3 %). La matrice d'alumine est renforcée par les grains de zirconie stabilisée à l'yttrium, dont la taille des grains est inférieure au micron. L'oxyde de strontium se présente dans la microstructure de cette composite sous la forme des plaquettes assurant un second mécanisme de renforcement mécanique par dispersion de l'énergie de propagation des fissures (Figure I.17) [82,83].

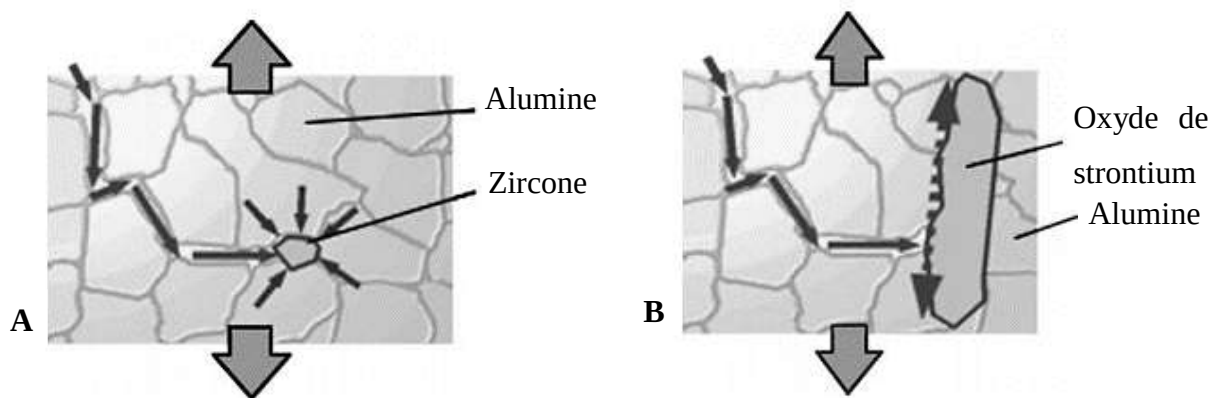


Figure I. 17. Mécanismes de renforcement de BioloX® Delta : A) Mécanisme de métastabilité des grains de zirconie à l'intérieur de la matrice d'alumine. B) Mécanisme du blocage de propagation des fissures [82]

II.5. Complications liées aux couples CoC d'une PTH

Les couples CoC ont réussi à donner d'excellents résultats dans la grande majorité des cas particulièrement après l'introduction des composites alumine-zircone. Cependant, même avec la mise en œuvre de nouvelles céramiques, le risque de défaillance des composants est toujours présent chez un petit pourcentage de patients, même si la prothèse a été posée convenablement. Ces complications représentent un événement catastrophique qui nécessite inévitablement une révision chirurgicale.

II.5.1. Fracture de l'implant coxofémoral

L'une des complications possibles pour le couple CoC est la fracture du composant céramique constituant les surfaces de frottement de la prothèse (la tête fémorale et la cupule). Ces fractures surviennent généralement sur certaines prothèses posées dans le passé, et ont tendance à diminuer avec l'évolution technologique des dernières années [84]. En effet, les matériaux céramiques contemporains sont très différents de ceux associés aux taux élevés de fractures signalés dans les années 1970. Les nouvelles techniques utilisées pour l'amélioration des céramiques ont permis la réduction de la taille des grains et l'augmentation de la densité de la céramique avec un renforcement de ses propriétés mécaniques, ce qui rend ces fractures de plus en plus rares. Cependant, lorsque cela se produit, un composant en céramique fracturé peut provoquer une douleur et une morbidité importantes après une Arthroplastie Totale de la Hanche (ATH). Les débris de particules dures et tranchantes des composants céramiques fracturés peuvent endommager la prothèse de hanche existante et compromettre les résultats de la révision ultérieure [85]. Les fractures céramiques peuvent s'expliquer par la propagation d'une fissure initiée dans le matériau par l'imperfection du matériau ou par un événement spécifique qui initie la fissure. En raison de la structure du grain de céramique, la fissure initiale va se développer et entraîner une fatigue de rupture [86].

La majorité des cas reportés sont pour des fractures des têtes fémorales. D'après la littérature disponible, le seul facteur associé au risque de fracture de la tête en céramique est l'utilisation de têtes à col court de 28 mm. En effet, la distance entre le coin de l'alésage de la tête et la surface externe de la tête en céramique est plus petite en comparaison avec les conceptions de col moyen et long, facilitant ainsi la propagation des fissures [87,88]. Les taux signalés de fractures de la tête en céramique et la génération de matériaux utilisés sont présentés dans le tableau I. 2.

Tableau I. 2. Taux des fractures de la tête fémorale en céramique

Auteurs	Type de céramique	N° implants	N° fractures	%
Lee et al. [85]	3 ^{ème} génération (BioloX Forte)	86	2	2.2
Aldrian et al. [89]	2 ^{ème} génération (BioloX)	107	3	2.8
Koo et al. [87]	3 ^{ème} génération (BioloX Forte)	367	5	1.4
Yoo et al. [90]	3 ^{ème} génération (BioloX Forte)	72	2	2.8
Toni et al. [91]	1 ^{ère} génération (Alumine)	82	2	2.4

La fracture de la cupule en céramique est généralement un événement subtil et n'est pas directement liée aux traumatismes. La survenue de cette fracture se situe entre 0,013% [92] et 1,1% [93] des patients ayant un implant CoC. L'hypothèse la plus acceptée comme facteur causal de l'échec de l'implant CoC est le conflit cyclique (ou ce qu'on appelle « impingement ») entre le col de la tige et le composant acétabulaire. Ce mécanisme peut engendrer une subluxation de la tête avec des contraintes maximales sur le côté opposé de la cupule, provoquant ainsi sa fracture. Dans ce contexte, la malposition de la cupule sur le plan axial et son désalignement par rapport à la tige et au bassin lui-même pendant l'insertion se sont révélés être les facteurs pertinents affectant le risque de fractures de la cupule [93,94]. Les taux signalés de fractures de la tête en céramique et la génération de matériaux utilisés sont présentés dans le tableau I. 3.

Tableau I. 3. Taux des fractures de la cupule en céramique

Auteurs	Type de céramique	N° implants	N° fractures	%
Hamilton et al. [93]	4 ^{ème} génération (BioloX Delta)	177	2	1.1
Choi et al. [95]	3 ^{ème} génération (BioloX Forte)	173	1	0.6
Traina et al. [94]	Non spécifié (chirurgies 2000-2010)	6648	22	0.3

II.5.2. Phénomène de « Squeaking »

Le «squeaking » est un terme anglais utilisé pour désigner l'émission parasite de bruits par une prothèse, typiquement un bruit de grincement, coincement ou plus rarement claquement. D'origine vibratoire, ces bruits sont audibles par le patient et son entourage. L'impulsion à la surface d'appui d'une prothèse de hanche est le frottement, amplifié par la vibration des

composants [96]. Il s'agit d'un phénomène audible presque exclusif aux couples dur-dur dont l'incidence pour les couples CoC varie selon les différentes études où la prévalence était de 0,5% à 20% [97- 99]. Les causes du grincement de la hanche semblent être multifactorielles, nécessitant une certaine combinaison d'interaction entre le patient, l'implant et les facteurs chirurgicaux.

Plusieurs facteurs reliés aux patients tels que ; l'âge, le sexe, la taille et le poids peuvent contribuer au grincement. En effet, un taux de grincement significativement plus élevé chez les patients plus grands [99] , plus lourds et plus jeunes [100] a été signalé. Également, le sexe est un facteur contributif puisque les hommes ont montré une fréquence plus élevée de grincements [95]. En plus des facteurs démographiques des patients, le type d'activité tel que la marche, la flexion et la montée d'une position assise basse a été associé à l'apparition du problème de grincements [97,101]. Cela suggère que les grincements sont générés pendant le pendant le cycle de marche ou lors d'une flexion extrême de la hanche en flexion. Cette amplitude de mouvement excessive peut entraîner un impingement, une micro-séparation et une charge sur les bords (ou «edge-loading»), entraînant ainsi le bruit au niveau de l'articulation de la hanche.

L'orientation des composants prothétiques est considérée comme un facteur important dans la génération de bruit. Une position incorrecte des composants peut entraîner un impingement, une charge sur les bords et une usure accrue. Une cupule cotyloïdienne placée à 25 ± 10 degrés d'antéversion et 45 ± 10 degrés d'inclinaison réduirait considérablement le risque de grincement (Figure I.18). Dans les positions extrêmes de la cupule, un grincement peut être généré par un impingement direct du col du composant fémoral et de la cupule (grincement en titane) ou par «edge-loading» entre la tête et la cupule en céramique (grincement en céramique) [102].

Les facteurs de conception des implants ont également été impliqués dans les grincements. Le bord élevé du dispositif Trident (Stryker Orthopaedics, Mahwah, NJ) a été associé à des taux de grincement plus élevés que la normale, probablement en raison de la plage de mouvement réduite qu'il permet, ce qui augmente à son tour le risque de «edge-loading» et impingement des bords [103]. Des taux accrus de squeaking ont également été signalés avec certaines paires d'implants, comme le composant cotyloïdien Trident et la tige Accolade (Stryker Orthopedics, Mahwah, NJ). Le taux est significativement plus faible lorsque le dispositif Trident est associé à une tige Omnifit (Stryker Orthopaedics, Mahwah, NJ), les trois implants sont fabriqués par Stryker. Les différents facteurs de conception qui peuvent potentiellement être liés à l'incidence plus élevée de grincements produits par la tige Accolade sont la géométrie de la tige, la

dimension du cône et la composition du matériau. Le composite et la géométrie de l'alliage de tige Accolade créent une tige plus flexible avec un diamètre avant-arrière plus mince qui a un potentiel clinique pour réduire la douleur à la cuisse, mais en raison de sa flexibilité, elle peut résonner davantage, produisant ainsi un grincement [104].

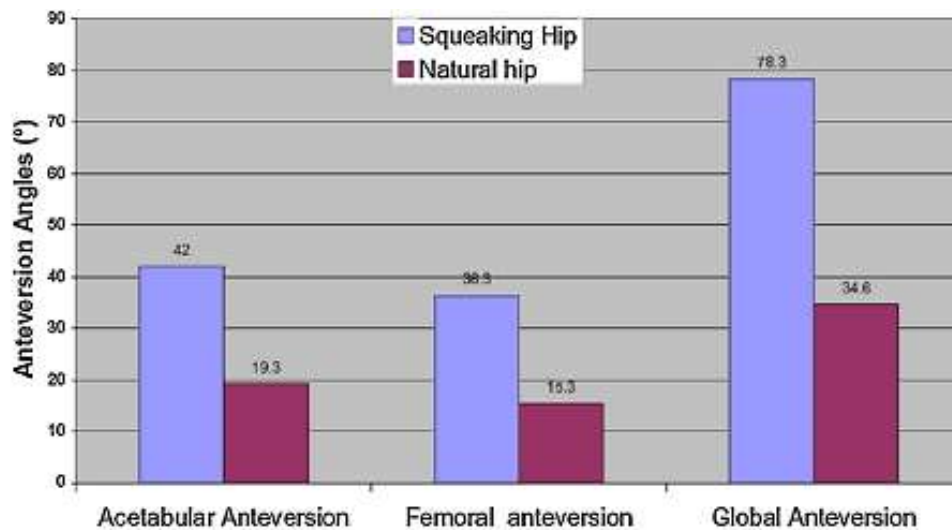


Figure I. 18. Comparaison des angles d'antéversion entre des hanches grinçantes et des hanches saines [102]

La forme la plus courante de grincement rencontrée est bénin, le patient ne ressent généralement aucune douleur et la fonction de la hanche n'est pas affectée. Le patient remarque des grincements intermittents, qui sont généralement provoqués par une activité spécifique (se pencher en portant) et bien tolérés. Dans ce cas, les composants sont bien positionnés et il y a peu ou pas d'usure. Cela peut généralement être évité en conseillant au patient de faire pivoter le pied à l'extérieur tout en portant un poids. Cependant, dans des cas plus rares, les patients peuvent ressentir de la douleur et décrire le bruit comme étant «intrusif» à chaque étape, ce qui peut affecter la fonction de la hanche. Les composants sont généralement mal positionnés dans ce cas et associés à une usure élevée [96].

III. Outils pour l'étude du comportement tribologique du couple CoC

Bien que la longévité des PTH soit multifactorielle, la tribologie des surfaces d'appui (friction, lubrification et usure) est considérée comme la plus importante. En conséquence, des concepts tribologiques essentiels ont besoin d'une explication pour mieux comprendre le comportement

tribologique des implants en céramique, comme le triplet tribologique, le troisième corps, le circuit tribologique et les mécanismes d'accommodation de la vitesse.

III.1. Principes de la tribologie

Le mot tribologie, dérivée du terme grec « tribos » signifiant frotter, est défini comme la science qui étudie l'interaction des surfaces en mouvement relatif (selon le dictionnaire Oxford) [105]. Le domaine de la tribologie consiste principalement à l'étude du frottement, de l'usure et de la lubrification : le frottement qui est la réaction s'opposant à un déplacement imposé entre deux surfaces en contact, l'usure étant la conséquence de la dégradation des couches superficielles d'un solide caractérisée par une perte progressive de matière et la lubrification qui permet d'introduire un fluide entre deux surfaces en contact [106,107].

Les lois de frottement, apte à résoudre la plupart des problèmes concernant le frottement, avaient été introduites, pour la première fois, par Léonard De Vinci. Il a énoncé les lois régissant le mouvement d'un solide coulissant sur une surface plane et il est aussi le premier à introduire la notion de coefficient de friction comme le rapport de la force de frottement à une charge normale. Puis, en 1699, Amontons avait observé et décrit le glissement à sec entre deux surfaces planes ce qui peut être récapitulé en deux principes [107] :

- La force tangentielle de frottement T qui résiste au glissement sur une surface plane est directement proportionnelle à la charge normale N .
- La force de frottement T ne dépend pas de l'étendue de la zone de contact entre les deux surfaces à une charge N donnée mais plutôt de l'état de ces surfaces (rugosité, nature de matériau...)

Ces deux principes donnent naissance à une formule exprimant la loi de frottement suivante :

$$T = \mu_s N$$

μ_s Étant le coefficient de frottement statique relatif à la nature des deux matériaux en contact et de leur état de surface.

Ces lois ont été vérifiées par Coulomb [107,108] qui a ajouté la troisième règle suite à une étude du frottement de deux surfaces en mouvement l'une par rapport à l'autre :

- La force de frottement est indépendante de la vitesse de glissement.

III.2. Outils conceptuels en tribologie

III.2.1. Triplet tribologique et notion de troisième corps

La compréhension des phénomènes apparaissant à différentes échelles dans le mécanisme du frottement et d'usure nécessite l'étude du concept du triplet tribologique introduit par Godet [109] et Berthier [110]. Ce concept s'articule autour de trois notions principales : le mécanisme, les premiers corps et le troisième corps (Figure I.19).

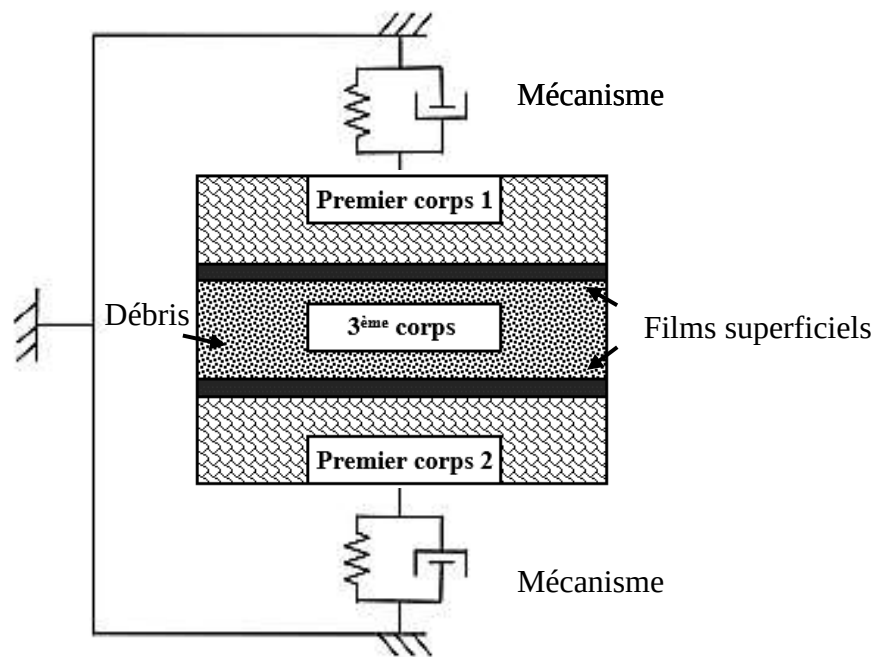


Figure I. 19. Représentation du triplet tribologique

- **Le mécanisme**

Il s'agit des sollicitations de contact qui impose une force, un déplacement et un environnement de frottement.

- **Les premiers corps**

Ils présentent les matériaux en contact qui supportent directement les sollicitations imposées par le mécanisme.

- **Le troisième corps**

C'est une zone intercalaire entre les deux premiers corps ayant un ordre de grandeur micrométriques ou nanométriques selon le mécanisme envisagé. Il se compose des films

superficiels (contaminants, molécules absorbées, films d'oxydes...), induits par la réactivité des surfaces, et des particules séparées (débris), induits lors du frottement par les processus de dégradation des surfaces [111]. Ce troisième corps joue quatre rôles principaux dans le contact [112,113] :

- sépare les premiers corps limitant éventuellement leur usure ;
- transmet et répartit la force normale ;
- accommode la vitesse de cisaillement (force tangentielle) entre les deux premiers corps ;
- extrait la chaleur du contact.

III.2.2. Circuit tribologique

L'interface de débris solides du troisième corps est soumise à un gradient de vitesse, ce qui permet de traduire son mouvement en termes de débits. Par l'écriture d'équations de débits, le modèle tribologique du troisième corps rejoint la mécanique des lubrifiants fluides : c'est ce qu'on appelle « rhéologie » du troisième corps. Le circuit tribologique présenté dans la figure I.20 est composé de l'ensemble des débits du troisième corps qui sont [112,114] :

- le débit source Q_s : correspondant à la contribution extérieure de particules Q_s^e mais particulièrement aux particules détachées Q_s^i issues des deux premiers corps,
- le débit interne Q_i : correspondant au débit du troisième corps emprisonné au contact et circulant entre les deux surfaces des premiers corps,
- le débit externe Q_e : correspondant aux particules de troisième corps éjectées du contact,
- le débit de recirculation Q_r : correspondant à la partie du débit externe appelé aussi débit de recyclage qui réalimente le contact,
- le débit d'usure Q_f : correspondant à l'autre partie du débit externe, présente les particules définitivement perdue dans le système tribologique. Plus l'usure des premiers corps est élevée plus le débit d'usure est important.

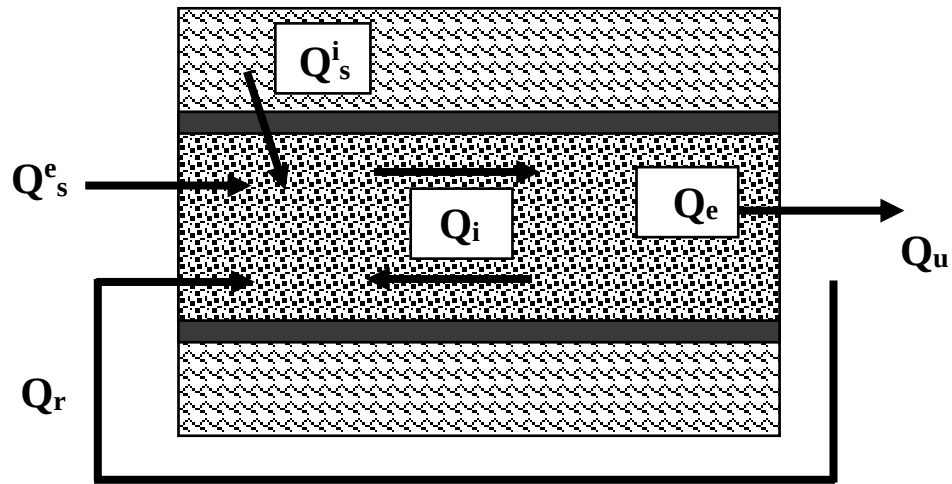


Figure I. 20. Circuit tribologique

III.2.3. Mécanismes d'accommodation des vitesses

L'identification du lieu et la nature du mouvement est primordiale pour l'étude de l'usure et du frottement de deux corps en contact. Ces notions représentent le mécanisme d'accommodation des vitesses noté « SiMj » schématisé dans la figure I.21. Le concept de l'accommodation de vitesse signifie que la différence de vitesse entre les premiers corps en contact est hébergée sur différents sites et selon différents modes.

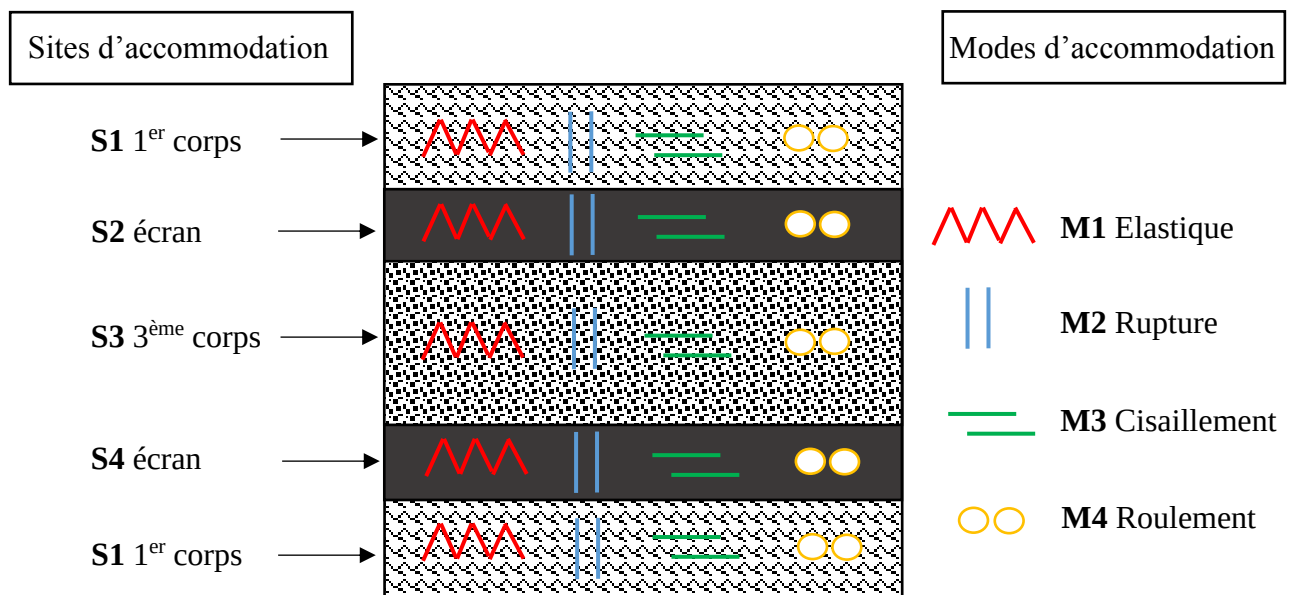


Figure I. 21. Mécanismes d'accommodation de vitesse

Les sites d'accommodation sont notées « Si » : S1 et S5 correspondent aux deux premiers corps, S3 représente la partie volumique du troisième corps ainsi S2 et S4 indique les écrans qui constituent la frontière entre les premiers corps et le troisième corps.

Les modes d'accommodation « M_j » sont regroupés en quatre types de comportement mécaniques élémentaires : la déformation élastique $M1$, la fissuration ou rupture normale $M2$, le cisaillement $M3$ et le roulement $M4$.

III.2.4. Mécanismes d'usure

De nombreuses études se sont intéressées aux mécanismes responsables à la dégradation des surfaces qui sont variés et conduisent à des évolutions géométriques des surfaces en contact par la perte des côtes, l'arrachement des particules sous forme des débris et l'endommagement des surfaces. Dans une paire de friction, le mécanisme d'usure dépend de la charge, de la vitesse de glissement, de la dureté et de la rugosité de la surface d'usure, de la lubrification, etc. Pour prendre en compte les raisons de la génération de débris, le mécanisme d'usure peut être classé en trois types : usure abrasive, usure due à la fatigue et usure adhésive [115,116], comme indiqué dans la figure I.22.

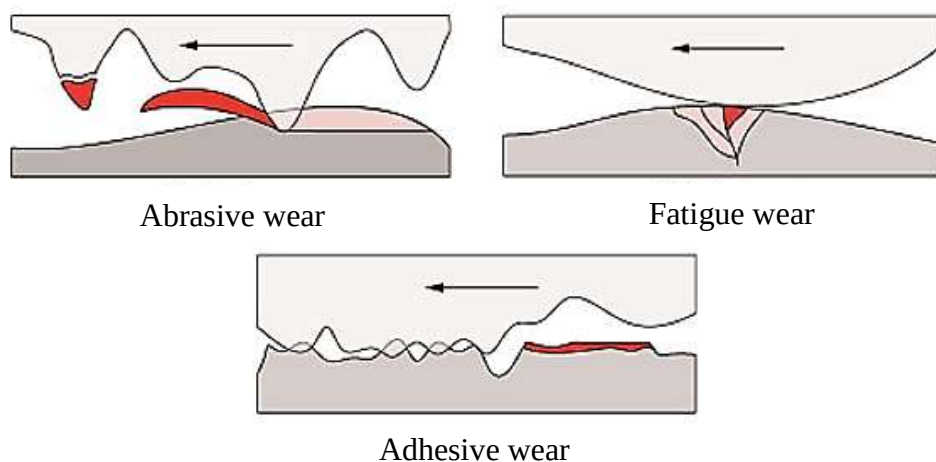


Figure I. 22. Mécanismes d'usure [148]

- Usure par abrasion

L'usure abrasive se produit généralement entre les surfaces molles et les aspérités dures. Dans ce type d'usure, une aspérité est rayée et devient une particule de débris lorsque l'aspérité n'est pas assez forte, ce qui se produit généralement pendant la période de rodage, et les débris sont généralement minuscules. Autrement, l'aspérité peut engendrer des rayures sur la surface molle et produire des débris de coupe lorsque l'aspérité est solide et que les débris sont généralement allongés. Une première étude a indiqué que le volume de débris est proportionnel à la charge et à la distance de glissement.

- **Usure par fatigue**

L'usure par fatigue se produit généralement sur des surfaces de contact périodiques telles que celles des roulements et des engrenages. Comme une force périodique fatigue un matériau, la surface d'usure serait brisée en de nombreuses particules de débris irrégulièrement en blocs et similaires à des piqûres régulières. Dans ce cas, le taux d'usure n'est pas trop élevé, mais la vibration augmentera rapidement lors de la formation de piqûres.

- **Usure par adhésion**

L'usure d'adhésif est un type dangereux, dans lequel beaucoup d'aspérités se mordent, et la température sur la surface de friction augmente rapidement de sorte que les conditions d'usure telles que la propriété du matériau et la lubrification se détériorent davantage. Bien que le taux d'usure par adhésion ne soit pas trop élevé, le composant est facile à décomposer brusquement en raison de l'augmentation de la friction causée par l'adhésion. Par conséquent, l'usure de l'adhésif est un présage du défaut de composant.

III.3. La biotribologie

La biotribologie est une branche de la tribologie qui s'intéresse à l'étude des triplets tribologiques vivants. On s'approfondira dans cette notion par une étude du triplet tribologique d'une articulation de hanche. L'articulation est faite de deux pièces osseuses en regard, protégées d'un cartilage hyalin, emboîtées dans un sac ou enveloppe articulaire. Sa face interne, intra articulaire, est tapissée par la membrane synoviale qui filtre le liquide synovial venant baigner la cavité articulaire d'une part, et assure la nutrition du cartilage de l'autre part. Le maintien passif et la coaptation de l'articulation est assuré par des ligaments intra articulaires. A l'extérieur de l'enveloppe articulaire, les muscles garantissent le maintien actif de l'articulation, sa protection, sa mobilité et sa stabilité.

Il est possible d'assimiler la structure d'une articulation mobile de hanche aux éléments du triplet tribologique : les surfaces des cartilages articulaires constituent les deux premiers corps et la synovie ou "fluide synovial" joue le rôle du troisième corps alors que le système musculo-ligamentaire représente le mécanisme (le système neuromusculaire est le générateur du mouvement alors que le système ligamentaire engendre les « liaisons flexibles » en imposant les degrés de liberté). Pareillement, cela est applicable au niveau de l'articulation de hanche suite à une arthroplastie de hanche (Figure I. 23).

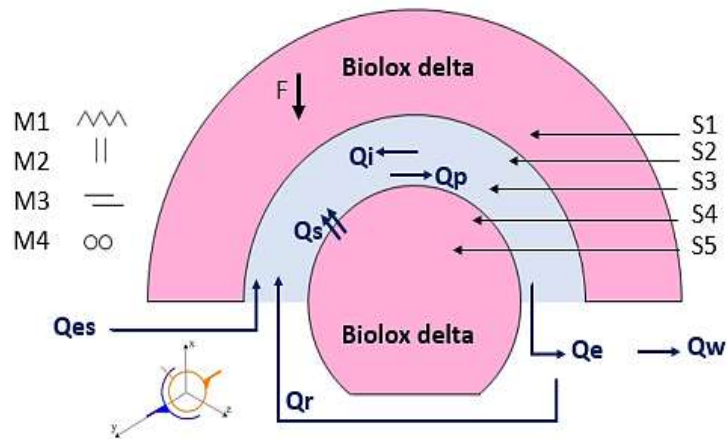


Figure I. 23. Schématisation du triplet tribologique, du circuit tribologique et des Mécanismes d'accommodation de vitesse au niveau d'une prothèse de hanche en ZTA

IV. Conclusion

L'arthroplastie totale de la hanche est une intervention chirurgicale qui représente la solution la plus efficace dans les cas des pathologies articulaires particulièrement pour les patients jeunes et actifs. Cependant, l'usure du couple prothétique peut engendrer des complications tels que le descellement aseptique ce qui peut conduire à une seconde intervention de révision.

D'autres alternatives des combinaisons de matériaux ont été développées afin de remédier aux problèmes d'usure du couple MoP particulièrement les couples CoC pour leurs caractéristiques mécaniques, tribologiques et biologiques. Néanmoins, les premières générations des matériaux céramiques (Alumine et Zircone) ont montré des désavantages liés à la rupture fragile associées à la faible ténacité pour l'Alumine et au vieillissement à basse température pour les Zircons, d'où le développement des composites Alumine-Zircone (ZTA) dans le but d'avoir une combinaison des propriétés de chacun de ces deux matériaux et ajuster les désavantages.

Les matériaux composites ZTA se sont montrés libres de tout effet combiné entre les modes de dégradation (vieillissement, usure et fatigue). Ces composites ont réussi à donner d'excellents résultats dans la grande majorité des cas particulièrement. Cependant, le risque de défaillance des composants est toujours présent chez un petit pourcentage de patients, même si la prothèse a été posée correctement. Ces complications sont la fracture des composants prothétiques et le « squeaking » et cela nécessite inévitablement une reprise chirurgicale. L'étude du comportement à l'usure des prothèses avec ce couple prothétiques est nécessaire pour fournir une meilleure compréhension de la vie de contact in vivo.

La prédiction de la performance à long terme d'un couple prothétique est basée principalement sur un test accéléré in vitro, dont l'objectif est de reproduire fidèlement les conditions réelles in vivo. Nous allons dans la suite à la question suivante : in vitro = in vivo ?

CHAPITRE II

MATÉRIELS ET MÉTHODES

Ce chapitre présente les techniques et les méthodes expérimentales mises en œuvre au cours de ce travail. Il est composé de cinq parties : la première décrit les implants céramiques mis en disposition pour une analyse et une caractérisation tribologique ; la seconde et la troisième portent sur l'ensemble des méthodes de caractérisation employées ainsi que la présentation du simulateur de marche sur lequel le test d'usure est réalisé ; la partie suivante s'applique à décrire le protocole de la culture cellulaire ; la dernière partie traite les différentes procédures de caractérisation employées afin d'analyser la réponse biologique des particules d'usure.

I. Implants utilisés

L'analyse des implants permet de fournir une meilleure compréhension de ce qui se passe dans la réalité au niveau des surfaces de contact des prothèses de hanche en céramique. Des observations de ces surfaces de contact en CoC à l'aide de différentes techniques de microscopie (des méthodes de caractérisation exclusivement non destructives) sont réalisées pour caractériser leur comportement tribologique. Tout au long de cette enquête tribologique, nous identifions les différents flux du 3^{ème} corps et les mécanismes d'accommodation de la vitesse contribuant à la vie de contact in vivo.

Il est difficile de se procurer des implants en céramiques composites ZTA. Trois implants CoC sont analysés, ces implants sont récupérés de trois patients différents soumis à une chirurgie de révision en raison essentiellement d'un problème de « squeaking ». Les caractéristiques des implants CoC récupérés sont résumées dans le tableau II.1.

La principale limite de cette étude concerne le nombre limité des implants analysées c'est pour cette raison cette caractérisation sera focalisée sur un côté qualitatif, sans être forcément en mesure d'interpréter ce qui est observé.

Tableau II. 1. Caractéristiques principales des implants analysés

Patient N°	Cause de révision	Durée	Diamètre tête (mm)	Diamètre Cupule (mm)	Matériau
1	Douleurs et squeaking	6 mois	36	58	Bilox Delta
2	Douleurs et squeaking	3 ans	36	52	Bilox Delta
3	Squeaking	5 ans	32	56	Bilox Delta

II. Méthodes de caractérisation des biomatériaux

II.1. Le profilométrie optique exploité

La profilométrie optique représente une technique de caractérisation non destructive. Il s'agit d'une méthode sans contact basée essentiellement sur le principe de la microscopie interférométrique en lumière blanche afin de déterminer le relief topographique des surfaces.

La lumière blanche de l'illuminateur générée par une lampe halogène est réfléchiée vers l'interféromètre (interfacée avec un traducteur, un miroir de référence et un objectif de microscope) par un séparateur de faisceau. Une fois que la lumière atteint l'objectif, un autre séparateur de faisceau sépare la lumière en deux faisceaux : le premier est dirigé sur un miroir de référence ; le second est guidé sur la surface de l'échantillon à analyser.

Si la surface de l'échantillon est mise au point, comme le montre la Figure II.1, les deux faisceaux lumineux se recombinent pour créer des bandes lumineuses et sombres appelées «franges» d'interférences à partir desquelles une image est construite. Les franges, comme les lignes sur une carte topographique, représentent la topographie de l'objet et peuvent être utilisées pour évaluer la rugosité de surface de l'objet échantillon ; plus le contraste entre ces franges est grand, plus l'échantillon est idéalement positionné au point focal et plus la qualité de l'image est bonne [117].

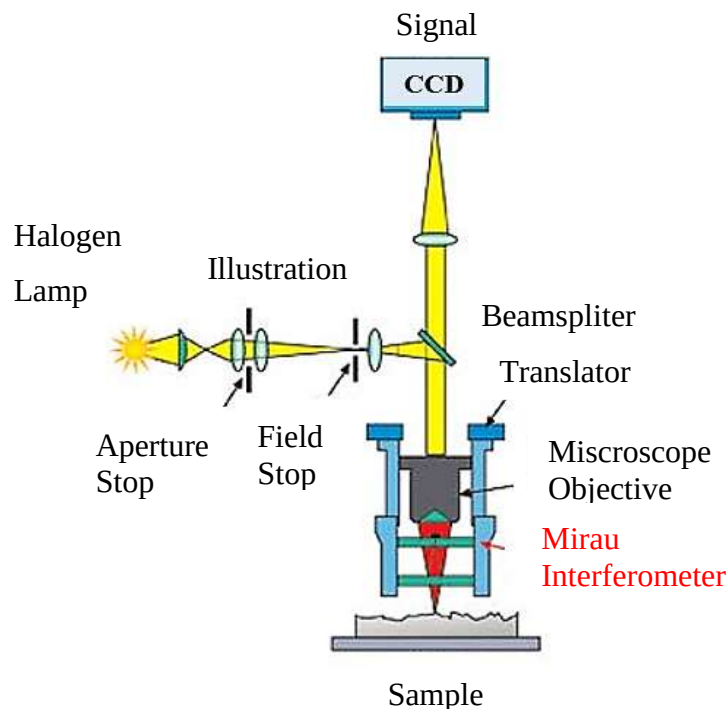


Figure II. 1. Schéma du profilomètre optique utilisé [117]

Le profilomètre utilisé est Altisurf© 500. Les mesures ont été effectuées avec une vitesse d'acquisition de $150 \mu\text{m s}^{-1}$ et un pas (la distance entre deux points) de $0,5 \mu\text{m}$. Les données acquises ont été traitées à l'aide du logiciel Mountain Map.

II.2. La microscopie Électronique à Balayage (MEB)

La microscopie électronique à balayage (MEB ou SEM pour « Scanning Electron Microscopy ») est une technique d'analyse de surfaces basée essentiellement sur le principe des interactions électrons-matière afin de fournir des informations sur la topographie de surface, la structure cristalline, la composition chimique et le comportement électrique du $1 \mu\text{m}$ ou plus du spécimen [118].

Un microscope électronique à balayage est principalement composé d'un canon à électrons et d'une colonne électronique permettant de produire un faisceau d'électrons projeté sur l'échantillon à analyser, des lentilles électromagnétiques pour focaliser le faisceau d'électrons sur l'échantillon, d'une platine porte-objet qui permet de déplacer l'échantillon dans les trois directions, ainsi que des détecteurs capable de capter et d'analyser les rayonnements émis par l'échantillon (Figure II.2). Ce microscope doit nécessairement être équipé d'un système de pompes à vide afin d'extraire l'air ou tout autre gaz contenu dans la chambre, afin d'en diminuer la pression.

L'interaction rayonnement-matière provoque la formation de différents types de particules et rayonnements émis par l'échantillon : électrons secondaires, électrons rétrodiffusés, électrons Auger et rayons X. Ces différentes particules ou rayonnements sont capables, par un détecteur qui lui est spécifique, d'apporter différents types d'informations sur la matière. La détection des électrons secondaires est la plus couramment utilisée et permet de fournir des renseignements sur la topographie de surface de l'échantillon. La détection des électrons rétrodiffusés permet d'obtenir un contraste de phase lié à la composition chimique de l'échantillon et de mesurer son homogénéité chimique. Des informations sur la composition de l'échantillon et plus particulièrement de la surface de l'échantillon ainsi que sur le type de liaison chimique peuvent être obtenus grâce à la détection des électrons Auger. La détection des rayons X permet d'obtenir des informations sur la nature chimique des atomes dont est constitué l'échantillon [119].

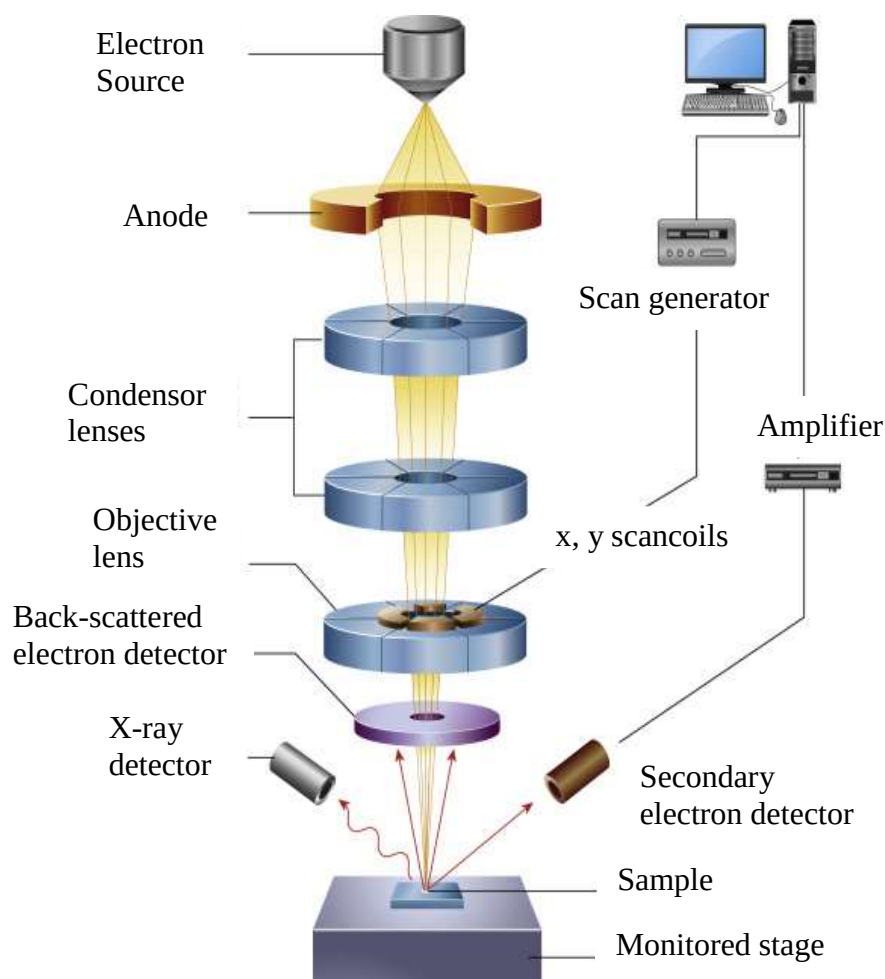


Figure II. 2. Principe de la microscopie électronique à balayage [120]

II.3. La microscopie à fluorescence

La microscopie à fluorescence représente une technique de microscopie optique appliquant le phénomène de fluorescence. Cette dernière est définie par la propriété que possèdent certains corps permettant d'émettre de la lumière en absorbant des photons de plus haute énergie. Le processus de la fluorescence implique l'absorption d'énergie lumineuse (un photon) par un indicateur suivie de l'émission d'une partie de cette énergie lumineuse (comme un autre photon) quelques nanosecondes plus tard. Puisqu'une certaine énergie est perdue dans ce processus, le photon émis a moins d'énergie que le photon absorbé. La lumière avec une courte longueur d'onde (vers le bleu) a une énergie plus élevée que la lumière avec une longue longueur d'onde (vers le rouge). Par conséquent, la lumière émise par un indicateur a généralement une longueur d'onde plus longue que celle de la lumière absorbée (excitation). Ce changement est appelé le décalage de Stokes. Les transitions moléculaires expliquant ces processus peuvent être représentées en termes de diagrammes d'énergie de Jablonski présentés dans la figure II.3 :

L'excitation (de S_0 à S_1) induite par une lumière laser à 488 nm (bleu) nécessite un photon ou par une lumière à deux photons à 800 nm (rouge) nécessite deux photons. Après relaxation aux niveaux d'énergie les plus bas, la transition inverse (de S_1 à S_0) libère un photon de plus grande longueur d'onde (vert). L'incidence des photons à 592 nm (longueur d'onde STED) induit le passage de S_1 à des niveaux élevés de S_0 et la suppression de la fluorescence [121].

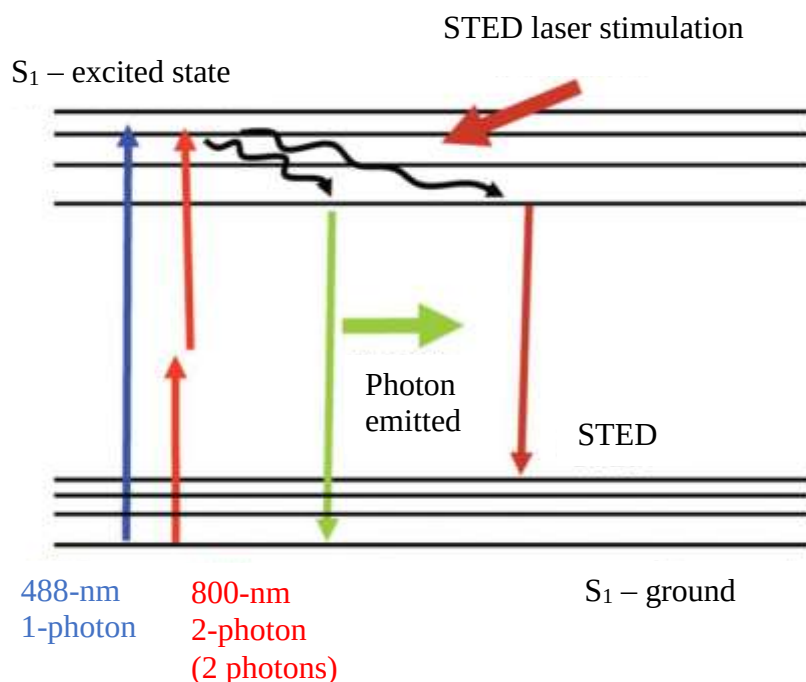


Figure II. 3. Modifications de l'état électronique des indicateurs fluorescents lors de l'excitation et de l'émission de photons (profils de Jablonski) [121].

En fluorescence on distingue deux types d'objets :

- les premiers peuvent émettre de la lumière fluorescente par eux-mêmes, il s'agit dans ce cas de « fluorescence primaire » ou autofluorescence ;
- les autres doivent être combinés à une substance fluorescente afin d'émettre de la fluorescence et dans ce cas il s'agit de « fluorescence secondaire ».

En microscopie de fluorescence, nous avons donc la possibilité de visualiser soit directement des substances fluorescentes soit des substances, des cellules et des molécules non fluorescentes en les marquant par des substances appelées fluorochromes.

L'utilisation d'échantillons minces représente une limitation sévère à de nombreux efforts de recherche. Cependant, avec l'ajout de l'épaisseur des échantillons, l'augmentation de la lumière floue entrave l'imagerie. La microscopie confocale à balayage laser peut présenter une solution dans ce cas.

L'objectif de la microscopie confocale est de rejeter la lumière floue de l'image à travers une ouverture qui garantit que la lumière atteignant le détecteur provient uniquement du point équivalent (confocal) dans l'échantillon où la lumière d'excitation était focalisée. En balayant l'excitation confocale et le point de détection à travers l'échantillon, une image peut être compilée séquentiellement, pixel par pixel, en enregistrant l'intensité de fluorescence à chaque position (Figure II. 4). Le laser et l'ouverture restent stationnaires, mais l'emplacement sur lequel ils sont focalisés est déplacé optiquement à travers l'échantillon par une paire orthogonale de miroirs oscillants.

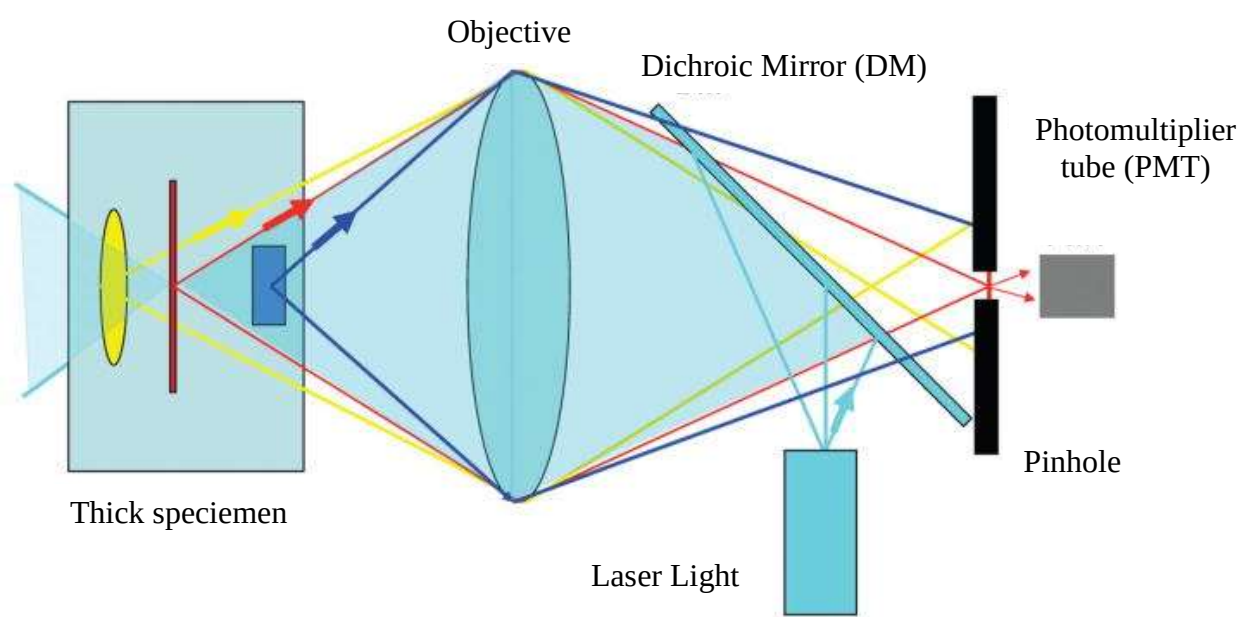


Figure II. 4 . Principe de fonctionnement d'un microscope confocal à balayage laser [121].

III. Le simulateur de marche

Le simulateur de marche est une machine utilisée pour tester les implants dans des conditions proches de celles qui se produisent au niveau des articulations de la bio-structure. Les simulateurs sont nécessaires pour effectuer des tests d'usure sur les biomatériaux avant l'implantation dans le corps humain afin d'obtenir un contrôle de qualité et d'acquérir des connaissances supplémentaires sur les processus tribologiques qui impliquent les prothèses articulaires [122].

Le simulateur de marche utilisé (858 Mini Bionix II test system, MTS) permet de pour simuler la biomécanique de l'articulation de hanche durant un cycle de marche dans un état contrôlé selon la norme ISO 14242-1 (ISO standard 14242-1, 2014) et l'appliquer sur un couple prothétique d'une prothèse de hanche (Figure II. 5).

Durant ce test d'usure, la tête de la prothèse reste immobile tandis que la cupule subit les mouvements articulaires reproduisant les mouvements anatomiques naturels de flexion/extension, abduction/adduction, et rotations interne/externe (chapitre 1). Le degré angulaire de ces mouvements est ainsi défini pour la marche comme suit : flexion +25°, extension -18°, abduction +7°, adduction, -4°, rotation interne +2° et rotation externe -10°.

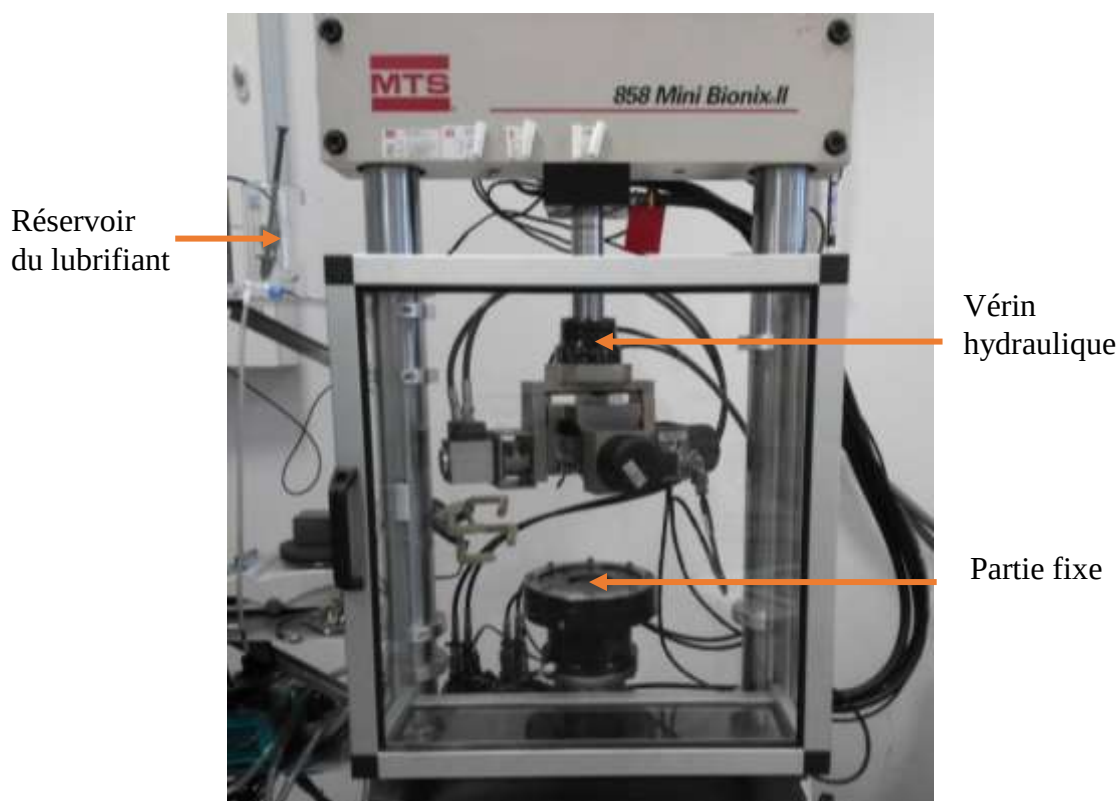


Figure II. 5. Simulateur de marche à commande hydraulique utilisé (Technologie MTS dynamique)

Le test d'usure est sous une charge cyclique, caractérisée par un double maximum à 3 kN, et une fréquence de 1 Hz pour 5 millions de cycles (Figure II. 6). Le lubrifiant employé est le sérum bovin Biowest dilué à une concentration en protéines de 30 g / L, comme requis dans la norme ISO 14242-1.

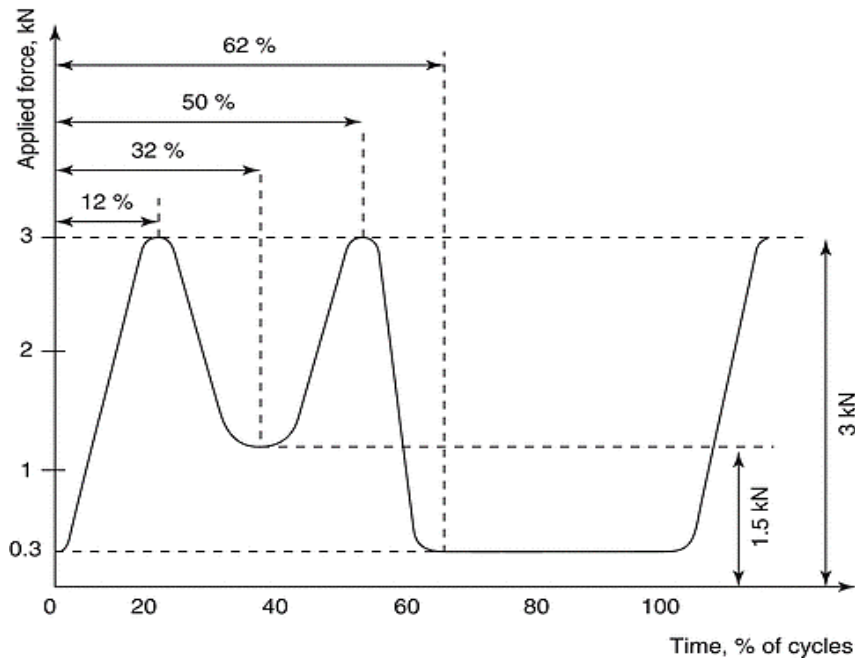


Figure II. 6. Cycle de la charge appliquée sur le couple prothétique durant un cycle de marche dans les conditions standards (ISO standard 14242-1, 2012).

IV. Culture cellulaire

IV.1. Préparation des particules céramiques

Les couples CoC (tête Ø32 mm, 10/12, insert Dynacup 52ST) sont testés sur un simulateur de marche de la hanche conformément à la norme ISO 14242-1 : 2014. La céramique utilisée pour le couple de friction est BIOLOX[®] delta (Figure I.7). Il s'agit de la nouvelle génération des matériaux céramiques correspondant à un composite céramique d'Alumine optimisé avec de la Zirconie tétragonale et de l'oxyde de strontium stabilisés à l'yttria de taille nanométrique (décrite dans le chapitre 1). La quantité de particules céramiques obtenue étant faible, nous avons ajouté un test de choc en utilisant un dispositif de choc à commande hydraulique (Quiri) avec une charge de 6 kN et une fréquence de 1,2 Hz pour 400 000 cycles.



Figure II. 7. Couple prothétique BIOLOX® delta utilisé pour la production des particules céramique [CeramTech, Plochingen, Allemagne]

En raison du faible taux d'usure de la céramique, une quantité limitée de débris (5,4 mg) est générée à partir du simulateur de hanche (*CERsim*) ; il a été difficile d'effectuer une analyse plus approfondie de la taille et de la morphologie de ces particules céramiques, nous avons effectué une séparation par filtration en différentes classes avec pesée de chaque classe. De plus, un autre protocole est développé pour obtenir des particules céramiques ; L'implant de hanche en céramique est soumis deux fois à 200 kN en utilisant une machine de presse pour la génération de particules d'usure (*CERpress*). Les particules céramiques sont obtenues en cassant une nouvelle tête céramique (BIOLOX® delta, Ø32 mm, Tornier - Wright France) à l'aide de la presse hydraulique universelle 20T traction / 500T compression de la plateforme DALLE EIFFEL INSA Lyon. Une première rupture est réalisée avec une force de 105 kN. Ensuite, pour favoriser la rupture en petites particules, nous avons effectué une seconde charge de compression jusqu'à 200 kN.

IV.2. Extraction des particules céramiques

Les particules céramiques (*CERsim*) sont extraites en utilisant la méthode de pyrolyse. Le mélange (lubrifiant et particules) est chauffé à 600 °C (gradient de température de 10 °C / min de la température ambiante à 600 °C, un seuil de 12 h à 600 °C et refroidissement jusqu'à température ambiante) dans un four à pyrolyse pour décomposer et brûler les protéines. Ensuite, les cendres contenant les particules de céramique sont mises en suspension dans de l'eau pure et séparées par ultracentrifugation (Thermo Biofuge Brimo) pendant 1 h à 100 000 g. Les cendres (les résidus de carbone) flottent sur la surface de l'eau tandis que les particules de céramique

restent au fond. Afin de déterminer la quantité totale de particules céramiques obtenues, nous avons effectué deux rinçages à l'éthanol et un séchage en étuve pendant une nuit.

Nous avons récupéré les particules de céramiques obtenues par la presse (*CERpress*) par lavage et centrifugations successives (6000 tours par minute) afin d'éliminer les morceaux de lingette. De plus, elles sont préalablement filtrées à l'aide d'un filtre de taille 10 μm pour éliminer les particules macroscopiques et sont conservées stérile dans 70% d'éthanol.

Un seul passage à travers un filtre en polycarbonate de taille 0,05 μm est réalisé afin de comparer la morphologie des particules céramiques du simulateur avec celles de la presse à l'aide de la microscopie électronique à balayage (FEI Quanta 600 FEG, SEM, Tungsten W, 5% d'humidité relative).

IV.3. Préparation et extraction des particules UHMWPE

Afin de pouvoir comparer la réaction de toxicité de la céramique, nous avons voulu avoir une référence sur un autre type de particules utilisés de plus longtemps dans les implants de hanche. Pour cela, on s'est concentré sur les particules de UHMWPE. Les particules de polyéthylène sont produites en utilisant un implant de hanche à double mobilité (tête fémorale 316 LSS (ASTM F138 / F139) Ø28 mm, 12/14, insert UHMWPE Ø28 / 48 mm et cupule acétabulaire en acier inoxydable Ø48 mm) à travers le simulateur de marche (MTSTM Mini Bionix) pendant 5 millions de cycles selon la norme ISO 14242-1: 2014. La machine hydraulique Bionix est appropriée pour les tests en biomédicale.

L'extraction des particules UHMWPE produites en utilisant le simulateur de marche a montré la présence des albumines dénaturées (mise en évidence par des observations infrarouges dans le cadre du projet de master M2 de Ines Essfi [123] en 2017 financé par la société TORNIER/CORIN). La seule méthode qui n'a pas montré la présence des albumines dans les particules UHMWPE était la méthode d'extraction par digestion en ajoutant l'acide HCl 37% selon la norme ISO 17853 : 2011 et validée par Scott.M et al. [124]. Cependant, cette méthode a montré une modification significative au niveau de la morphologie et la taille des particules. Pour cette raison et afin d'obtenir des particules UHMWPE de taille plus grandes, similaires aux tailles observées directement dans le lubrifiant du simulateur de marche, un test de frottement à sec supplémentaire avec la même configuration de l'implant de hanche à double mobilité est réalisé. La quantité totale de particules UHMWPE produites avec le frottement lubrifié et non lubrifié a été estimée à 150 mg.

IV.4. Protocole de la culture cellulaire

L'objectif de ces expérimentations est de reproduire *in vitro* les mêmes conditions *in vivo* de la prothèse de la hanche et d'évaluer la réaction cellulaire en utilisant les cultures de chondrocytes articulaires embryonnaires primaires simulant le processus d'ostéogenèse (le processus par lequel s'élabore le tissu osseux). Ce type de culture cellulaire est plus sensible à l'environnement mécanique de l'articulation.

IV.4.1. Préparation des cellules

Deux portées de 12 souriceaux, âgés de 4 à 6 jours sont sacrifiées. Les pattes postérieures sont disséquées afin de récupérer le cartilage des têtes fémorales et des genoux. Ensuite, les morceaux du cartilage sont conservés à 4°C dans du tampon phosphate salin (PBS) (pH = 7,4) composé de 0,2 g/L de KCl, 0,2 g/L de KH₂PO₄, de 8 g/L de NaCl et de 1,15 g/L de Na₂PO₄, en présence de pénicilline à 10 U/mL et de streptomycine à 10 mg/mL jusqu'à la digestion enzymatique. Après un lavage avec du PBS, deux digestions successives sont réalisées pendant 45 min à 37 °C par 0,52 U/mL de Libérase (Roche diagnostics), un mélange de MMP-8, MMP-13 et de thermolysine. Après, trois lavages en PBS permettent d'éliminer le tissu fibreux et de garder le cartilage. Finalement, une troisième digestion par la Libérase (0,13 U/mL) est réalisée pendant une nuit à 37°C afin de libérer les cellules (les chondrocytes) de la matrice extracellulaire (voir annexe).

Le lendemain, le milieu est aspiré/refoulé à la pipette afin de séparer les cellules, puis filtré sur tamis cellulaire de 100 µm. Du sérum de veau fœtal (SVF) est ajouté pour inactiver la libérase. Les chondrocytes sont comptés sur cellule de Malassez (environ 1,5 millions de cellules sont obtenues par souriceau) puis ensemencés dans des plaques de culture à 12 puits, avec une densité de 60 000 cellules par puit.

IV.4.2. Préparation des plaques de culture

Des masses égales de particules sont préalablement introduites au fond des plaques de culture stérilisées. Le choix de la concentration se base sur la concentration de particules d'usure obtenues sur simulateur et extrapolées à des conditions *in vivo* (liquide synovial). Par conséquent, nos calculs sont basés sur (1) une masse d'usure de 3,5 à 4 mg d'UHMWPE / mois selon *I. Essefi et al.* [123] (le même test sur simulateur que dans cet article) et *CH. Geerdink et al.* [119], (2) taux de renouvellement du liquide synovial *in vivo* (20-30 jours) [125] et (3) sur

le volume de liquide synovial dans l'articulation de la hanche humaine saine (1-3 mL) [126]. Donc, la concentration des particules choisie est de 112 μg / mL ce qui semble réaliste par rapport à celle présente dans le liquide synovial. Cette concentration de particules est obtenue en mettant en suspension les filtres contenant chaque classe de particules dans de l'éthanol à 70%, assurant également la stérilisation des particules. Afin d'extraire les particules des filtres, une étape de sonication est réalisée deux fois pendant 15 min. Un puits témoin (*Ctrl*) est préparé en utilisant un nouveau filtre sans particules soumis à la même procédure d'extraction de particules. Les solutions d'éthanol obtenues sont évaporées pendant une nuit pour avoir une quantité de 225 μg de particules déposées au fond de chaque puits de culture avant de placer les cellules.

IV.4.3. Entretien de la culture

Les cellules sont incubées à 37 °C dans un incubateur humidifié avec 5 % de CO₂ pendant 17 jours, durant lesquels les milieux sont changés régulièrement (Tableau II.2). Les cellules sont cultivées dans un milieu DMEM (Dulbecco's Modified Eagle Medium) supplémenté avec 1% de glutamine, 1 g/L de glucose, 100 U/mL de pénicilline, 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ de streptomycine, 10% de SVF (v/v) et 2% de 4- (2-hydroxyéthyl) -1 -acide pipérazéthanesulfonique (HEPES). Ensuite, à partir du 7^{ème} jour de la culture, de l'acide ascorbique (50 $\mu\text{g}/\text{mL}$) et du β -glycérophosphate (10 mM) sont ajoutés au milieu pour stimuler la différenciation et la minéralisation des cellules (conditions osseuses) [127]. Pendant la culture, les arrêts à J10 et à J17 correspondent à des tests biologiques à faire : test de viabilité cellulaire pour J10 et pour J17 test de minéralisation (calcium et phosphatase alcaline) ainsi que récupération des échantillons pour les autres tests (étude histologique et test d'inflammation).

- au 13^{ème} jour
+ collecte des cellules pour les tests histologiques
- (iv) Arrêt de la culture pour les tests de minéralisation
tests de viabilité au 10^{ème} jour
- (iii) Arrêt de la culture pour les plaques réservées aux
culture à 13 jours
- (ii) Ensemencement des cellules dans des plaques de
avec de l'éthanol dans les puits pour élaboration
- (i) Dissection des sources aux + placement de particules

acide ascorbique, 10mM β -glycérophosphate
pénicilline/streptomycine, 5% HEPES, 20mM
■ DMEM 4,2g/L glucose, 1% glutamine, 10% FBS, 1%
1% pénicilline/streptomycine, 5% HEPES
■ DMEM 4,2g/L glucose, 1% glutamine, 10% FBS,
1% pénicilline/streptomycine, 5% HEPES
■ DMEM 1g/L glucose, 1% glutamine, 10% FBS,
→ Changement du milieu



Tableau II. 2. Entretien de la culture des chondrocytes primaires murins

V. Procédures de caractérisation biologique des particules

Les réponses biologiques des chondrocytes cultivés en présence de différentes particules est évaluée en utilisant le test de viabilité MTT, le test de coloration au rouge d'alizarine, le test de la phosphatase alcaline non spécifique au tissu (TNAP), le test Prostaglandin E2 (PGE2) et la coloration histologique des tissus.

V.1. Test de viabilité (MTT)

L'essai colorimétrique à base de tétrazolium (MTT) est effectué au 10^{ème} jour de la culture afin d'évaluer la survie et la prolifération des cellules en présence des particules. La méthode est basée sur la transformation du bromure de 3-(4,5-diméthylthiazol-2-yl)-2,5-diphényl tétrazolium (MTT), qui est un sel de couleur jaune, en cristaux de formazan violets par des cellules viables et métaboliquement actives [128].

La solution de MTT est préparée en conditions stériles en dissolvant le sel de tétrazolium dans une solution saline tamponnée au phosphate (PBS ; pH 7,4) à une concentration de 5 mg/mL et elle est conservée à -20°C à l'abri de la lumière. Après incubation pendant 4 heures à 37 °C avec une concentration finale de 0,125 mg/mL, le milieu avec MTT est retiré et un volume de 1 mL par puits de diméthylsulfoxyde (DMSO) est ajouté pour solubiliser les cristaux violets de formazan. La mesure de l'absorbance des cellules vivantes est réalisée à l'aide d'un spectrophotomètre (TecanTM) à 570 nm et comparée à celle des cellules du milieu témoin sans particules supposées représenter 100% de la viabilité cellulaire.

V.2. Tests de minéralisation

Deux tests sont utilisés :

V.2.1. Test de coloration au rouge d'alizarine

La capacité des cellules à produire une matrice et des nodules minéralisés est importante en ce qui concerne le développement des matériaux pour la régénération osseuse. La minéralisation de la matrice et des nodules est évaluée en utilisant une coloration au rouge d'alizarine. Le rouge d'alizarine (3,4-dihydroxy-9,10-dioxo-2-anthracène-sulfonate de sodium) est une technique histochimique courante utilisée pour détecter les dépôts de calcium dans les tissus et cultures minéralisés [129].

Ce test est effectué au 17^{ème} jour de la culture des chondrocytes. Le rouge d'alizarine est préparé avec de l'eau distillée à 2% (w/v) et le pH est ajusté avec une solution de NaOH à 4,2. Le milieu de culture est retiré de tous les puits et les cellules sont lavées avec 1 mL de solution de PBS et colorées ensuite par 1 µL de rouge d'alizarine à 2% (w/v) pendant 20 min à température ambiante. Après élimination de l'excès de colorant non incorporé par trois lavages avec de l'eau distillée, 1 mL de chlorure de cétypyridinium 100 mM est ajouté par puit afin de dissoudre le rouge d'alizarine. Après incubation à température ambiante pendant une durée minimale de 2 heures, l'absorbance est mesurée à 570 nm et les résultats sont exprimés en pourcentage par rapport au témoin, ce qui représente 100% de la minéralisation.

V.2.2. Phosphatase alcaline non spécifique de tissu (dosage TNAP)

La phosphatase alcaline non spécifique des tissus (TNAP) est une enzyme présente dans les cellules de la lignée osseuse où elle joue un rôle important dans l'initiation de la minéralisation. Elle hydrolyse le pyrophosphate inorganique, un puissant inhibiteur de la minéralisation. L'activité TNAP reflète directement le taux de minéralisation dans la matrice extracellulaire. La méthode utilisée pour mesurer l'activité de la phosphatase alcaline consiste à transformer le phosphate de p-nitrophényle (p-NPP) en pNitrophénol (pNP) (de couleur jaune) [130].

La culture cellulaire est lavée trois fois avec du PBS puis 400 µL de Nonidet P40 (octylphénoxy poly (éthylèneoxy) éthanol) à 0,2% (v/v) sont ajoutés par puit. Après 20 secondes de sonication et centrifugation à 10000rpm (rotations par minute) pendant 5 min à 4°C, le surnageant est récupéré. Le tampon AMP est préparé en obtenant une solution d'AMP (0,7 M) (1-amino-2-méthyl-2-propanol) dans de l'eau distillée à pH 10,3 et ce tampon est ajouté avec 1 mM de MgCl₂ et 10 mM de p-NPP pour obtenir la solution réactive. De plus, une gamme étalon de pNP, allant de 0 à 300 µM, est préparée en diluant le stock de pNP dans des volumes appropriés de tampon AMP sans p-NPP. La mesure est effectuée en mode cinétique sur un lecteur de plaque à 96 puits (Tecan) toutes les 20 secondes pendant 3 minutes à 405 nm, tout en maintenant la température à 37 °C.

- Dosage des protéines

Un dosage des protéines est aussi effectué avec de l'acide bicinchoninique (BCA), en utilisant le kit Pierce BCA Protein Assay (Thermo Scientific) [131]. Ce dosage permet de détecter et quantifier la quantité totale de protéines, pour calculer par la suite l'activité spécifique de l'AP, en µmol de pNP produite/min/mg de protéine, relative au témoin. Cette méthode combine la réduction du Cu²⁺ en Cu⁺ par les protéines en milieu alcalin (réaction de Biuret) avec la

détection colorimétrique du Cu^+ en utilisant un réactif contenant le BCA générant un complexe violet. Le kit contient un réactif A qui contient le BCA et un réactif B qui est du sulfate de cuivre à 4 % (p/v). 50 parts de réactif A et un part de réactif B sont mélangés. 5uL des échantillons sont distribués en plaque de 96 puits en ajoutant 200uL de mélange réactionnel. De plus, une gamme étalon d'albumine sérique bovine (BSA) allant de 0 à 40 μg est préparée en diluant une solution mère à 1 mg/mL dans du Nonidet P40 à 0,2 % (p/v). L'absorbance est mesurée à 572 nm suite à une incubation de 30 min à 37°C. L'activité spécifique est calculée, en mol.s-1.mg-1 de protéines, à partir de la pente de la droite qui représente l'évolution de l'absorbance en fonction du temps, tout en tenant compte des dilutions et des concentrations en protéines obtenues.

V.3. Analyse histologique

L'analyse histologique est réalisée pour observer l'organisation et la morphologie des chondrocytes cultivés en présence des particules. Au 7^{ème} jour de la culture, le milieu est soigneusement retiré.

Les cellules sont fixées dans une solution de formaldéhyde tamponnée au phosphate à 4% (Roti®-Histofix 4%, pH 7), incluses dans de la paraffine et coupées à l'aide d'un microtome en sections de 5 μm d'épaisseur déposées sur des lames pour coloration histologique.

Deux types de coloration sont utilisés :

- Une coloration HES (immersion successive dans des solutions d'hématoxyline, d'éosine et de safran) est réalisée pour observer la structure et la morphologie du tissu. Le cytoplasme est coloré en rose, le noyau violet et la matrice extracellulaire jaune.
- La coloration de Von Kossa (incubation dans une solution de nitrate d'argent sous lumière ultraviolette) est utilisée pour révéler les sites de calcification où les dépôts de calcium sont colorés en brun noir [132].

Après coloration, les lames sont observées à l'aide d'un microscope optique (Zeiss). L'évaluation des résultats histologiques est réalisée à l'aide d'une méthode semi- quantitative en effectuant un contraste binaire à l'aide du logiciel Image J® afin de calculer le pourcentage de zones colorées par rapport à la surface totale du tissu cellulaire évalué.

V.4. Test d'inflammation : Prostaglandin E2 (PGE2)

Les prostaglandines sont associées pour stimuler la résorption osseuse et impliquées dans la pathogenèse de la perte osseuse localisée en relation avec les maladies néoplasiques et inflammatoires. La production de prostaglandine est normalement très faible dans les tissus non enflammés, mais augmente en fonction des niveaux d'inflammation [133].

Les niveaux de Prostaglandine E2 (PGE2) dans le milieu de culture cellulaire est déterminés en utilisant un immunodosage enzymatique à l'acétylcholinestérase (AChE) selon la méthodologie recommandée par le fabricant (Cayman ChemicalTM, Ann Arbor, MI). Le produit de cette réaction est de couleur jaune distincte dont l'intensité est inversement proportionnelle à la quantité de PGE2 liée à la réaction inflammatoire cellulaire. L'absorbance est mesurée à 405 nm, puis les concentrations de PGE2 sont calculées à partir d'une courbe standard de PGE2 fournie par le fabricant.

VI. Analyse statistique des données

Les résultats des tests biologiques sont présentés sous forme de barres donnant les moyennes $\pm$ erreur standard de la moyenne d'au moins 3 expériences indépendantes. Toutes les données sont analysées à l'aide de KaleidaTM Graph version 3.6. Le test de Mann-Whitney U est effectué pour comparer les effets des particules des matériaux au groupe témoin (*Ctrl*).

Les résultats sont considérés comme significatifs (*) lorsque la valeur p est inférieure à 0,05, très significatifs (**) lorsque p est inférieur à 0,01 et extrêmement significatifs (***) lorsque p est inférieur à 0,001. Les résultats non significatifs sont représentés par *ns* lorsque p est supérieur à 0,05.

VII. Conclusion

Trois implants en biocéramiques composites ZTA ont été mis à disposition pour étudier les surfaces de contact tête/cupule. Cette étude a pour but de caractériser leur comportement tribologique afin de fournir une meilleure compréhension de la vie de contact in vivo en utilisant des méthodes de caractérisation. Ces méthodes permettent d'imager les surfaces de contact grâce à des analyses par profilométrie optique et MEB.

Des tests d'usure avec un simulateur de marche ont été réalisés conformément à la norme ISO 14242-1 afin de produire des particules d'usure sous chargement cylique. Ces particules sont

mises en culture cellulaire dans le but d'étudier leur réponse biologique à l'aide des procédures de caractérisation biologique pour évaluer la viabilité, la minéralisation ainsi que l'inflammation des chondrocytes en contact avec les particules et en comparaison avec un témoin (sans particules).

CHAPITRE III

ÉTUDE TRIBOLOGIQUE DU COUPLE CÉRAMIQUE- CÉRAMIQUE

Nous décrivons une étude tribologique des trois implants de hanche en céramique récupérés de trois patients différents suite à des opérations de révision où le grincement était le symptôme commun entre ces trois cas.

Une évaluation visuelle, une analyse de rugosité ainsi qu'une caractérisation microscopique sont effectuées au niveau des surfaces de frottement tête – cupule.

Le couplage des résultats de toutes ces techniques a permis d'identifier les mécanismes d'accommodation de vitesse et le circuit tribologique et donc de fournir une meilleure compréhension de la vie de contact in vivo de ces explants de hanche CoC.

I. Caractéristiques cliniques des implants analysés

Les trois implants analysés sont de Tornier® (groupe Corin, France), de même conception (Dynacup pour les cupules et Meiji pour les têtes) et fabriqués en céramique BioloX® Delta, la quatrième génération de céramique produite par CeramTec (CeramTec, Allemagne).

Ces implants sont récupérés de trois patients différents soumis à une chirurgie de révision due essentiellement à un problème de « squeaking » :

- Le **patient 1** (Caen, France), de sexe male, a montré de très bons résultats immédiats après la première arthroplastie. Cependant, au 6ème mois, des douleurs et des grincements en flexion sont apparus simultanément avec une instabilité, malgré les radiographies normales.
- Le **patient 2** (Valencienne, France) est une femme ayant une hanche droite antérieurement opérée et qui ne présente aucun problème. Des douleurs dans la hanche gauche (objet de la prothèse de l'étude) sont apparus, mais spécifiquement avec des bruits anormaux. Ces grincements occasionnels ont été déjà signalés après deux ans de la première arthroplastie et ils ont persisté au fil du temps et ont eu tendance à s'aggraver, entraînant une révision après trois ans. Cependant, dans ce cas, les radiographies ont révélé que la cupule est légèrement verticale (l'angle d'inclinaison était de 51 ° dans le formulaire de rapport de cas tandis que la zone de sécurité de l'angle d'inclinaison était définie comme 30-45 ° [134]).

- Le **patient 3** (Melun, France) est de sexe male. La première arthroplastie a montré de bons résultats immédiats. Néanmoins, des grincements sont apparus plus tard et se sont aggravés au fil du temps ce qui a imposé la révision cinq ans après la première arthroplastie.

Concernant le niveau d'activité des patients, le patient 1 est décrit comme très actif tandis que pour les deux autres, ils effectuent des activités de la vie quotidienne.

Cette étude est réalisée principalement sur le contact tête – cupule, les cols fémoraux ne sont pas pris en compte.

Les trois implants ont des tailles différentes :

- les tailles des cupules de utilisées pour les trois patients sont de 58 mm, 52 mm et 56 mm respectivement
- les tailles des têtes fémorales implantées sont respectivement de 36 mm, 36 mm et 32 mm respectivement.

Les surfaces articulaires sont polies miroir à une rugosité $Ra < 0,005 \mu m$.

Avant l'implantation, les trois prothèses de hanche ont été stérilisées avec une méthode d'irradiation gamma. Néanmoins, ces explants récupérés ne sont pas fournis par le même chirurgien orthopédiste, c'est pourquoi ils sont stérilisés différemment en utilisant des méthodes spécifiques aux protocoles de stérilisation respectant les normes en vigueur.

I.1. Evaluation visuelle

Pour toutes les prothèses, une évaluation visuelle globale est effectuée en premier lieu afin d'étudier les caractéristiques des surfaces. En se basant sur cette évaluation, il est possible de dire que :

- la tête fémorale n'a pas été endommagée si rien n'était visible sur la tête en céramique.
- légèrement endommagée si la zone endommagée représentait moins de 10% de la surface totale de la tête [135].

Pour assurer la reproductibilité, tous les échantillons sont évalués visuellement par le même observateur.

I.2. Résultats de l'évaluation visuelle

Les données de l'évaluation visuelle sont regroupées dans le tableau III.1. L'examen visuel préliminaire des trois prothèses récupérées a mis en évidence la présence des zones d'usure en forme de losange sur les têtes fémorales.

Tableau III. 1. Analyse macroscopique des explants récupérés

Patient	Stripe wear	Transfert métallique	Impingement	Rotation de la cupule dans le métal-back
1	oui	non	non	oui
2	oui	oui *	oui	non
3	oui	non	non	non

** sous réserve des résultats suivants*

Des zones dépolies en forme de losange sont observées sous lumière rasante pour toutes les têtes des explants récupérées (Figures III.1.a, III.2.a et III.3.a). Ces zones d'endommagement caractérisent le phénomène des bandes d'usure connu surtout sous le terme « Stripe wear ».

Des traces d'impingement sont observées sur la cupule du patient 2 uniquement montrant ainsi l'impingement entre le col de la tige (non disponibles dans cette étude) avec le bord céramique (Figure III.2.b). De plus, pour l'implant du patient 1, les zones d'entaille sont partiellement recouvertes des traces de frottement indiquant la rotation de l'insert dans le métal-back (FigureII.1.b).

Des rayures sombres sont particulièrement remarquées sur la tête fémorale du deuxième patient : les plus foncées pourraient être causées par les instruments chirurgicaux lors du retrait de l'implant tandis que pour le reste, il est possible qu'il s'agit des traces d'un transfert de métal, à vérifier dans les étapes suivantes de l'étude (Figure III.2.d).



Figure III. 1. Implant du patient 1 : a) bande d'usure (« Stripe wear »), b) traces de frottement sur la zone d'encoche indiquant la rotation de l'insert dans le métal-back et c) aucune trace d'impingement observée sur l'insert

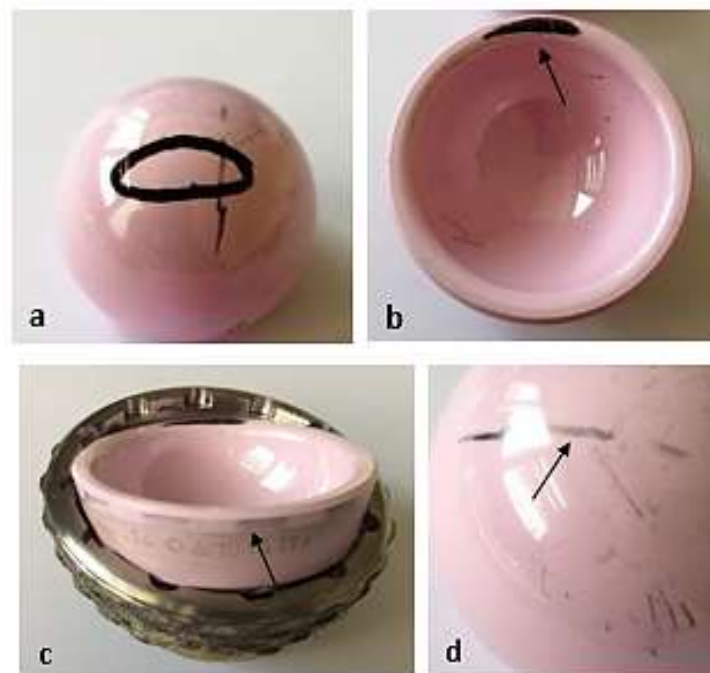


Figure III. 2. Implant du patient 2 : a) bande d'usure (« Stripe wear »), b) trace d'impingement entre le col de la prothèse et la cupule céramique c) zones d'encoche claires indiquant un bon positionnement de l'insert dans le métal-back d) traces de transfert métallique

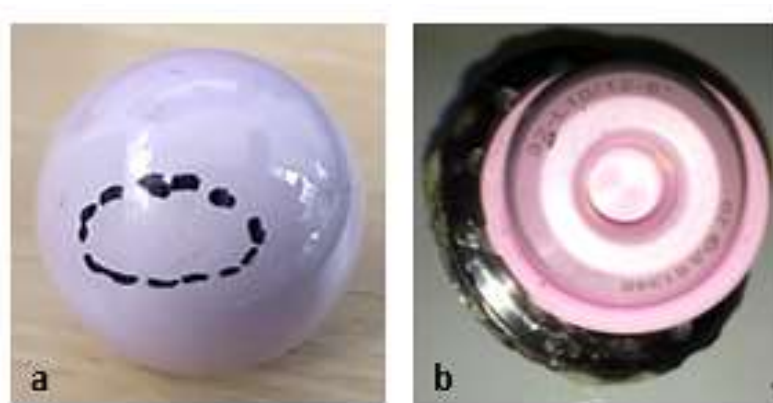


Figure III. 3. Implant du patient 3 : a) bande d'usure (« Stripe wear »), b) pas de traces d'impingement

I.3. Scénario probable

L'examen visuel des explants des hanches récupérés met en évidence les mêmes bandes d'usure « stripe wear » en forme de losange caractéristiques du phénomène de chargement de bords ou « edge loading » étudiées par Walter [136]. L'ascension de la tête vers le bord de la cupule en céramique augmente considérablement la pression de contact entre la tête et la cupule entraînant ainsi la rupture du film lubrifiant [137]. Par conséquent, un frottement dur / dur (céramique - céramique ou « CoC ») se crée provoquant une usure localisée des surfaces céramiques et des grincements. Cette décentralisation entre la tête et la cupule entraîne une déconnexion partielle de l'insert, d'où la génération de frottements céramique / métal-back ainsi que la rotation de l'insert dans le métal-back. De plus, le contact entre le col et le bord de la cupule génère les traces d'impingement visibles sur le bord de la cupule ainsi que les particules d'usure piégées dans l'articulation [138].

II. Analyse de la rugosité des implants

L'analyse de la rugosité des têtes fémorales récupérées est réalisée sur 3 sites (M1, M1, M3) dans les zones endommagées, précédemment localisées, ainsi que sur les zones non usées (M0) comme le montre la figure III.4 à l'aide du profilomètre. Cette analyse est basée sur la valeur de la rugosité moyenne arithmétique (Ra) qui représente la moyenne des valeurs absolues $Z(x)$ du profil sur la longueur de base lr , où :

$$Ra = \frac{1}{lr} \int_0^{lr} |Z(x)| dx$$



Figure III. 4. Localisation des sites (M0, M1, M2 et M3) pour l'analyse de rugosité des têtes fémorales du a) patient 1, b) patient 2 et c) patient 3.

Les résultats révèlent que la différence des valeurs de rugosité Ra entre les zones endommagées et les zones non endommagées est significative (Tableau III.2). Pour le premier patient, la valeur moyenne de Ra est de $24,3 \pm 1,3$ nm avec une augmentation de 342% par rapport à la zone non usée. Dans le cas du patient 2, la valeur moyenne Ra est $67,9 \pm 10,6$ nm (4 fois la valeur du témoin), tandis que pour le patient 3, la valeur est de $145,8 \pm 36,8$ nm (soit 10 fois la valeur de rugosité de la zone non endommagée).

Tableau III. 2. Analyse de rugosité des implants récupérés

Ra	Patient 1	Patient 2	Patient 3
Zone non endommagée (nm)	7,1	16	14
Zone endommagée (nm)	$24,3 \pm 1,3$	$67,9 \pm 10,6$	$145,8 \pm 36,8$
Taux d'augmentation de la rugosité %	342%	424%	1041%

L'analyse de la rugosité des têtes fémorales montre que la zone endommagée détectée macroscopiquement correspond à une augmentation significative de la rugosité de surface. En comparant la rugosité moyenne des zones usées pour les trois patients, les valeurs montent du patient 1 au patient 2 puis au troisième, ce qui pourrait s'expliquer par la durée de service des trois implants céramiques (6 mois, 3 ans et 5 ans respectivement). Cela est également observé pour les zones non usées.

III. Caractérisation microscopique des surfaces de contact

Des observations utilisant la microscopie électronique à balayage (MEB) sont effectuées sur les zones non endommagées et les zones d'usure des têtes fémorales ainsi que sur la zone centrale des cupules pour les trois explants.

III.1. Observations des surfaces des têtes fémorales

Les observations des surfaces des têtes fémorales montrent que la morphologie des surfaces des trois cas est presque similaire. Sur les zones non usées entourant les zones endommagées des têtes fémorales, il est difficile de mettre en évidence les rayures de friction (Figure III.5). Néanmoins, nous observons la composition de la céramique utilisée (Biolo^x® Delta) en identifiant les grains d'alumine et de zircone ainsi que la présence des plaquettes de strontium, cristaux en forme de plaquettes connues sous le nom de plaquettes de renforcement avec la fonction anti-fissure (par référence au chapitre 1 paragraphe II.4).

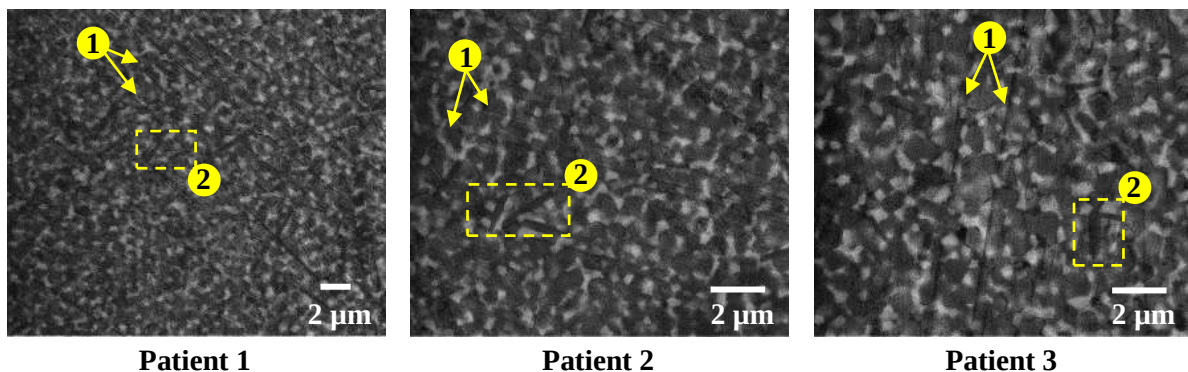


Figure III. 5. Observations microscopiques des zones non usées des trois têtes fémorales (1 : Rayures minces de friction ; 2 : Présence des plaquettes de strontium)

En revanche, des rayures d'usure sont clairement visibles sur les zones endommagées des têtes fémorales (remarquées également avec les yeux nus). Ces rayures sont semblables à des marques de polissage représentant l'usure abrasive. En outre, des micro-trous sont également observés sur l'ensemble des zones d'usure pour trois patients. Les observations microscopiques à des échelles plus petites montrent que ces creux sont dus à un détachement ainsi qu'une fragmentation des grains de matière durant le frottement tête – cupule. Par ailleurs, il est important de noter la disparition des plaquettes de strontium susmentionnées (Figure III.6).

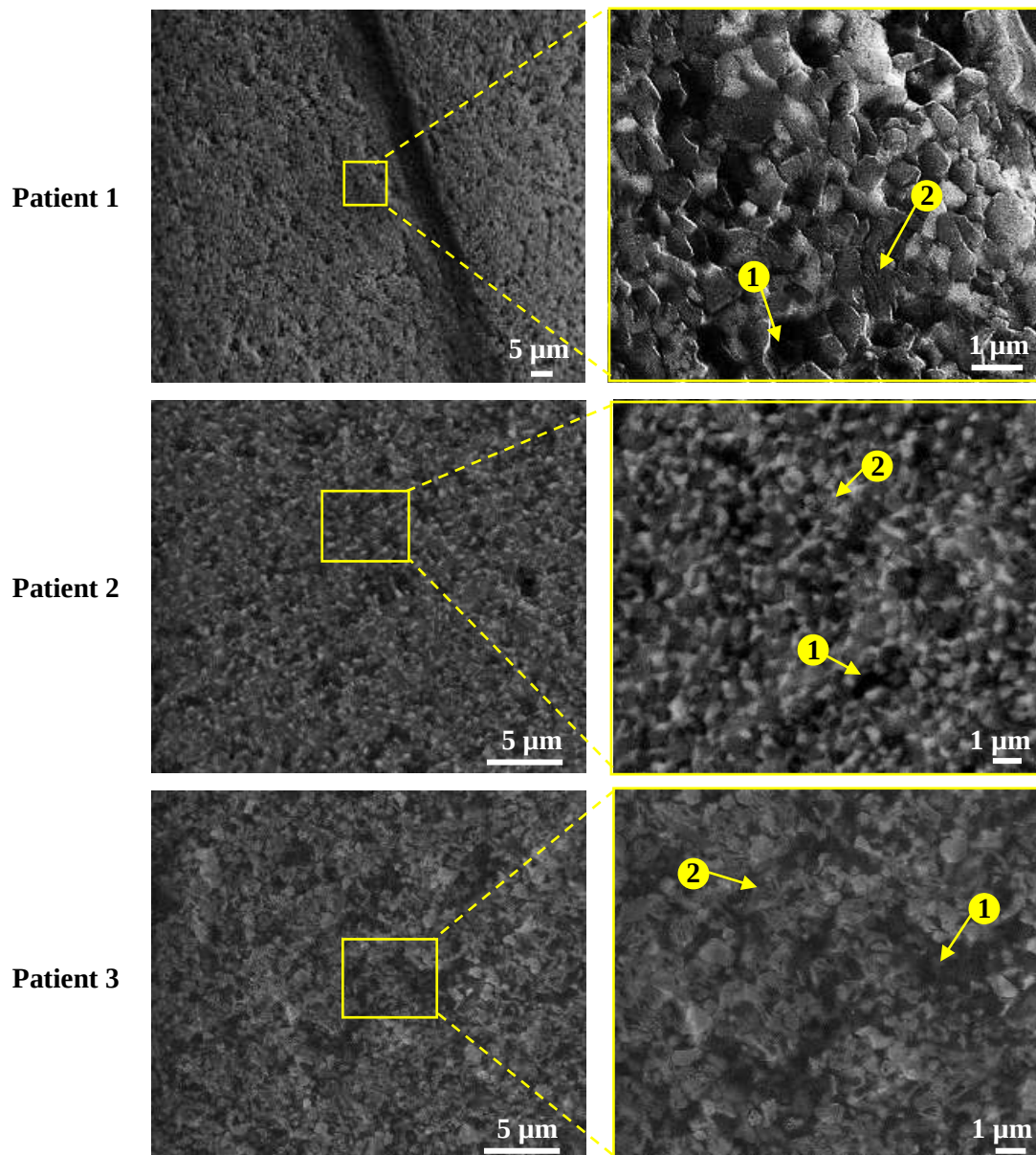


Figure III. 6. Observations microscopiques des zones endommagées des trois têtes fémorales
(1 : Rayures minces de friction ; 2 : Présence des plaquettes de strontium)

III.2. Observations des surfaces des cupules

III.2.1 Observations microscopiques

Concernant les cupules, nous remarquons une différence au niveau de la morphologie des surfaces. En comparant les cupules des trois patients, la différence peut être notée pour les cupules de patient 1 et du patient 2 d'une part et du patient 3 d'autre part.

Pour le deux premiers cas, une couche disjointe du troisième corps est observée. Cette couche est composée d'une mixture des particules de céramique détachées et du liquide synovial

tartinée sur la surface des cupules en forme de rayures orientées dans la même direction que les rayures de frottement observées sur les têtes fémorales. Cependant, des fissures sont remarquées sur la cupule du patient 3. Ces fissures sont formées par la consolidation des particules d'usure détachées et piégées dans le contact tête – cupule. Pour les deux cas, c'est le mode d'usure par déformation plastique de surface (Figure III.7).

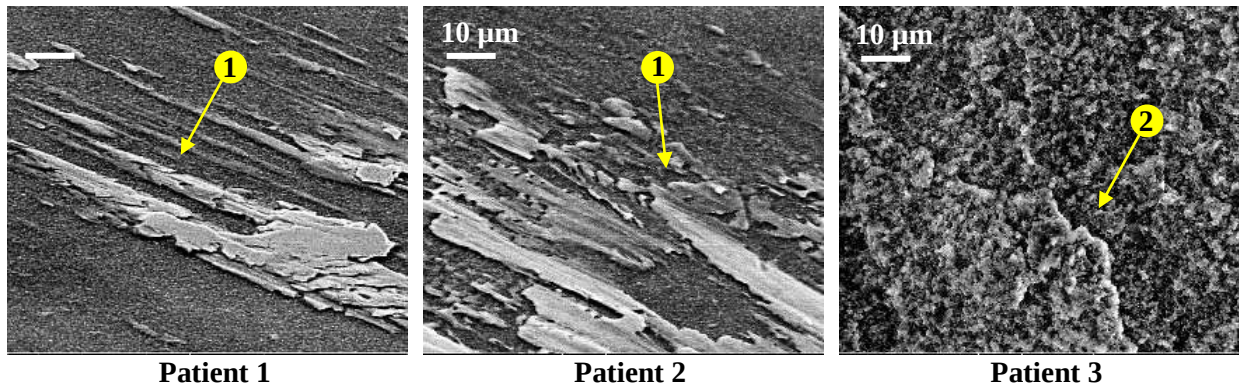


Figure III. 7. Observations microscopiques des trois cupules (1 : Rayures du troisième corps tartinées ; 2 : fissures détectées sur la surface de la cupule)

III.2.2. Analyse EDX des surfaces des cupules

Une analyse EDX est réalisée sur les surfaces des cupules afin d'identifier, avec une méthode qualitative, la composition atomique de la surface. D'une part, l'analyse des couches du troisième corps observées sur les cupules des patients 1 et 2 détecte la présence des atomes de titane en plus des composants atomiques représentant la céramique. D'autre part, sur la surface de la cupule fissurée du 3^{ème} patient, il est important de noter l'absence du titane et particulièrement la disparition du strontium (Figure III. 8).

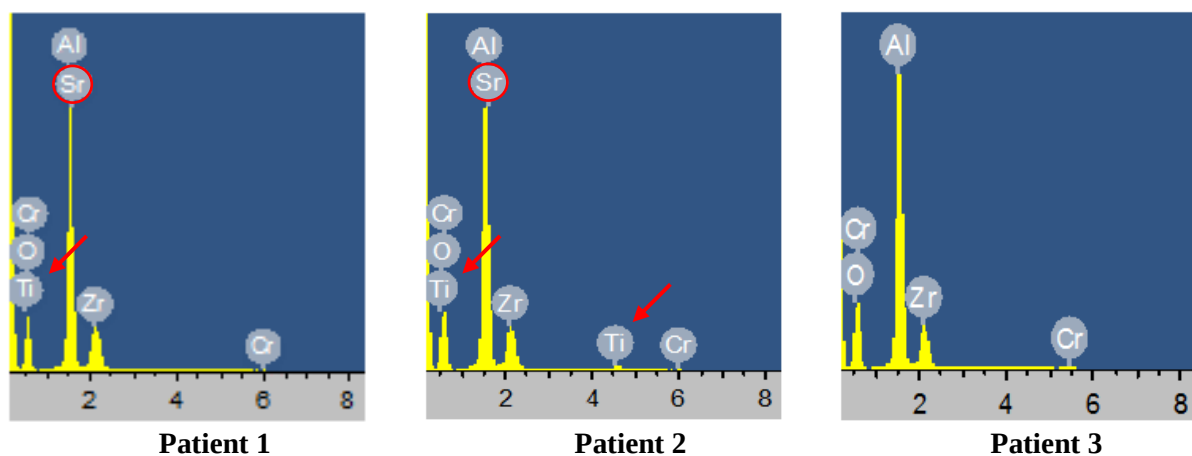


Figure III. 8. Analyse EDX des trois cupules

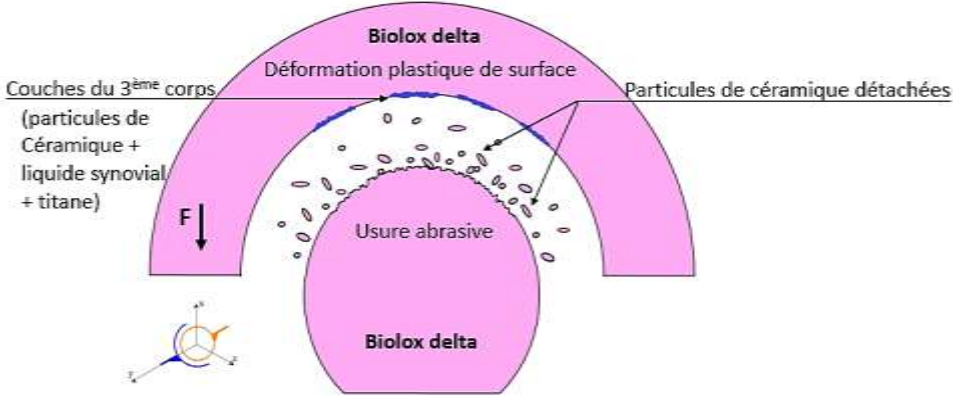
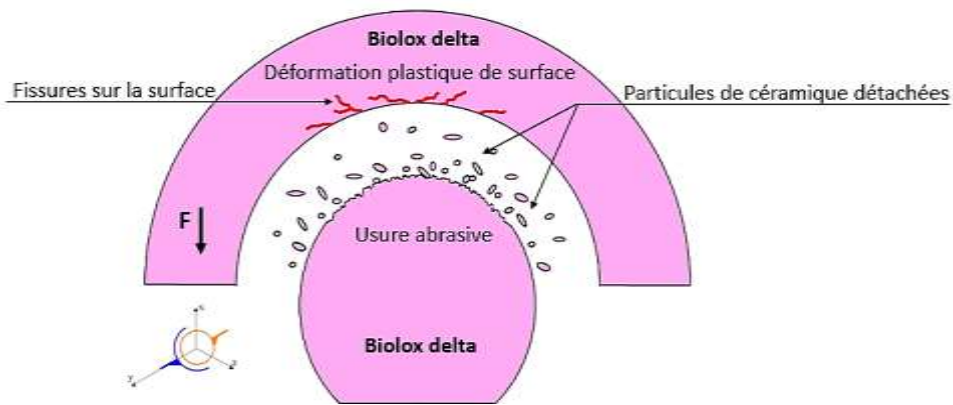
IV. Interprétation des résultats obtenues

Pour fournir une meilleure compréhension de la vie de contact in vivo, l'identification des flux du troisième corps est la première étape. En premier lieu, le flux de source externe (Q_{es}) représente le liquide synovial toujours synthétisé par la membrane synoviale ainsi que les particules détachées résultant du contact col / cupule en cas de transfert métallique. Le flux interne (Q_i) représente les particules de céramique détachées, piégées dans le contact et mélangées avec le flux source externe (Q_{es}). Les particules de céramique détachées des têtes fémorales représentent le flux source (Q_s). Le flux plastique (Q_p) comprend le flux plastique des premiers corps (surfaces déformées) et le flux plastique du 3ème corps (particules plastiques détachées). Il est impossible d'identifier le flux externe (Q_e) car nous n'avons pas pu récupérer les tissus periarticulaires et par conséquent le flux de recirculation (Q_r) et le flux d'usure (Q_w).

En utilisant ces flux de matériaux, nous pouvons supposer que, lors du frottement in vivo, le contact des deux premiers corps déclenche des rayures de frottement minces et lisses qui s'aggravent avec le temps jusqu'au détachement des particules de céramique (Q_s). Dans ce cas, le mécanisme d'accommodation de vitesse est entraîné par le détachement de particules d'usure (M_2) à la surface des têtes fémorales (S_5). Nous identifions deux possibilités pour ces particules circulantes (Q_i) : *i*) elles peuvent être mélangées avec les molécules du liquide synovial (Q_{es}) afin de former la couche discontinue du troisième corps selon la direction de frottement (S_2M_3), ou bien *ii*) elles peuvent engendrer des fissures au niveau des surfaces des cupules dues au frottement (Q_p) conduisant à une déformation plastique (S_1M_2). Dans les deux cas, ce troisième corps assure l'accommodation des vitesses à l'intérieur du contact (S_3M_3). Ces résultats sont regroupés dans le tableau III. 3.

Cette étude tribologique explique les signes cliniques rapportés par les patients. Le bruit dans les implants de hanche ne vient pas que du Ti, mais aussi des grains de céramique détachés de la tête de l'implant et, en présence des molécules biologiques, ils forment des complexes de substrat sur la partie de la cupule ce qui génère l'instabilité et le « squeaking » en conséquence. De plus, la migration des particules détachées durant le frottement tête – cupule entraîne la douleur ressentie par les patients.

Tableau III. 3. Scénarios possibles de vie de contact des trois explants récupérés en BioloX Delta : schémas de contact en vue latérale et détermination de la vitesse principale mécanismes d'accommodement.

Patient 1 + Patient 2		S2M3
		S3M3
		S5M2
Patient 3		S1M2
		S3M3
		S5M2

V. Conclusion

Durant cette étude, tous les implants récupérés sont de même nature, de conception et des symptômes de cas. Tous les résultats sont évalués principalement d'un point de vue qualitatif afin de comprendre ce qui se passe in vivo au niveau du contact tête – cupule.

La biocéramique a été développée en vue d'augmenter la durée de vie des prothèses ostéo-articulaires, d'où une longévité de la mobilité du patient. Le « squeaking » pour des implants CoC est un problème multifactoriel et la compréhension du comportement tribologique in vivo des implants de hanche en céramique semble être significativement importante pour expliquer les signes cliniques. Nous remarquons la présence importante du troisième corps dont les particules de céramiques détachées sont le composant principale d'où la nécessité d'une étude de point de vue biologique afin d'évaluer leur réponse biologique dans l'organisme humain.

CHAPITRE IV

ÉTUDE DE LA RÉPONSE BIOLOGIQUE DE LA BIOCÉRAMIQUE

Dans ce chapitre, nous présentons notre étude des effets des particules de céramique de tailles micron et nanométrique sur la régénération et la minéralisation des cellules par rapport au polyéthylène à très haut poids moléculaire (UHMWPE). Nous avons utilisé des particules d'usure réelles obtenues par le simulateur de marche (*CERsim*). Ces particules sont comparées à des particules obtenues par des méthodes usuelles pour évaluer la biocompatibilité de céramique : machine de presse (*CERpress*). En outre, l'évaluation de la réaction cellulaire est en utilisant les cultures de chondrocytes articulaires embryonnaires primaires simulant le processus d'ostéogenèse.

I. Caractérisation des particules UHMWPE

Afin de caractériser les particules UHMWPE, les trois types différents de particules UHMWPE sont inclus dans le gel d'agarose (Gibco® 4% Agarose chauffé à 65-70 °C pour être en phase liquide afin de le mélanger avec un volume égal de solution contenant les particules). Les tests ont été réalisés sur un implant de hanche à double mobilité composé de : tête fémorale 316LSS (ASTM F138 / F139) Ø28 mm, 12/14, insert UHMWPE Ø28 / 48 mm et cupule acétabulaire en acier inoxydable Ø 48 mm. Les conditions d'essai sont :

- Essai n ° 1 = lubrifié avec du sérum bovin qui a été digéré pour extraire les particules ;
- Essai n ° 2 = lubrifié avec du sérum bovin qui a été inclus dans de l'agarose pour visualiser les particules au confocal ;
- Essai n ° 3 = non lubrifié (frottement à sec).

Les trois types de particules UHMWPE sont inclus dans l'agarose à une concentration finale de 112 µg / mL (concentration similaire aux tests de culture cellulaire) et refroidis à 20 °C afin d'immobiliser et de visualiser les particules sous microscopie confocale à fluorescence (microscope Zeiss équipé d'une tête confocale LSM700 et d'un laser 405 nm) dans une épaisseur de 0,17 mm d'agarose de la même manière que Impergre et al. [139] car le MEB devrait être à l'origine de la modification de la morphologie des particules sous l'énergie du faisceau d'électrons. La visualisation 3D de toute l'épaisseur du gel a permis de choisir pour l'analyse le plan correspondant au diamètre maximum de la particule. Les paramètres de taille (diamètre de cercle équivalent) et de forme (rapport de forme équivalent) ont été analysés pour 1000 particules par échantillons (correspondant à 8 à 9 images de microscopie confocale) en effectuant un contraste binaire à l'aide du logiciel Image J® avec une résolution de 160 nm. Ce travail est effectué dans le cadre du stage 4ème année Génie Matériaux, INSA Lyon, de Pierre

Le-saout en 2018, que j'ai co-encadré partialement (nous avons utilisé des particules UHMWPE issus des simulateurs de hanche de TORNIER et de l'Ecole des mines de Saint-Etienne (projet DebrisIM)).

Pour les particules extraites du sérum bovin par digestion, nous obtenons des tailles et des morphologies similaires à celles de la littérature [140] (Figure IV.1 A et Figure IV. 2 - test n °1). En revanche, nous avons observé une différence considérable de taille et de morphologie des particules non digérées (Figure IV.1 B et Figure IV. 2- test n °2) par rapport à celles extraites par digestion. Par ailleurs, nous avons remarqué que la taille des particules UHMWPE obtenues en conditions à sec (Figure IV.1 C et Figure IV. 2- test n °3) est comparable à celles obtenues en conditions lubrifiées non digérées.

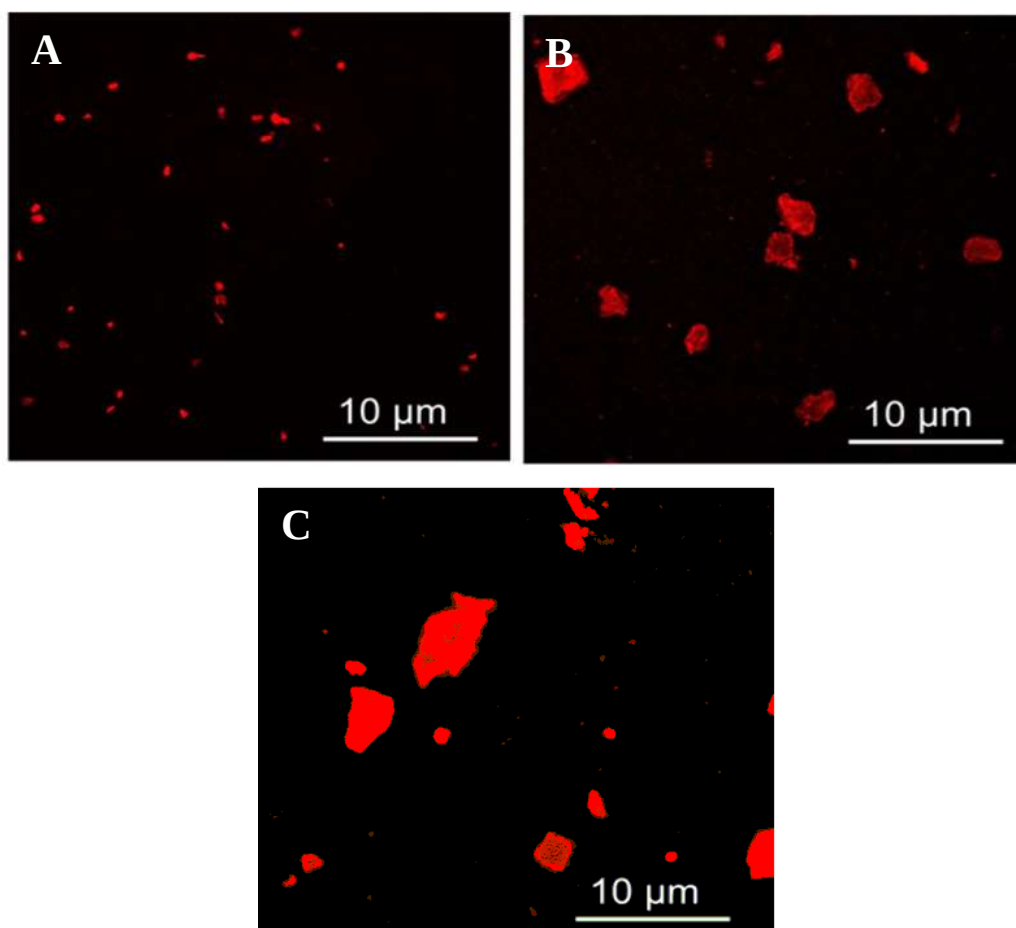


Figure IV. 1. Observations par microscopie à fluorescence. A) Particules d'UHMWPE digérées par HCl (Test n ° 1). B) UHMWPE obtenu en conditions lubrifiées (Test n ° 2). C) Particules UHMWPE obtenues par frottement sec (Test n ° 3).

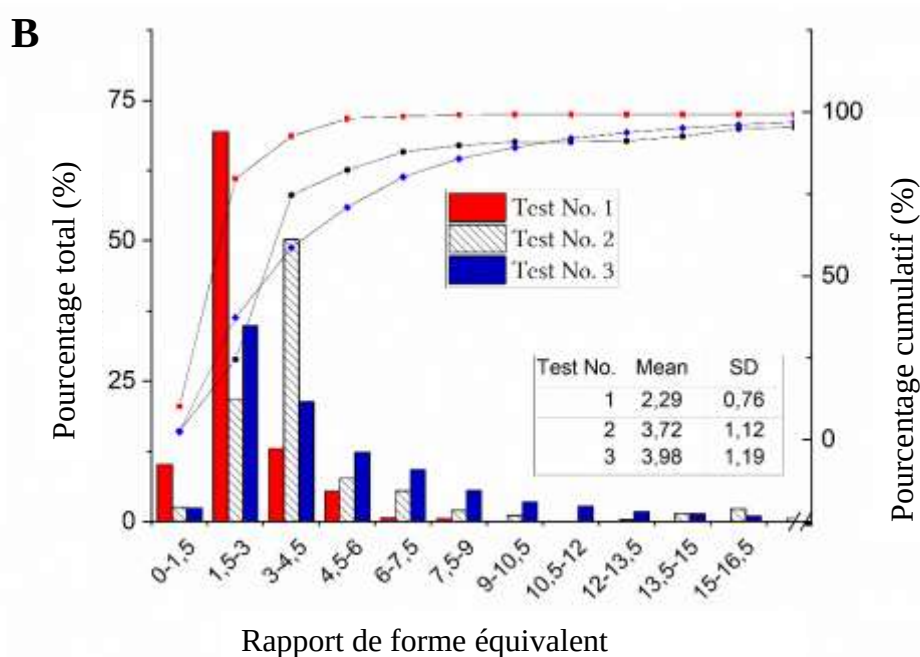
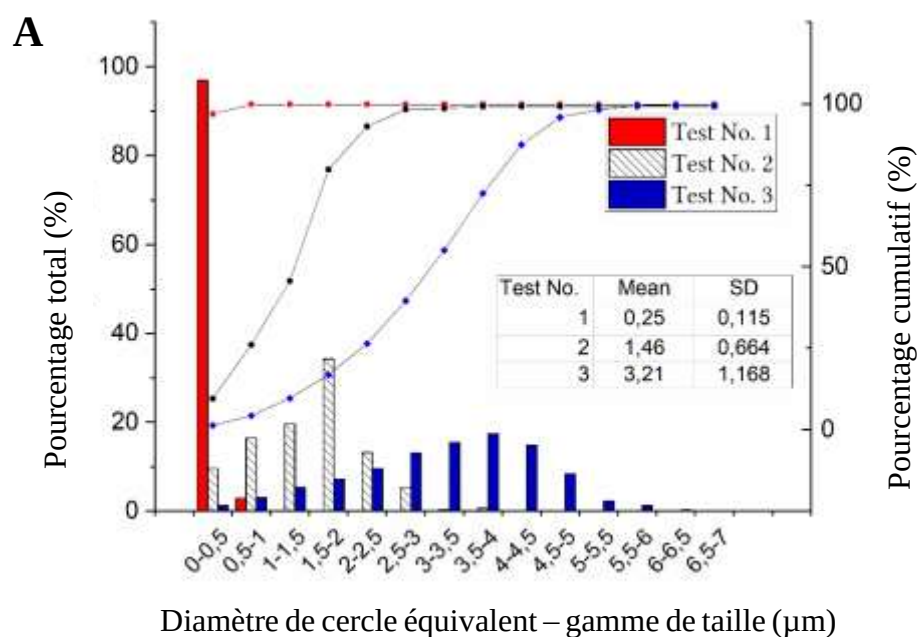


Figure IV. 2. Analyse morphologique des particules UHMWPE obtenues à partir des tests sur simulateur de marche : A) Diamètre de cercle équivalent et B) Rapport de forme équivalent.

Afin d'évaluer la réponse cellulaire, des chondrocytes murins primaires ont été cultivés en présence des particules UHMWPE produites par frottement à sec (test n°3) :

- en suspension dans du sérum bovin pour extraction par digestion *HCl* et filtration à 0,05 μm conformément à la standard ;

- en suspension dans l'eau pour filtration à 0,05 μm . Il n'a pas été possible d'introduire les particules d'UHMWPE non digérées lubrifiées en raison d'une contamination par des albumines dénaturées.

La viabilité cellulaire en présence de particules digérées avec HCl (11,07%) est fortement diminuée par rapport aux particules UHMWPE obtenues par filtration dans l'eau (7,6 fois) (Figure IV.3). Ainsi, les cultures cellulaires seront réalisées en utilisant de l'UHMWPE non lubrifié et non digéré pour éliminer l'effet de HCl.

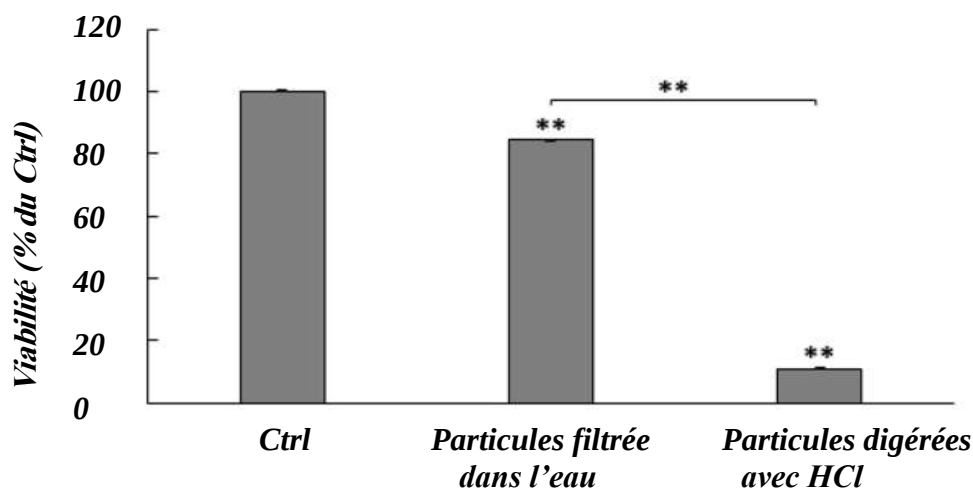


Figure IV. 3. Effets des méthodes d'acquisition des particules UHMWPE sur la viabilité cellulaire.

II. Effets des particules UHMWPE et de céramique sur la viabilité cellulaire

Les chondrocytes murins primaires sont d'abord cultivés avec de la céramique et des débris d'usure de UHMWPE produits par un simulateur de marche de la hanche pour évaluer l'effet de différentes particules sur les chondrocytes par rapport au contrôle sans particules (*Ctrl*).

Les particules de céramique, générées à partir du simulateur de hanche (*CERsim*), ont considérablement réduit la viabilité cellulaire par rapport aux particules UHMWPE et au témoin *Ctrl*. Par la suite, en raison de la quantité limitée des particules *CERsim*, des débris céramiques obtenus par machine de presse (*CERpress*) sont introduits en culture. Cependant, la réaction cellulaire est différente : il n'y a pas de différence significative au niveau de la viabilité des chondrocytes en présence de *CERpress* par rapport au contrôle négatif *Ctrl* (Figure IV.4).

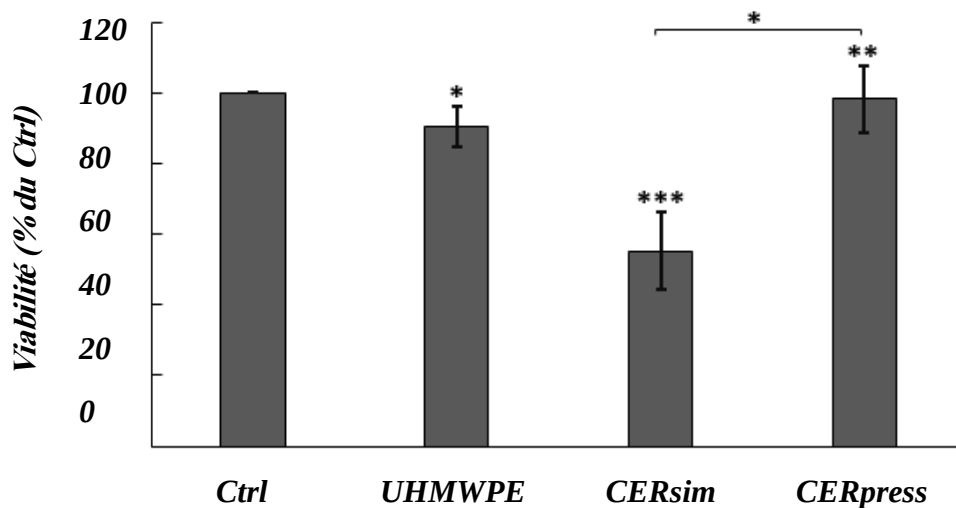


Figure IV. 4. Effets des particules sur la viabilité cellulaire des chondrocytes. Les chondrocytes sont cultivés avec des particules de UHMWPE, CERsim et CERpress.

III. Caractérisation microscopique des particules de céramique

La caractérisation des deux types des particules de céramique est réalisée à l'aide de la microscopie électronique à balayage (MEB) pour comparer les morphologies et les tailles des grains de céramiques.

- Comparaison morphologique des particules de céramique

La Figure IV.5.A représenté des particules de forme polygonale de *CERsim* allant de moins de 0,2 μm à 5 μm . Deux groupes principaux de particules céramiques sont distingués : les grosses particules (plus grandes que 1 μm) et les petites particules (de taille nanométrique). Cependant, des grains cassés de forme radiale et de tailles différents sont observées dans le cas des particules avec la machine de presse (Figure IV.5.B).

- Comparaison de répartition des tailles des particules de céramique *CERsim* et *CERpress*

En corrélation, la caractérisation des particules *CERsim* révèle la présence de deux tailles de particules principales : 44,85% de grosses particules de 1 à 5 μm et 47,65% des particules nanométriques de taille moins de 0,2 μm . Les classes intermédiaires (0.2 - 1 μm) représentent seulement 7,50 % de la masse totale des particules céramiques produites avec le simulateur de marche. Malgré les proportions presque similaires entre les deux classes principales, la classe

des particules de taille nanométrique représente environ 98% du nombre total de particules de céramique.

D'autre part, les particules *CERpress* sont filtrées à l'aide des filtres de tailles 1 μm , 0,4 μm et 0,2 μm et la distribution de masse obtenue est la suivante : 33,11% pour la classe plus que 1 μm , 11,83% pour la classe entre 1 μm et 0,4 μm , 14,62% pour la classe entre 0,4 μm et 0,2 μm et 40,44% pour la classe moins de 0,2 μm (Figure IV.5.C).

- Distinction des deux classes principales des particules céramiques

BioloTM delta est un matériau composite structuré principalement avec des grains d'alumine de taille plus de 1 μm et de zircone de taille moins de 0,2 μm . Par conséquent, les expériences suivantes sont réalisées avec les deux classes principales des particules de céramique, nommées *CERs1* pour les grosses particules (l'Alumine), et *CERs2* pour les particules nanométriques (la Zircone).

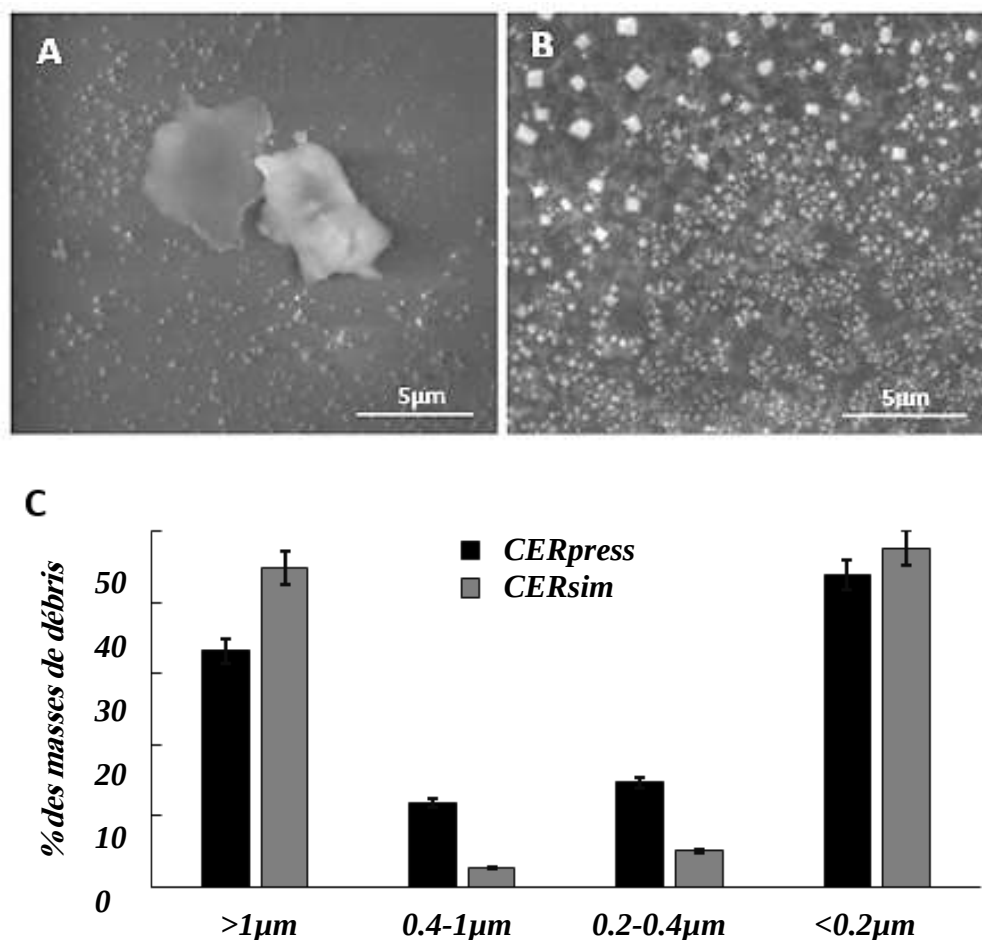


Figure IV. 5. Observations en microscopie électronique à balayage (MEB). A) particules céramiques produites avec le simulateur *CERsim* B) particules céramiques produites avec la presse *CERpress*. C) Distribution massique des particules de céramique.

IV. Viabilité des chondrocytes en fonction de la taille et le mode de génération des particules céramiques

Le test MTT est effectué en présence des particules céramiques produites avec le simulateur de marche et avec la presse. Pour chaque type, nous avons introduit des particules de toutes les tailles combinées (*CERsim* et *CERpress*) ainsi que les deux classes principales (*CERs1* et *CERs2*). Le but de ce test est de déterminer la viabilité cellulaire des chondrocytes en fonction de la taille et de la morphologie des particules de céramique.

En corrélation avec la perte de viabilité cellulaire en présence de *CERsim* par rapport à *CERpress* (toutes tailles confondues), moins de 60% de la population cellulaire est détectée en présence des deux classes principales (*CERs1* et *CERs2*) réalisées avec simulateur contre 95,5% et 84,13% respectivement produites avec la machine de la presse.

Il est important de noter que le pourcentage de cellules viables pour les particules céramiques totales (*CER*) est en corrélation avec celles des *CERs1* et *CERs2*, ce qui a confirmé que ces dernières affectent principalement les réactions des cellules aux particules céramiques (Figure IV.6).

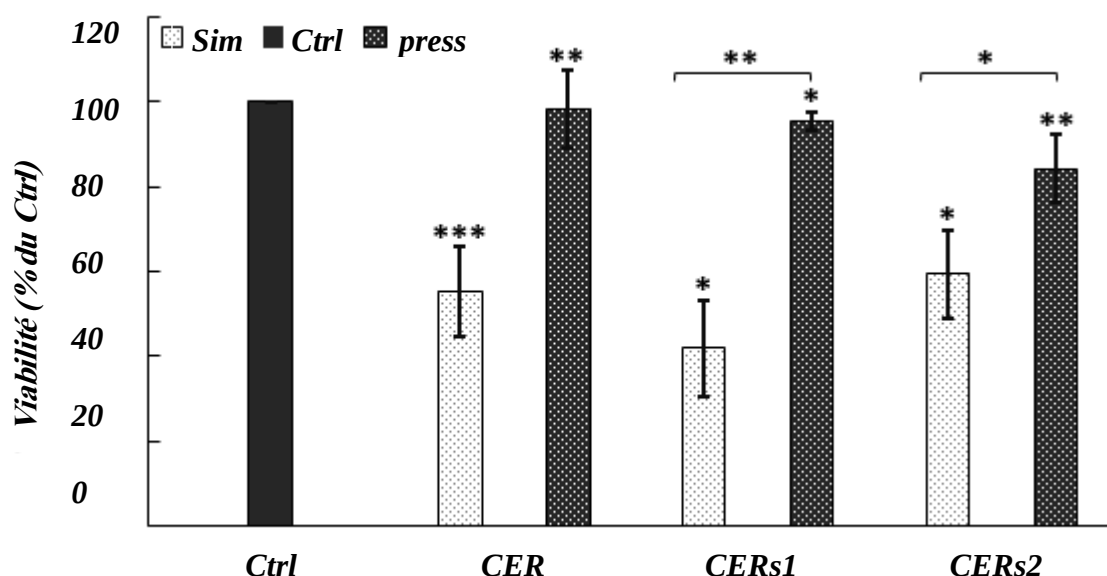


Figure IV. 6. Effets sur la viabilité cellulaire des particules de céramique fabriquées avec un simulateur par rapport aux particules de céramique fabriquées avec une presse : toutes les tailles *CERsim* et *CERpress*, des particules de taille micron *CERs1* et nanoparticules *CERs2*

V. Capacité de minéralisation des chondrocytes en présence des particules d'usure

- Dépôts de calcium des chondrocytes évalués avec du rouge d'alizarine en présence des particules

Un dosage au rouge d'alizarine est réalisé le dernier jour de différenciation (jour 17 de la culture) afin d'analyser l'effet des particules sur la minéralisation de la matrice des chondrocytes. Les quantités de particules céramiques étant limitées, les tests biologiques ont été poursuivis avec les deux principales classes de particules céramiques *CERs1* et *CERs2* en comparaison avec les particules UHMWPE.

La Figure IV.7 illustre les différents pourcentages de dépôts de calcium. Le plus haut niveau de minéralisation est observé pour les particules céramiques à l'échelle micron *CERs1* avec une augmentation significative de 35% tandis que les cellules se minéralisent moins avec les particules de UHMWPE (environ -25%) et encore moins en présence des nanoparticules de céramiques *CERs2* (-35%).

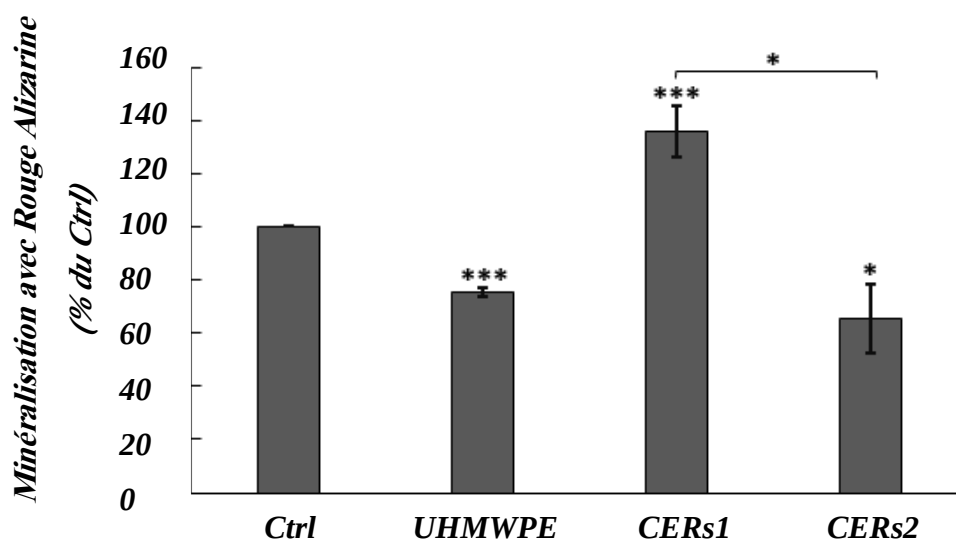


Figure IV. 7. Effets des particules céramiques sur la minéralisation des chondrocytes : Dépôts de calcium des chondrocytes évalués avec du rouge d'alizarine en présence des particules UHMWPE, *CERs1* et *CERs2*.

- L'activité enzymatique TNAP des chondrocytes en présence des particules

La minéralisation de la matrice cellulaire en présence des particules de céramique est également corroborée par l'activité du TNAP. Une diminution de cette activité pour les cellules cultivées en présence de débris UHMWPE ainsi que les particules céramiques (*CERs1* et *CERs2*) par rapport aux conditions témoins (100%) est clairement observée. Néanmoins, l'activité TNAP pour les cellules en contact avec des particules de céramique de taille micro *CERs1* (83,32%) est significativement plus élevée que celle avec les nanoparticules de céramique *CERs2* (2,2 fois) semblable aux résultats de l'essai en coloration à la rouge alizarine (Figure IV.8).

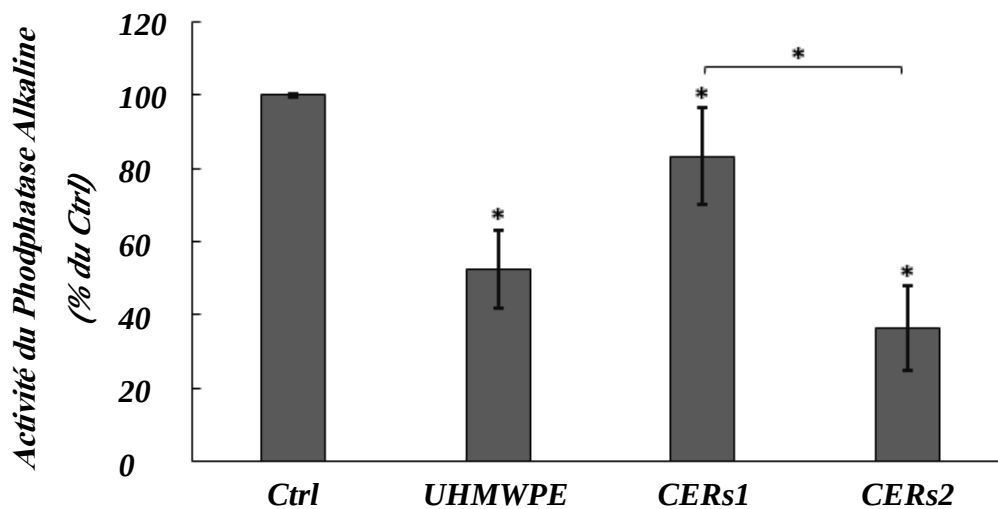


Figure IV. 8. Effets des particules céramiques sur la minéralisation des chondrocytes : L'activité enzymatique TNAP est calculée en présence de particules UHMWPE, *CERs1* et *CERs2*.

VI. Analyse de la matrice extracellulaire des membranes des chondrocytes

- Observations de la matrice extracellulaire des membranes des chondrocytes avec les colorations HES et Von Kossa

Les cellules témoins cultivées sans particules exposent une couche mince des cellules de taille et de morphologie hétérogènes. Les cellules ont une forme circulaire avec des noyaux denses et centrés. Certains groupes de cellules, appelés aussi « clusters » sont apparus. Ils sont constitués d'un groupe de chondrocytes hypertrophiques (grandes cellules de tailles variables). La matrice extracellulaire montre une structure amorphe (Figure IV.9.A). Les zones

granuleuses et compactes, colorées avec HES, correspondent à des zones de minéralisation (Figure IV.9). La coloration de Von Kossa indique la présence des dépôts de calcium principalement dans les plaques de chondrocytes hypertrophiques (Figure IV.10).

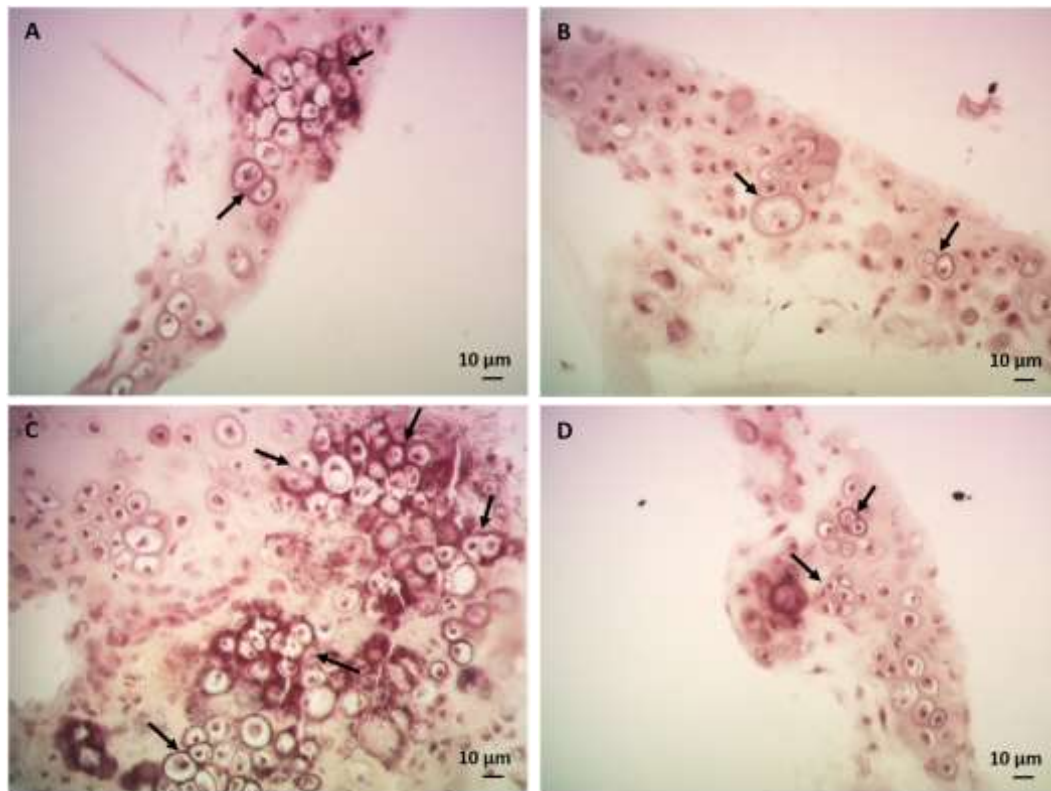


Figure IV. 9. La structure cytologique des chondrocytes en présence de particules. A) Sans particules (Ctrl). B) Particules UHMWPE C) Particules de taille micron CERs1 et D) Nanoparticules céramiques CERs2. Les flèches indiquent les « clusters » et les zones compactes correspondant à des zones de minéralisation.

Les cellules cultivées avec les particules n'ont pas montré de différence morphologique significative par rapport à celles du contrôle. Néanmoins, la minéralisation matricielle analysée par coloration HES et Von Kossa confirme les tests *in vitro* précédents (test TNAP et coloration au rouge d'alizarine) : plus de zones minéralisées sont distinguées dans la membrane cellulaire cultivée en présence des *CERs1* que *Ctrl* alors qu'elles diminuent respectivement avec les particules UHMWPE et *CERs2*.

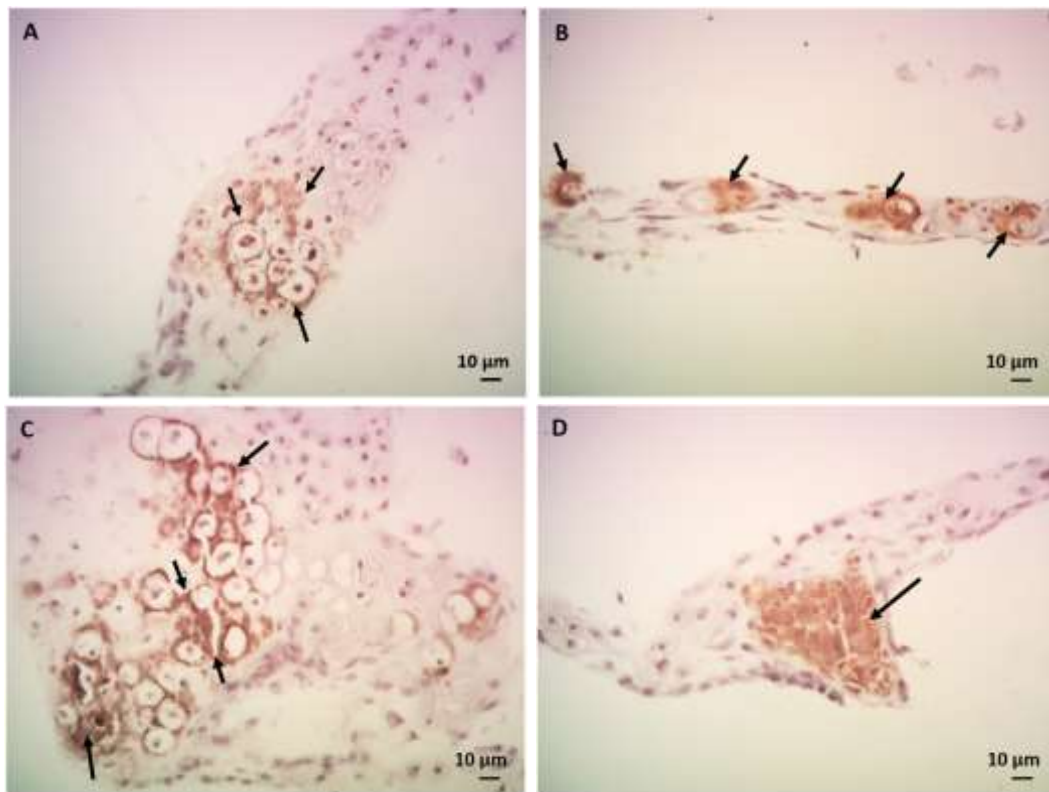


Figure IV. 10. Matrice extracellulaire de chondrocytes cultivés avec différentes particules (coloration de Von Kossa). . A) Sans particules (Ctrl). B) Particules UHMWPE C) Particules de taille micron CERs1 et D) Nanoparticules céramiques CERs2. Les flèches indiquent les zones minéralisées.

- Evaluation des zones minéralisées en appliquant la méthode semi quantitative

L'application de la méthode semi quantitative sur les tissus colorés par Von Kossa pour évaluer les zones minéralisées révèle l'équivalence du dépôt de calcium à la fois dans les cellules témoins et dans celles cultivées en présence des particules *CERs1*. Cependant, l'introduction des particules UHMWPE et *CERs2* affecte la minéralisation cellulaire et réduit les dépôts de calcium (Figure IV.11).

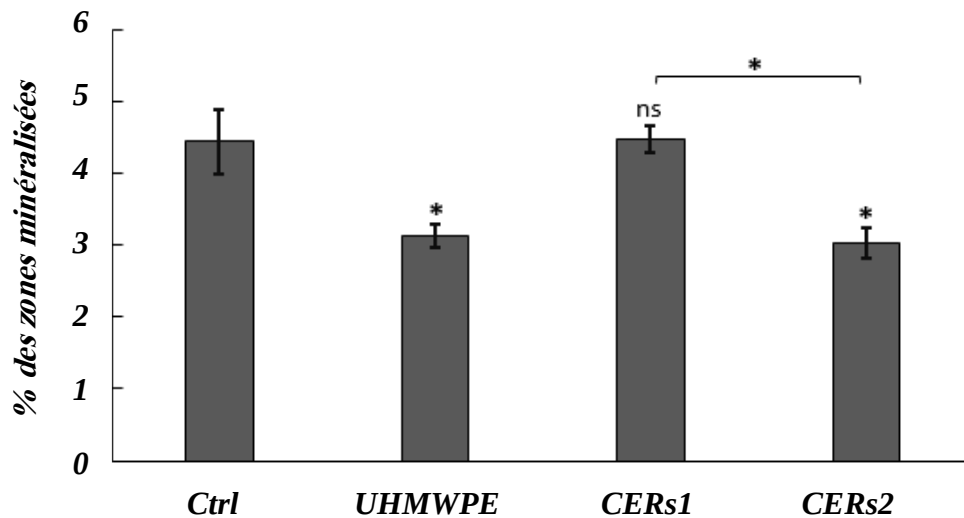


Figure IV. 11. Semi-quantification de la minéralisation des chondrocytes en présence des différentes particules : UHMWPE, *CERS1* et *CERS2*.

VII. Réactions inflammatoires des cellules cultivées en présence de particules

La production de PGE2 des chondrocytes cultivés en présence de particules de céramique *CERS1* et *CERS2* par rapport aux particules d'UHMWPE est illustrée à la Figure IV.12.

La quantité globale de la production de PGE2 est similaire pour les cellules cultivées en présence de particules *CERS1* (70 pg / mL) ainsi qu'avec des débris UHMWPE (75,3 pg / mL). Les cellules témoins produisent environ 64 pg / ml de PGE2. En revanche, les cellules en contact avec les nanoparticules de céramique *CERS2* libèrent une valeur de PGE2 plus élevée (413 pg / mL), plus de six fois le niveau de PGE2 pour les cellules témoins. Cela révèle la réponse inflammatoire des chondrocytes générée en présence de particules céramiques de taille nanométrique.

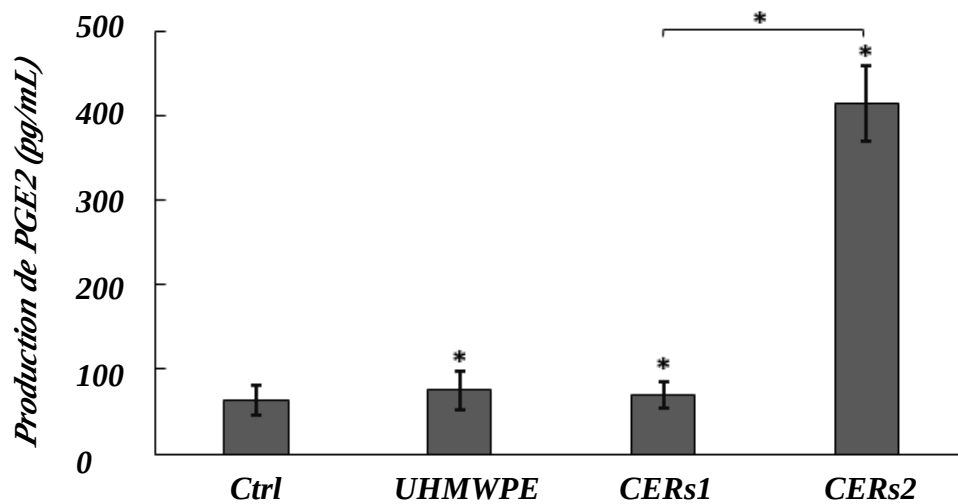


Figure IV. 12. Production de PGE2 par les chondrocytes en présence de particules UHMWPE, CERs1 et CERs2.

VIII. Conclusion

Dans notre étude, nous avons évalué la réponse biologique des chondrocytes embryonnaires murins en présence des particules de céramique de tailles micron et nanométrique en comparaison avec les particules en polyéthylène à très haut poids moléculaire (UHMWPE). Les particules utilisées sont des particules d'usure réelles obtenues sur un simulateur de marche (CERsim) et une comparaison est effectuée avec des particules obtenues par des méthodes usuelles pour évaluer la biocompatibilité de céramique : machine de presse (CERpress).

Nous avons montré que les particules provenant d'une nouvelle génération de composites céramiques induit différents types de réactions cellulaires selon la taille nanométrique ou micron : les débris de taille micron incitent la minéralisation des cellules, alors que les nanoparticules engendrent une diminution de la viabilité cellulaire d'une part une réaction inflammatoire de l'autre part.

DISCUSSION

Notre étude est effectuée pour évaluer les effets des particules de céramique sur les chondrocytes cultivés *in vitro* et déterminer ainsi le potentiel de ces particules à induire des réactions inflammatoires. Tous les tests biologiques sont réalisés simultanément sur des particules de céramique et des débris d'*UHMWPE* pour comparer les deux combinaisons représentant respectivement les taux d'usure faible et élevé. De plus, les chondrocytes sont cultivés avec la même quantité de particules.

Notre travail n'a pas montré d'effets significatifs des particules de polyéthylène (*UHMWPE*) sur la viabilité des cellules ainsi que sur leur réponse inflammatoire. Cependant, une sécrétion des médiateurs de minéralisation cellulaire est notée en présence de débris *UHMWPE* induisant une résorption osseuse. De plus, plusieurs études *in vivo* ont montré que les débris d'usure *UHMWPE* ont une large gamme de tailles où les microparticules représentent la plus grande proportion du volume d'usure [141,142] et ont aussi constaté que les débris d'usure produits *in vitro* avec le sérum bovin comme lubrifiant sont similaires en terme de taille et de forme avec celles rapportées cliniquement dans les prothèses totales de hanche [143]. En effet, il existe de nombreuses preuves de la bioactivité des particules d'*UHMWPE* stimulant l'ostéolyse [144]. Alors que notre travail s'est concentré uniquement sur la réaction d'ostéogénèse.

La viabilité et la prolifération des cellules sont sensiblement affectées au contact avec les débris céramiques par rapport aux particules de polyéthylène. Sur la base de densité des matériaux, le volume des particules de céramique entourant les cellules cultivées est environ 5 fois inférieur au volume des particules d'*UHMWPE*. Néanmoins, Walter et al. [145], en étudiant 16 implants récupérés d'une série d'arthroplasties de hanche sans ciment de 1,588 avec des prothèses CoC en alumine de troisième génération, ont montré que le volume d'usure moyen était de 0,4 mm³ par an dans les têtes et de 0,3 mm³ par an dans les revêtements tandis que les cupules acétabulaires en *UHMWPE* s'usaient généralement de 30 à 100 mm³ par an [146]. Par ordre de grandeur, 2 mois d'usure des débris de CoC équivalent à 3 jours d'usure des débris de MoP. Ainsi, le faible taux d'usure de la céramique comparé avec *UHMWPE* retarde l'apparition des réactions inflammatoires des cellules, retardant ainsi la défaillance de l'implant articulaire et prolongeant sa durée de vie en service. Ceci est confirmé par des études cliniques à long terme

à 18 ans de suivi montrant un taux de révision presque double pour les couples de frottement MoP par rapport aux couples CoC [27].

Il existe de nombreuses preuves de l'effet de la morphologie et de la forme des particules sur leur réponse cellulaire. Cependant, notre étude est basée sur la classification des particules par taille et par différence de masse car il était assez difficile de séparer nos particules par morphologie, forme et nombre de particules, ce qui sera également intéressant à faire dans de futures études.

Une différence importante dans les valeurs de viabilité cellulaire entre les particules de céramique du simulateur de hanche (*CERsim*) et les particules produites par la machine de presse (*CERpress*) est mise en évidence. La morphologie des particules dépend considérablement de plusieurs facteurs tels que le matériau, le couple porteur, l'environnement expérimental, etc. [147]. Ainsi, la morphologie des particules de céramique a affecté la viabilité cellulaire. En outre, l'analyse des débris céramiques révèle la présence des nanoparticules avec des particules plus grosses dans la plage de tailles de moins de 0,1 μm à plus de 5 μm . Les concentrations volumétriques des particules montrent par la suite que le nombre de particules *CERs2* générées avec le simulateur de marche de la hanche est supérieur à celui obtenu à partir de la presse. D'un autre côté, bien que les pourcentages des grosses particules *CERs1* et des nanoparticules *CERs2* soient différents pour les deux types de particules céramiques testées, le nombre de nanoparticules pour les deux représente plus de 98% du nombre total de particules. La microstructure de BIOLOX[®] delta est principalement constituée des grains d'alumine et de zirconium mesurant plus de 1 μm et moins de 0,2 μm respectivement. En conséquence, les deux types de particules d'usure en céramique pourraient provenir de deux mécanismes d'usure différents et cela est trouvé de la même manière *in vivo* et *in vitro* [148,149] : i) génération des particules céramiques de grande taille (composées principalement des grains d'alumine) à partir des fractures intergranulaires et intragranulaires, ii) usure de polissage en relief, semblable aux conditions normales d'articulation, conduisant à la production de particules d'usure plus petites (présentant des grains de zirconium principalement et des grains d'alumine cassés).

Les nanoparticules de céramique, contrairement aux particules de taille micron, présentent une bioactivité plus élevée. Elles affectent la viabilité cellulaire, la prolifération et la différenciation. Ces particules inhibent la minéralisation de la matrice cellulaire, comme le montrent à la fois le test de coloration au rouge d'alizarine et les observations cytologiques. Encore plus, l'activité TNAP des cellules cultivées avec des microparticules est supérieure à celle des cellules en

contact avec des nanoparticules céramiques. Les grosses particules (*CERs1*) stimulent en effet les médiateurs de la minéralisation des cellules qui renforcent la régénération osseuse.

Les chondrocytes cultivés en présence des nanoparticules de céramique, génèrent des médiateurs inflammatoires fonctionnels qui contribuent localement aux dommages cellulaires et à l'infection. Les prostaglandines sont associées pour stimuler la résorption osseuse et impliquées dans la pathogenèse de la perte osseuse localisée en relation avec les maladies néoplasiques et inflammatoires [134]. La production de prostaglandine est normalement très faible dans les tissus non enflammés, mais elle augmente en fonction des niveaux d'inflammation [150]. Suite à l'activation par les particules *CERs2*, les cellules produisent des PGE2 significativement plus importantes, ce qui induit une réponse inflammatoire. Plusieurs enquêtes ont montré la toxicité des débris d'usure à l'échelle nanométrique et certains débris ont prouvé leur rôle d'induire une réponse inflammatoire. Dans cette étude, nous pouvons expliquer cette réponse par le fait que les nanoparticules pourraient interagir plus facilement à l'intérieur des cellules et modifier leur comportement [151].

Comme mentionné précédemment, la céramique est considérée comme une bonne alternative pour la fabrication d'implants [71]. Certains auteurs ont rapporté une activité biologique satisfaisante de la céramique, à partir de poudre [152]. Néanmoins, il est important de noter que les particules de céramique sont des poudres produites et commercialisées de taille nanométrique, concernant les grains de zircone dans le composite alumine-zircone. Ces poudres ont une forme différente par rapport aux particules céramiques issues du test du simulateur de marche ou également avec la presse (reproduisant le mécanisme de la micro-séparation), d'où la différence de réaction cellulaire. D'autre part, les ostéoblastes et les fibroblastes ont été co-cultivés avec ces poudres de céramique pour étudier la réaction biologique. Cette méthode a utilisé des lignées de culture cellulaire avec des cellules génétiquement modifiées pour augmenter leur durée de vie durant les expérimentaux. Cependant, dans cette étude, la culture primaire est réalisée en utilisant les chondrocytes, des cellules extraites du cartilage articulaire représentent un modèle d'ostéogenèse.

Plus intéressant, J. Bertrand et al. [153] ont associé entre la présence des réactions inflammatoires et des modifications tissulaires localement fibreuses dans le tissu périprothétique dans les chirurgies de révision pour les implants CoC, et la quantité de fibrose augmentait avec le temps. Ce changement de tissu pourrait être bénéfique pour la stabilisation de l'implant de hanche en cas de réaction locale. Cependant, la dissémination des nanoparticules

dans le corps pourrait stimuler d'autres réactions biologiques (comme, par exemple, les réactions locales des corps étrangers ou la sarcoïdose [154], surtout que des particules d'usure métalliques ont été détectées dans les ganglions lymphatiques [155], le côlon [156], sang [157], foie et reins [158]). En fait, les nanoparticules dans l'industrie alimentaire montrent que la question est équilibrée sur les avantages et les risques [159]. La compréhension du phénomène général, des débris et de la toxicité, est aujourd'hui inaccessible, mais certaines améliorations sont en cours afin d'assembler les pièces du puzzle.

Les implants sont toujours un sujet au phénomène d'usure, mais l'adaptation du phénomène d'usure aux réactions biologiques de chaque patient pourrait être un moyen d'augmenter leur durée de vie *in vivo*. La présente étude présente une nouvelle méthode pour évaluer les réactions inflammatoires / ostéogenèse / fibrose des nanoparticules céramiques, qui pourrait compléter la méthode standard. Ce travail révèle que l'exposition à des débris d'usure de taille nanométrique et micron provenant d'une nouvelle génération de composites céramiques induit différents types de réactions cellulaires. Des débris de taille micron stimulent la minéralisation des chondrocytes et donc l'ossification, alors que les nanoparticules affectent la viabilité et la prolifération cellulaire avec une sécrétion des médiateurs qui activent les cellules et induisent une inflammation. Ainsi, le concept de nanotoxicologie est toujours difficile et doit être pris en compte pour les études des implants articulaires.

CONCLUSION GÉNÉRALE

Les progressions scientifiques incessantes ont facilité la vie de l'Homme en lui garantissant le confort et la longévité. Cependant, la prolongation de la durée de vie est associée à une augmentation des maladies articulaires. En effet, le principal traitement dans le cas d'endommagement du tissu cartilagineux est la pose d'un implant articulaire (arthroplastie). Cependant, la durée de vie in vivo limitée de la prothèse articulaire, souvent influencée par le phénomène de l'usure ainsi que l'environnement biologique, pose un problème majeur.

Avec le développement de nouveaux matériaux utilisés dans les applications biomédicales, plusieurs couples de frottement ont été introduits dans la conception des prothèses totales de hanche : métal / polyéthylène ; céramique / polyéthylène ; métal / métal ; céramique / céramique. Néanmoins, malgré le faible taux d'usure prouvés pour les couples céramique / céramique, la discordance entre les résultats in vivo et ex vivo relève la question concernant la bioactivité des particules des céramiques, en particulier le concept de la nanotoxicité et la rupture fragile.

Dans ce contexte, ce travail vise à approfondir les connaissances sur le couple de frottement céramique-céramique (CoC), utilisé dans les prothèses totales de hanche, en rapport avec son comportement tribologique en premier lieu dans le but de fournir une meilleure compréhension de la vie en contact in vivo, en second lieu, avec son environnement biologique afin d'étudier la réponse biologique de ce matériau au niveau des surfaces périarticulaires.

Après l'étude bibliographique nécessaire pour introduire les PTH, les différents couples développés ainsi que présenter le couple CoC avec ses avantages et ses complications, nous avons présenté une étude comparative entre trois prothèses de hanche des trois patients différents récupérées suite à des interventions de reprise dues à l'apparition simultanées des douleurs et des grincements. Ces trois prothèses sont fabriquées avec le matériau composite ZTA BioloX® delta. Des analyses du fonctionnement tribologique basées sur le concept du triplet tribologique ont été réalisées. L'intérêt apporté à travers cette expertise tribologique consiste à comprendre ce qui se passe in vivo au niveau des surfaces du contact tête – cupule, avoir des explications sur les signaux cliniques signalés et apporter une meilleure compréhension du mécanisme de frottement à optimiser afin de réduire le « squeaking », inconvénient principal des implants en céramique.

Les résultats de notre étude tribologique ont montré la présence importante du troisième corps, d'où l'intérêt de l'étude réalisée afin d'évaluer la réponse biologique de particules céramiques. La première originalité de cette étude est d'utiliser des particules d'usure réelles obtenues par le simulateur de marche de la hanche (CERsim). Ces particules ont été comparées à des particules obtenues par des méthodes usuelles pour évaluer la biocompatibilité des matériaux : la presse (CERpress). Deux gammes de particules céramiques ont été observées : les particules céramiques de taille micron (fractures intergranulaires) et les nanoparticules (fractures intragranulaires), et caractérisées par rapport aux particules UHMWPE. La deuxième originalité de ce travail est d'évaluer la réaction cellulaire en utilisant les cultures de chondrocytes articulaires embryonnaires primaires simulant le processus d'ostéogénèse et non les lignées cellulaires, qui sont utilisées pour simuler la réaction biologique de l'ostéolyse. Ce type de culture cellulaire est plus sensible à l'environnement mécanique de l'articulation. Ce travail a mis en avant la réponse inflammatoire des nanoparticules de céramique associée à la résorption osseuse et aux maladies inflammatoires articulaires.

Cette étude présente certaines limites. Le nombre des implants récupérés est considéré limité. Il n'était pas possible d'expérimenter la prothèse récupérée directement depuis la salle d'opération, d'où l'impossibilité de l'identification de la présence de certaines particules d'usure sur les surfaces de contact. Les informations concernant les patients n'étaient pas disponibles dans tous les cas, c'est pourquoi il n'était pas possible pour nous d'analyser les résultats en fonction des facteurs liés aux patients.

Malgré ces limites, les résultats de ce travail constituent la base d'un travail à poursuivre et à améliorer. Ainsi, les perspectives futures sont d'élargir notre évaluation ex vivo en amplifiant le nombre des cas étudiés dans le but d'affiner notre expertise tribologique de la vie en contact in vivo par une étude quantitative de l'usure en relation avec les différents facteurs liés à l'environnement de la prothèse.

Les nanoparticules d'usure sont intrinsèquement présentes et produites dans les surfaces de contact des implants de la hanche. Néanmoins, l'identification in vivo des nanoparticules de céramique est difficile à réaliser dans les biopsies tissulaires. Cela est dû aux réactions biologiques provenant de l'impact des nanoparticules qui ne se produisent pas constamment au voisinage des implants. Certains exemples, la toxicité des nanoparticules, ont montré que certaines décharges devaient apparaître loin du lieu d'absorption des débris. Quels sont les mécanismes responsables à transporter ces débris ? Sont-ils liés aux mécanismes physiques impliqués dans le corps humains ou bien à la circulation des fluides ?

Ces questions restent à développer dans un travail futur. Notre travail contribue à la connaissance des causes de défaillances des prothèses de hanche en biocéramiques et propose une nouvelle méthode pour évaluer la réponse inflammatoires de nanoparticules de céramiques dans le but d'améliorer les prothèses de hanche avec le couples de frottement céramique - céramique.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [1] J. Perry. Gait Analysis: Normal and Pathological Function. Slack Incorporated ISBN13: 9781556421921, (1992)
- [2] I.A. Kapandji . “Physiologie articulaire - Membre inférieur”. Editions Maloine Paris, 5ème édition, (1999)
- [3] P. Kamina. Anatomie clinique : Tome 1, Anatomie générale, membres. Méloine (2009)
- [4] X. Chevalier, P. Richette. Cartilage articulaire normal : anatomie, physiologie, métabolisme, vieillissement. EMC - Rhumatologie-Orthopédie. Volume 2, Issue 1, Pages 41-58, (2005)
- [5] H. Gray. Anatomy of the Human Body. publié en 1858, édition 1918, <http://www.bartleby.com/107/>
- [6] B. Calais-Germain. Anatomie pour le mouvement tome 1 : Introduction à l’analyse des techniques corporelles, Limoux, France, Ed. Calais-Germain B, (1986).
- [7] U. Glitsch, W. Baumann. The three-dimensional determination of internal loads in the lower extremity. Journal of Biomechanics, 30:1123–1131, (1997).
- [8] D.E. Hurwitz, K.C. Foucher, T.P. Andriacchi. A new parametric approach for modeling hip forces during gait. Journal of Biomechanics 36, 113-119, (2003).
- [9] M. Heller, G. Bergmann, G. Deuretzbacher, L. Durselen, M. Pohl, L. Claes, N. Haas, G. Duda. Musculo-skeletal loading conditions at the hip during walking and stair climbing. Journal of Biomechanics, 34:883–893, (2001).
- [10] R.D. Komistek, J.B. Stiehl, D.A. Dennis, R.D. Paxson, R.W. Soutas-Little, Mathematical model of the lower extremity joint reaction forces using Kane’s method of dynamics. Journal of Biomechanics 31, 185-189, (1998).
- [11] Stansfield, B.W., Nicol, A.C., Paul, J.P., Kelly, I.G., Graichen, F., Bergmann, G. Direct comparison of calculated hip joint contact forces with those measured using instrumented implants. An evaluation of a three-dimensional mathematical model of the lower limb. Journal of Biomechanics 36, 929-936, (2003).
- [12] E. Genda, N. Iwasaki, G. Li, B.A. MacWilliams, P.J. Barrance, E.Y.S. Chao, Normal hip joint contact pressure distribution in single-leg standing - effect of gender and anatomic parameters. Journal of Biomechanics 34, 895-905, (2001).
- [13] I.D. Learmonth, C. Young, C. Rorabeck . The operation of the century: total hip replacement. Lancet. ;370:1508–1519, (2007).
- [14] S.R. Knight, R. Aujla, S.P. Biswas. Total Hip Arthroplasty - over 100 years of operative history. Orthop Rev (Pavia). Sep 6; 3(2): e16, (2011).
- [15] M.N. Smith-Petersen. The classic: evolution of mould arthroplasty of the hip joint. J Bone Joint Surg. 30B:L p 59–75, (1948).
- [16] S.R. Brown, W.A. Davies, D.H. DeHeer, A.B. Swanson. Long-term survival of McKee-Farrar total hip prosthesis. Clin Orthop Relat Res. 402, p 157–163, (2002).

- [17] H. McKellop, S.H. Park, R. Chiesa, P. Doorn, B. Lu, P. Normand, P. Grigoris, H. Amstutz. In vivo wear of three types of metal on metal hip prostheses during two decades of use. *Clin Orthop Relat Res.* 329:S128–140, (1996).
- [18] J. Charnley. Arthroplasty of the hip: a new operation. *Lancet.* 1:1129–1132, (1961).
- [19] C. H. Geerdink, B. Grimm, R. Ramakrishnan, J. Rondhuis, A. J. Verburg, A. J. Tonino. Crosslinked polyethylene compared to conventional polyethylene in total hip replacement: Pre-clinical evaluation, in-vitro testing and prospective clinical follow-up study. *Acta Orthopaedica*, Volume 77 - Issue 5, p 719-725, (2006).
- [20] G.K. McKee, J. Watson-Farrar. Replacement of arthritic hips by the McKee-Farrar prosthesis. *Bone Jt. J.* 48–B, 245–259, (1966).
- [21] JH. Dumbleton, MT. Manley. Metal-on-Metal total hip replacement: what does the literature say? *J Arthroplasty.* Feb;20(2), p 174-188, (2005).
- [22] P. Boutin. Total arthroplasty of the hip by fritted aluminum prosthesis. Experimental study and 1st clinical applications. *Rev. Chir. Orthop. Reparatrice Appar. Mot.* 58, 229–246, (1971).
- [23] F. Prigent. L’histoire des prothèses de hanche 1920-1980. <https://www.prothese-hanche.com/pdf/histoire-prothese-hanche.pdf>
- [24] J. Jackson. Father of the modern hip replacement: Professor Sir John Charnley (1911–82). *Journal of Medical Biography*, 19, p 151 – 156, (2011).
- [25] J-M. Lee. The Current Concepts of Total Hip Arthroplasty. *Hip Pelvis* ; 28(4): p 191–200, (2016).
- [26] U. Holzwarth, G. Cotogno. Total Hip Arthroplasty, State of the art, Challenges and Prospects. the Joint Research Centre of the European Commission (2012).
- [27] Annual Report 2019 of AOANJRR: <https://aoanjrr.sahmri.com/annual-reports-2019> page 118-119.
- [28] R. Pivec, AJ. Johnson, SC. Mears, MA. Mont. Hip arthroplasty. *Lancet.* 380, p 1768-1777, (2012).
- [29] P. Hernigou. Les prothèses totales de hanche. *Bull. Acad. Natle Méd.*, 2018, 202, nos 5-6, 1063-1070, séance du 12 juin 2018.
- [30] M. Sloan, A. Premkumar, NP. Sheth. Projected Volume of Primary Total Joint Arthroplasty in the U.S., 2014 to 2030. *J Bone Joint Surg Am.* Sep 5;100(17), p 1455-1460, (2018).
- [31] M. Ollivier, S. Frey, S. Parratte, X. Flecher, JN. Argenson. Does impact sport activity influence total hip arthroplasty durability? *Clin Orthop Relat Res.* Nov;470(11), p3060-3066, (2012).
- [32] DF. Lui, N. Bandorf, P. Riordan, O. Jaweesh, B. Duru, D. Bennett. Preoperative comorbidity and modes of failure in revision hip arthroplasty: a single-surgeon series in a tertiary referral centre. *Eur J Orthop Surg Traumatol.* Apr;23(3), p 329-333, (2013).
- [33] C. Delaunay. What are the causes for failures of primary hip arthroplasties in France? *Clin Orthop Relat Res*, 471, pp. 3863-3869, (2013).

- [34] National Joint Registry for England, Wales and Northern Ireland, 16th Annual Report, <https://reports.njrcentre.org.uk/Portals/0/PDFdownloads/NJR%2016th%20Annual%20Report%202019.pdf>. (2019).
- [35] K.J. Bozic, E. Lau, K. Ong, V. Chan, S. Kurtz, T. P. Vail, H.E. Rubash, D. J. Berry. Risk factors for early revision after primary total hip arthroplasty in Medicare patients. *Clin Orthop Relat Res*, 472, pp. 449-454, (2014).
- [36] Y. Abu-Amer, I. Darwech, J.C Clohisy. Aseptic loosening of total joint replacements: mechanisms underlying osteolysis and potential therapie. *Arthritis Res Ther*. 9(Suppl 1): S6, (2007).
- [37] D. Hutten, J-C. Lambotte, P. Bertho, E. Vignon. Les révisions de prothèse totale de hanche pour complications aseptiques. *Revue du Rhumatisme Monographies*. Volume 87, Issue 1, Pages 75-82, (2020).
- [38] NG. Wetters, TG. Murray, M. Moric, SM. Sporer, WG. Paprosky, CJ. Della Valle. Risk factors for dislocation after revision total hip arthroplasty. *Clin Orthop Relat Res*. 471, p410–416, (2013).
- [39] J. Dargel, J. Oppermann, G-P. Brüggemann, P. Eysel. Dislocation Following Total Hip Replacement. *Dtsch Arztebl Int*. Dec; 111(51-52), p 884–890, (2014).
- [53] A. Capone, S. Congia, R. Civinini, G. Marongiu. Periprosthetic fractures: epidemiology and current treatment. *Clin Cases Miner Bone Metab*. 14(2), p 189–196, (2017).
- [41] S. Marmor, L. Lhotellier. Prothèse de hanche infectée : le point de vue du chirurgien. *Revue du Rhumatisme Monographies*, Volume 86, Issue 4, Pages 335-340, (2019).
- [42] P. Bracco, A. Bellare, A. Bistolfi, S. Affatato. Ultra-High Molecular Weight Polyethylene: Influence of the Chemical, Physical and Mechanical Properties on the Wear Behavior. A Review. *Materials* 10, 791, (2017).
- [43] H. Koseki, T. Matsumoto, S. Ito, H. Doukawa, H. Enomoto, H. Shindo. Analysis of polyethylene particles isolated from periprosthetic tissue of loosened hip arthroplasty and comparison with radiographic appearance. *J Orthop Sci*. p 284-290, (2005).
- [44] L. Richards, C. Brown, M.H. Stone, J. Fisher, E. Ingham, J.L. Tipper. Identification of nanometre-sized ultra-high molecular weight polyethylene wear particles in samples retrieved in vivo. *J Bone Joint Surg Br*. p 1106-1113, (2008).
- [45] A. Bourghli, T. Fabre, P. Tramond, P. A. Durandau. Total Hip Replacement pseudotumoral osteolysis. *OrthopTraumatolSurg Res*. p 319-322, (2010).
- [46] V. Saikko. Wear and friction of thin, large-diameter acetabular liners made from highly cross-linked, vitamin-E-stabilized UHMWPE against CoCr femoral heads. *Wear Volumes* 432–433, 202948, (2019).
- [47] M.G. Zywiell, S.A Sayeed, A.J. Johnson, T.P. Schmalzried, M.A. Mont. State of the art in hard-on-hard bearings: how did we get here and what have we achieved ? *Expert Rev Med Devices*. p 187-207, (2011).
- [48] P.J. Firkins, J.L. Tipper, M.R. Saadatzadeh, E. Ingham, M.H. Stone, R. Farrar, J. Fisher. Quantitative analysis of wear and wear debris from metal-on-metal hip prostheses tested in a physiological hip joint simulator. *Biomed Mater Eng*, 11, pp. 143-157, (2001).

- [49] M. Al-Hajjar, I.J. Leslie, J. Tipper, S. Williams, J. Fisher, L.M. Jennings. Effect of cup inclination angle during microseparation and rim loading on the wear of BIOLOX® delta ceramic-on-ceramic total hip replacement. *J Biomed Mater Res Part B Appl Biomater*, 95, pp. 263-268, (2010).
- [50] J.S. Ansari, G.S. Matharu, H. Pandit. Metal-on-metal hips: current status, *Orthopaedics and Trauma* 32. pp 54-60, (2018).
- [51] T. Reiner , M.C. Klotz, K. Seelmann, F. Hertzsch, M.M. Innmann, M.R. Streit, T.A. Nees, B. Moradi, C. Merle, J.P. Kretzer, T. Gotterbarm. Long-Term Results of a Second-Generation, Small-Diameter, Metal-On-Metal Bearing in Primary Total Hip Arthroplasty at 14-Year Follow-Up, *Materials* , 13, p 557, (2020).
- [52] D. J. Langton, R.P. Sidaginamale, J.G. Bowsher, J.P. Holland, D. Deehan, A.V.F. Nargol, S. Natu. Aseptic lymphocyte-dominated vasculitis associated lesions are related to changes in metal ion handling in the joint capsules of metal-on-metal hip arthroplasties. *Bone Joint Res*; vol.7, p 388-396, (2018).
- [53] C.A. Oliveira, I.S. Candelária, P.B. Oliveira, A. Figueiredo, F. Caseiro-Alves. Metallosis: A diagnosis not only in patients with metal-on-metal prostheses. Published by Elsevier. *European Journal of Radiology Open* 2, p 3-6, (2015).
- [54] C.W. Grote, P.C. Cowan, D.W. Anderson, K.J. Templeton. Pseudotumor from Metal-on-Metal Total Hip Arthroplasty Causing Unilateral Leg Edema: Case Presentation and Literature Review. *Biores Open Access*; 7, p 33-38, (2018).
- [55] O. Guyen, C. Tissot. Suivi des patients avec arthroplastie de hanche métal-métal et stratégie de prise en charge des complications, *Rev Med Suisse*; volume 12. p 2156-2163, (2016).
- [56] HJ. Sanders . High-tech ceramics. *Chemical and Engineering News* 62 (28): 26-40, (1984).
- [57] D. Hannouche, A. Zaoui, F. Zadegan, L. Sedel, R. Nizard. Thirty years of experience with alumina-on-alumina bearings in total hip arthroplasty. *Int Orthop*.Feb;35(2), p 207-213, (2011).
- [58] G. Willmann. Ceramics for Total Hip Replacement - What a Surgeon Should Know. *Orthopedics*.21(2),p 173-177, (1998).
- [59] M. Hamadouche, RS. Nizard, A. Meunier, P. Bizot, L. Sedel. Cementless bulk alumina socket: preliminary results at 6 years. *J Arthroplasty*. 14(6), p 701-707, (1999).
- [60] M. Merola, S. Affatato. Materials for Hip Prostheses: A Review of Wear and Loading Considerations. *Materials (Basel)*. 12(3): 495, (2019).
- [61] C. Brockett, S. Williams, Z. Jin, G. Isaac, J. Fisher. Friction of Total Hip Replacements With Different Bearings and Loading Conditions. *J Biomed Mater Res Part B: Appl Biomater* 81B, p 508–515, (2007).
- [62] LL. Hench. Bioceramics: from concept to clinic. *J Am Ceram Soc* 74(7), pp 1487-1510, (1991).
- [63] J. Harms, E. Mausle E. Tissue reaction to ceramic implant material. *J Biomed Mater Res*. 13(1), pp67-87, (1979).
- [64] A. Walter. On the material and the tribology of alumina-alumina couplings for hip joint prostheses. *Clin Orthop Relat Res*. (282), pp 31-46, (1992).

- [65] D. Kluess, P. Bergschmidt, W. Mittelmeier, R. Bader. Ceramics for joint replacement. Joint Replacement Technology (Second Edition), pp 152-166, (2014).
- [66] C. Piconi, G. Maccauro, F. Muratori, E.B.O. Prever. Alumina and zirconia ceramics in joint replacements. J. Appl. Biomater. Biomech. 1,p 19–32, (2003).
- [67] C. Piconi, R.M. Streicher. 40 Years of Ceramic-on-Ceramic THR Bearings. Semin. Arthroplasty 24, pp 188–192, (2013).
- [68] R. Murali, S. Bonar, G. Kirsh, WK. Walter, WL. Walter : Osteolysis in third generation alumina ceramic on ceramic hip bearings with severe impingement and titanium metallosis. The Journal of Arthroplasty, 23, 2008.
- [69] ISO/TC 150/SC 1. Implants for surgery — Ceramic materials based on yttria-stabilized tetragonal zirconia (Y-TZP). ISO 13356:2015.
- [70] C. Piconi, G. Maccauro. Zirconia as a ceramic biomaterial. Biomaterials. 20(1), pp 1-25, (1999).
- [71] J. Chevalier. What future for zirconia as a biomaterial? Biomaterials. 27(4), pp 535-543, (2006).
- [72] E.H. Kisi, C.J. Howard. Crystal structures of zirconia phases and their interrelation. Key Eng Mater. 153/154, pp 1–35, (1998).
- [73] J. Chevalier, L. Gremillard, S. Deville. Low-temperature degradation of Zirconia and implications for biomedical implants. In Annual Review of Materials Research, (Palo Alto: Annual Reviews), pp. 1–32, (2007).
- [74] A.H. Heuer, F.F. Lange, M.V. Swain, A.G. Evans. Transformation Toughening: An Overview. The American Ceramic Society, Volume 69, Issue 3, p 1-4, (1986).
- [75] K. Haraguchi, N. Sugano, T. Nishii T, H. Miki, K. Oka, H. Yoshikawa. Phase transformation of a zirconia ceramic head after total hip arthroplasty. J Bone Joint Surg Br 83:996–1000., (2001).
- [76] J. Chevalier, B. Cales, JM. Drouin. Low-temperature aging of Y-TZP ceramics. J Am Ceram Soc 82:2150–2154, (1999).
- [77] NP. Sheth, P. Lementowski, G. Hunter, JP. Garino. Clinical applications of oxidized zirconium. J Surg Orthop Adv. Spring; 17(1), pp 17-26, (2008).
- [78] S. Begand, T. Oberbach, W. Glien. ATZ – A New Material with a High Potential in Joint Replacement. Key Engineering Materials 284-286(4):983-986, (2005).
- [79] L. Gremillard, J. Chevalier, L. Martin, T. Douillard, S. Begand, K. Hans, T. Oberbach. Sub-surface assessment of hydrothermal ageing in zirconia-containing femoral heads for hip joint applications. Acta Biomater., 68, pp. 286-295, (2018).
- [80] SM. Kurtz, S. Kocagöz, C. Arnholt, R. Huet, M. Ueno, WL. Walter. Advances in zirconia toughened alumina biomaterials for total joint replacement. J Mech Behav Biomed Mater. 31, pp 107-116, (2014).
- [81] A. Perrichon, B.H. Liu, J. Chevalier, L. Gremillard, B. Reynard, F. Farizon, J-D Liao, J. Geringer. Ageing, Shocks and Wear Mechanisms in ZTA and the Long-Term Performance of Hip Joint Materials. Materials, 10, 569, (2017).

- [82] B. Masson. Emergence of the alumina matrix composite in total hip arthroplasty. *International Orthopaedics (SICOT)*, 33, pp 359–363, (2009).
- [83] Y.K. Lee, Y.C. Ha, J-I. Yoo, W.L. Jo, K-C. Kim, K.H. Koo. Mid-term results of the BIOLOX delta ceramic-on-ceramic total hip arthroplasty. *The Bone & Joint Journal*, Vol. 99-B, No. 6, p 741–748, (2017).
- [84] YK. Lee, YC. Ha, JJ. Yoo, KH. Koo, KS. Yoon, HJ. Kim. Alumina-on-alumina total hip arthroplasty: a concise follow-up, at a minimum of ten years, of a previous report. *J Bone Joint Surg Am*. 21; 92(8), p 1715-1719, (2010).
- [85] G. Lee. Ceramic component fracture: getting rarer, but when it happens · · !. *Orthopaedic Proceedings* Vol. 99-B, No. SUPP_15, (2017).
- [86] P. Hernigou, F. Roubineau, C. Bouthors, C-H.i Flouzat-Lachaniette. What every surgeon should know about Ceramic-on-Ceramic bearings in young patients. *EFORT Open Rev*. 1(4), p 107–111, (2016).
- [87] KH. Koo, YC. Ha, WH. Jung, SR. Kim, JJ. Yoo, HJ. Kim. Isolated fracture of the ceramic head after third-generation alumina-on-alumina total hip arthroplasty. *J Bone Joint Surg Am*. 90(2), p 329-336, (2008).
- [88] F. Traina, M. De Fine, A. Di Martino, C. Faldini. Fracture of Ceramic Bearing Surfaces following Total Hip Replacement: A Systematic Review. *BioMed Research International*, Article ID 157247, 8 pages, (2013).
- [89] S. Aldrian, T. Nau, F. Gillesberger, N. Petras, R. Ehall. Medium-term analysis of modern ceramic-on-ceramic bearing in THA. *Hip Int*. 19(1), p 36-40, (2009).
- [90] JJ. Yoo, YM. Kim, KS. Yoon, KH. Koo, JW. Kim, KW. Nam, HJ. Kim. Contemporary alumina-on-alumina total hip arthroplasty performed in patients younger than forty years: a 5-year minimum follow-up study. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*. Jul; 78(1), p 70-75, (2006).
- [91] A. Toni, S. Terzi, A. Sudanese, FA. Zappoli, A. Giunti. Fracture of the ceramic epiphysis in hip arthroplasty. *Chir Organi Mov*. 81(1),p 11-19, (1996).
- [92] JA. D'Antonio, K. Sutton. Ceramic materials as bearing surfaces for total hip arthroplasty. *J Am Acad Orthop Surg*. Feb; 17(2), p 63-68, (2009).
- [93] WG. Hamilton, JP. McAuley, DA. Dennis, JA. Murphy, TJ. Blumenfeld, J. Politi. THA with Delta ceramic on ceramic: results of a multicenter investigational device exemption trial. *Clin Orthop Relat Res*. 468(2), p 358-366, (2010).
- [94] F. Traina, M. De Fine, B. Bordini, A. Toni. Risk factors for ceramic liner fracture after total hip arthroplasty. *Hip Int*. 22(6), pp 607-614, (2012).
- [95] IY. Choi, YS. Kim, KT. Hwang, YH. Kim. Incidence and factors associated with squeaking in alumina-on-alumina THA. *Clin Orthop Relat Res*. 468(12), p 3234-3239, (2010).
- [96] A.M. Imbuldeniya, S.J. Pearce, W.L. Walter, B.A. Zicat, W.K. Walter. Squeaking: Current knowledge and how to avoid it. *Curr Rev Musculoskelet Med*. 6(4): p 342–349, (2013).
- [97] CA. Jarrett, AS. Ranawat, M. Bruzzone, YC. Blum, JA. Rodriguez, CS. Ranawat. The squeaking hip: A phenomenon of ceramic-on-ceramic total hip arthroplasty. *J Bone Joint Surg Am*;91, p 1344-1349, (2009).

- [98] D. Owen, N. Russell, A. Chia, M. Thomas. The natural history of ceramic-on-ceramic prosthetic hip squeak and its impact on patients. *Eur J Orthop Surg Traumatol.* 24, p 57–61, (2014).
- [99] K. Mai, C. Verioti, KA. Ezzet, SN. Copp, RH. Walker, CW. Colwell. Incidence of ‘squeaking’ after ceramic-on-ceramic total hip arthroplasty. *Clin Orthop Relat Res.* 468, p 413–417, (2010).
- [100] SA. Sexton, E. Yeung, MP. Jackson, S. Rajaratnam, JM. Martell, WL. Walter, BA. Zicat, WK. Walter. The role of patient factors and implant position in squeaking of ceramic-on-ceramic total hip replacements. *J Bone Joint Surg Br.* 93(4): p 439-442, (2011).
- [101] WL. Walter, E. Yeung, C. Esposito. A review of squeaking hips. *J Am Acad Orthop Surg.* 18(6), p 319-326, (2010).
- [102] E. Sariali, S. Klouche, P. Mamoudy. Ceramic-on-ceramic total hip arthroplasty: is squeaking related to an inaccurate three-dimensional hip anatomy reconstruction? *Orthop Traumatol Surg Res.* 100(4), p437-440, (2014).
- [103] J. Parvizi, B. Adeli, JC. Wong, C. Restrepo, RH. Rothman. A squeaky reputation: the problem may be design-dependent. *Clin Orthop Relat Res.* 469(6), p1598-1605, (2011).
- [104] C. Restrepo, ZD. Post, B. Kai, WJ. Hozack. The effect of stem design on the prevalence of squeaking following ceramic-on-ceramic bearing total hip arthroplasty. *J Bone Joint Surg Am.* 92(3), p550-557, (2010).
- [105] <http://www.oxforddictionaries.com/definition/english/tribology>
- [106] S. Affatato, M. Spinelli, M. Zavalloni, C. Mazzega-Fabbro, M. Viceconti. Tribology and total hip joint replacement: Current concepts in mechanical simulation. *Medical Engineering & Physics* 30, p 1305–1317, (2008).
- [107] B. Bhushan. *Nanotribology and Nanomechanics: An Introduction.* second ed., Springer-Verlag, Heidelberg, Germany, (2008).
- [108] C-A. Coulomb, *Théorie des Machines Simples, en ayant regard au Frottement de leurs Parties, et a la Roideur des Cordages.* *Mem Math Phys* 1785;X:161–342.
- [109] M. Godet. The third-body approach: a mechanical view of wear, *Wear* 100 (1–3), p 437–452, (1984).
- [110] Y. Berthier. Maurice Godet's third body, *Tribology Series*, Elsevier, BV, pp.21–30, (1996).
- [111] M. Cartier, P. Kapsa, *Usure des contacts mécaniques, Techniques de l’Ingénieur*, BM5065 à BM5061 (2001).
- [112] Y. Berthier. Third-body reality - consequences and use of the third-body concept to solve friction and wear problems, *Wear - Materials, Mechanisms and Practice*, Wiley-Blackwell, pp. 291 – 316, (2014).
- [113] B.D. Leonard, A. Ghosh, F. Sadeghi, S. Shindeb, M.Mittelbach. Third body modeling in fretting using the combined finite-discrete element method. *International Journal of Solids and Structures*, Volume 51, Issue 6,p 1375–1389, (2014).
- [114] Y. Berthier, M. Godet, M. Brendle. Velocity accommodation in friction, *Tribol. Trans.* 32 (4), p490–496, (1989).

- [115] J.A. Williams. Wear and wear particles—some fundamentals. *Tribol Int*, 38 (10), pp. 863-870, (2005).
- [116] W. Hong, W. Cai, S. Wang, M.M.Tomovic. Mechanical wear debris feature, detection, and diagnosis: A review. *Chinese Journal of Aeronautics*, Volume 31, Issue 5, p 867-882, (2018).
- [117] S.C.H. Thian, W. Feng, Y.S. Wong, J.Y.H. Fuh, H.T Loh, K.H. Tee, Y. Tang, L. Lu. Dimensional measurement of 3D microstructure based on white light interferometer. *Journal of Physics: Conference Series* 48, 1435–101, (2006).
- [118] K.D.Vernon-Parry. Scanning electron microscopy: an introduction. *III-Vs Review*, Volume 13, Issue 4, p 40-44, (2000).
- [119] J. Goldstein, D.E. Newbury, P. Echlin, C.E. Lyman, D.C. Joy, E. Lifshin, L.C. Sawyer, J. R. Michael. *Scanning Electron Microscopy and X-ray Microanalysis*. Springer; 3rd ed. p 69-142, (2003).
- [120] B.J. Inkson. Scanning electron microscopy (SEM) and transmission electron microscopy (TEM) for materials characterization. *Materials Characterization Using Nondestructive Evaluation (NDE) Methods*, p 17-43, (2016).
- [121] M.J. Sanderson, I. Smith, I. Parker, M.D. Bootman. *Fluorescence Microscopy*. Cold Spring Harb Protoc. 2014 Oct; 2014(10): pdb.top071795.
- [122] S. Affatato, W. Leardini, M. Zavalloni. Hip Joint Simulators: State of the Art. In: Benazzo F., Falez F., Dietrich M. (eds) *Bioceramics and Alternative Bearings in Joint Arthroplasty. Ceramics in Orthopaedics*. Steinkopff, pp 171-180, (2006).
- [123] I Essefi, H Hakkouna, G Ouenzerfi, G Mollon, S. Hamza, E Renault, Y. Berthier, A-M Trunfio-Sfarghiu. Tribological characterisation of UHMWPE used in dual mobility total hip prosthesis. *IOP Conf. Series: Materials Science and Engineering* 147, 012014, (2016).
- [124] M. Scott, M. Morrison, S.R. Mishra, S. Jani. Particle analysis for the determination of UHMWPE wear. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*.73: 325-37, (2005).
- [125] ME. Blewis, GE. Nugent-Derfus, TA. Schmidt, BL. Schumacher, RL. Sah. A model of synovial fluid lubricant composition in normal and injured joints. *European Cells and Materials* Vol. 13. pages 26-39, (2007).
- [126] CP. Neu, K. Komvopoulos, AH. Reddi. The interface of functional biotribology and regenerative medicine in synovial joints. *Tissue Eng Part B Rev*. 14(3), p 235-47, (2008).
- [127] M. Gosset, F. Berenbaum, S. Thirion, C. Jacques. Primary culture and phenotyping of murine chondrocytes. *Nature protocols*, vol.3, p 1253-1260, (2008).
- [128] T. Mosmann. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. *J Immunol Methods*. 16;65, p 55-63, (1983).
- [129] H. Puchtler, S.N. Meloon, M.S. Terry. On the history and mechanism of alizarin and alizarin red S stains for calcium. *J.Histochem. Cytochem*. 17, p 110-124, (1969).
- [130] M. Balcerzak, E. Hamade, L. Zhang, S. Pikula, G. Azzar, J. Radisson, J. Bendorowicz-Pikula, R. Buchet. The roles of annexins and alkaline phosphatase in mineralization process. *ActaBiochim Pol* 50, p 1019-1038, (2003).

- [131] P.K. Smith, R.I. Krohn, G.T. Hermanson, A.K. Mallia, F.H. Gartner, M.D. Provenzano, E.K. Fujimoto, N.M. Goeke, B.J. Olson, D.C. Klenk. Measurement of protein using bicinchoninic acid. *Analytical biochemistry* 19, p 76-85, (1985).
- [132] A. Hannoun, G. Ouenzerfi, L. Brizuela, S. Mebarek, C. Bougault, M. Hassler, Y. Berthier, A.M. Trunfio-Sfarghiu. Pyrocarbon versus cobalt-chromium in the context of spherical interposition implants: an in vitro study on cultured chondrocytes. *European Cells and Materials* Vol. 37, p 1-15, (2019).
- [133] D.C. Klein, L.G. Raisz. Prostaglandins: Stimulation of Bone Resorption in Tissue Culture, *Endocrinology* 86, 1436, (1970).
- [134] M.C. Callanan, B. Jarrett, C.R. Bragdon, D. Zurakowski, H.E. Rubash, A.A. Freiberg, H. Malchau. The John Charnley Award: risk factors for cup malpositioning: quality improvement through a joint registry at a tertiary hospital. *Clin Orthop Relat Res.* 469(2), p 319-329, (2011).
- [135] C. Chevillotte, R.T. Trousdale, K.-N. An, D. Padgett, T. Wright. Retrieval analysis of squeaking ceramic implants: Are there related specific features? *Orthopaedics & Traumatology: Surgery & Research* 98, p 281-287, (2012).
- [136] W.L. Walter, S.M. Kurtz, C. Esposito, W. Hozack, K.G. Holley, J.P. Garino, M.A. Tuke. Retrieval analysis of squeaking alumina ceramic-on-ceramic bearings. *J Bone Joint Surg Br*; 93(12), p 1597-1601, (2011).
- [137] C. Chevillotte, R.T. Trousdale, Q. Chen, O. Guyen, K.-N. An. The 2009 Frank Stinchfield Award: "Hip Squeaking": a biomechanical study of ceramic-on-ceramic bearing surfaces. *Clin Orthop Relat Res*, 468, pp. 345-350, (2009).
- [138] E. Soriali, T. Stewart, Z. Jin, J. Fisher. In vitro investigation of friction under edge loading conditions for ceramic-on-ceramic total hip prosthesis. *J Orthop Res*, 28, pp. 979-985, (2010).
- [139] A. Impergre, A.M. Trunfio-Sfarghiu, C. Der-Loughian, L. Brizuela, S. Mebarek, B. Ter-Ovanesian, A. Bel-Brunon, Y. Berthier, Y. Normand. Tribocorrosion of Polyethylene/Cobalt Contact Combined with Real-Time Fluorescence Assays on Living Macrophages: Development of A Multidisciplinary Biotribocorrosion Device. *Biotribology*, 18 :100091, (2019).
- [140] O.N. Schipper, S.L. Haddad, S. Fullam, R. Pourzal, M.A. Wimmer. Wear Characteristics of Conventional Ultrahigh-Molecular-Weight Polyethylene Versus Highly Cross-Linked Polyethylene in Total Ankle Arthroplasty. *Foot Ankle Int.* 39(11):1335-1344, (2018).
- [141] H. Koseki, T. Matsumoto, S. Ito, H. Doukawa, H. Enomoto, H. Shindo. Analysis of polyethylene particles isolated from periprosthetic tissue of loosened hip arthroplasty and comparison with radiographic appearance. *J Orthop Sci.* p 284-290, (2005).
- [142] L. Richards, C. Brown, M.H. Stone, J. Fisher, E. Ingham, J.L. Tipper. Identification of nanometre-sized ultra-high molecular weight polyethylene wear particles in samples retrieved in vivo. *J Bone Joint Surg Br.* p 1106-1113, (2008).
- [143] A. Wang, A. Essner, C. Stark, J.H. Dumbleton. Comparison of the size and morphology of UHMWPE wear debris produced by a hip joint simulator under serum and water lubricated conditions. *Biomaterials* 17, p 865-871, (1996).
- [144] K.F. Orishimo, A.M. Claus, C.J. Sychterz, C.A. Engh. Relationship between polyethylene wear and osteolysis in hips with a second-generation porous-coated cementless cup after seven years of follow-up. *J Bone Joint Surg Am.* 85, p 1095-1099, (2003).

- [145] W.L. Walter, Insley. G.M, Walter. W.K, Tuke. M.A. Edge loading in third generation alumina ceramic-on-ceramic bearings: Stripe wear. *The Journal of Arthroplasty*, July 19(4):402-413, (2004).
- [146] Tipper. J. L, E. Ingham, J.L. Hailey, A.A. Besong, J. Fisher, B.M. Wroblewski, M.H. Stone. Quantitative analysis of polyethylene wear debris, wear rate and head damage in retrieved Charnley hip prostheses. *J Mater Sci Mater Med*; 11, p 117-124, (2000).
- [147] Md.J. Nine, D. Choudhury, A.C. Hee, R. Mootanah, N.A. Abu Osman. *Wear Debris Characterization and Corresponding Biological Response: Artificial Hip and Knee Joints. Materials (Basel)*. p 980-1016, (2014).
- [148] J. Uribe, J. Geringer, L. Gremillard, B. Reynard. Degradation of alumina and zirconia-toughened alumina (ZTA) hip prostheses tested under microseparation conditions in a shock device. *Tribology International* 63, p 151-157, (2013).
- [149] A. Perrichon, B. Reynard, L. Gremillard, J. Chevalier, F. Farizon, J. Geringer. A testing protocol combining shocks, hydrothermal ageing and friction, applied to Zirconia Toughened Alumina (ZTA) hip implants. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials* 65, p 600-608, (2017).
- [150] E. Ricciotti, G.A. FitzGerald. Prostaglandins and Inflammation. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 31, p 986-1000, (2011).
- [151] I. Papageorgiou, C. Brown, R. Schins, S. Singh, R. Newson, S. Davis, J. Fisher, E. Ingham., C.P. Case. The effect of nano- and micron-sized particles of cobalt–chromium alloy on human fibroblasts in vitro. *Biomaterials*, 28; p 2946–2958, (2007).
- [152] O. Roualdes, M-E. Duclosa, D. Gutknecht, L. Frappart, J. Chevalier, D. J. Hartmann. In vitro and in vivo evaluation of an alumina–zirconia composite for arthroplasty applications. *Biomaterials* 31, p 2043-2054, (2010).
- [153] J. Bertrand, D. Delfosse, V. Mai, F. Awiszus, K. Harnisch, CH. Lohmann. Ceramic prosthesis surfaces induce an inflammatory cell response and fibrotic tissue changes. *Bone Joint J*. p 882-890, (2018).
- [154] M. Péoc'h, C. Moulin, B. Pasquier. Systemic Granulomatous Reaction to a Foreign Body after Hip Replacement. *N Engl J Med*; 335:133-134, (1996).
- [155] I. Bos, R. Johannisson. Foreign body reactions in lymph nodes of oncology patients with joint prostheses light, electron microscopic and immunohistological investigations. *Pathology, Research and Practice* 200: p 189-196, (2004).
- [156] A. M. Gatti. Biocompatibility of micro- and nano-particles in the colon. Part II. *Biomaterials* 25: p 385-392, (2004).
- [157] A. M. Gatti, S. Montanari, E. Monari, A. Gambarelli, F. Capitani, B. Parisini. Detection of micro and nano-sized biocompatible particles in blood. *Journal of Material Science: Materials in medicine* 15: p 469-472, (2004).
- [158] A. M. Gatti, F. Rivasi. Biocompatibility of micro- and nanoparticles. Part I: in liver and kidney. *Biomaterials* 23: p 2381-2387, (2002).
- [159] A. Störmer, J. Bott, D. Kemmer, R. Franz. Critical review of the migration potential of nanoparticles in food contact plastics. *Trends in Food Science & Technology* 63, p 39-50, (2017).

ANNEXE

Protocole de Culture de chondrocytes articulaires des souriceaux

A. Matériel et Produits

- 1 boîte de dissection comprenant :
 - 1 paire de gros ciseaux
 - 1 paire de petits ciseaux fins
 - 1 pince courbe très fines
 - 1 pince droite pointue très fine
 - 1 scalpel
- des Boîtes de Pétri P60 (Boîtes Corning ou Costar)
- 1 tube de 30mL de PBS stérile
 - + Peni-Strepto 1%
- Milieu de culture « DMEM PS-Glu »
 - 500mL de DMEM 1g/L de Glucose
 - + Peni-Strepto 1%
 - + L-Glutamine 1%
- Milieu de culture « DMEM complet »

Au cours du protocole, le milieu sera complété

 - + SVF 10%
- Solution de libérase : à préparer extemporanément
 - Poudre « Liberase TM Research Grade »
 - Solution mère aliquotée par 100µL (-20°C) :

En DMEM PS-Glu (sans SVF) à 26 U/mL
 - Préparer 10mL de solution de libérase à utiliser :

En DMEM PS-Glu (sans SVF) à 0.52 U/mL (dilution 1/50 : 200µL)

B. Méthode

- 1) Dissection sur souriceaux de 5/6 jours (matin)
 - Sacrifier la mère par la technique d'élongation des cervicales
 - Tuer le souriceau en lui coupant la tête avec des gros ciseaux

- Mettre le souriceau sur le ventre et épingler les deux pattes avant
 - Enlever la peau :
 - Découper avec de petits ciseaux fins la peau en partant du haut de la queue et en longeant la colonne vertébrale jusqu'au-dessus des hanches
 - Déshabiller les pattes
 - Couper les pattes au-dessus du niveau des hanches
 - Dégager le squelette en enlevant les tissus mous au scalpel
 - Prélever les têtes fémorales :
 - Trouver la très petite bille entre le fémur et la hanche
 - A l'aide d'une pince courbe très fine la prélever et la mettre dans un tube Falcon contenant 30mL de PBS stérile
 - Prélever les genoux :
 - Trouver l'articulation et prélever le cartilage: deux parties blanches, une reliée au bas du fémur, l'autre au tibia
 - La couper en faisant attention de pas prendre d'os avec
 - Déposer le genou en deux parties dans le tube de PBS +P/S
 - Conserver à 4°C jusqu'à la digestion enzymatique
- 2) Digestion enzymatique (2h en fin d'après-midi + nuit)
- Rincer les articulations au PBS
 - Transvaser les articulations dans une P60
 - Enlever le PBS puis digérer dans 4mL de Liberase à 0.52 U/ml
- i. Incuber 45min à 37°C
- Agiter avec une pipette de 25mL (aspirer/refouler)
 - Passer les explants dans une nouvelle boîte P60 puis digérer dans 4mL de Liberase à 0.52 U/mL
- i. Incuber de nouveau 45min à 37°C
- Laver 3 fois en PBS pour éliminer le tissu fibreux (en tube Falcon de 50mL, avec 25-30mL de PBS)
 - Digérer dans 6mL de Liberase à 0.13 U/mL dans une nouvelle boîte P60 en diluant la solution précédente au ¼ en DMEM PS-Glu (sans SVF)
- i. Incuber 1 nuit à 37°C
- 3) Mise en culture (lendemain matin)

- Aspirer/Refouler à la pipette pour séparer les cellules des os (25, 10 et 5mL et cône de 1000µL)
- Compléter avec au moins 1 volume de DMEM complet (+ SVF)
- Filtrer sur tamis cellulaire 100µm dans un tube de Falcon 50mL
- Compter les cellules sur cellule de Malassez
- Ensemencer les cellules (cf. tableau)

P100	59.5 cm ²	750 000 cellules	10mL DMEM complet
P60	22 cm ²	275 000 cellules	3mL DMEM complet
6 puits (P35)	9.6 cm ²	120 000 cellules	2mL DMEM complet
12 puits	3.8 cm ²	60 000 cellules	2mL DMEM complet

4) Entretien de la culture

- milieu « complet »
 - i. Laisser les cellules adhérer aux boîtes 48h
 - ii. vendredi (j3)
- chondrocytes différenciés environ 80% confluence
 - i. lundi (j6)

Pour différenciation ostéogénique

- milieu DMEM 4.5g/L glucose P/S Gln Hepes 10%SVF décomplémenté
 - i. lundi (j6)
- milieu « VitC + beta-glycéro »
 - i. mardi (j7)
 - ii. vendredi (j10)
 - iii. lundi (j13)
- chondrocytes « minéralisants »
 - i. vendredi (j17)

