Jacqueline Jozefonvicz
Marcel Jozefowicz

Polymères et milieu vivant

Introduction

Les biomatériaux sont des matériaux conçus et réalisés pour être utilisés sous contrainte biologique comme implants permanents ou bien au contact temporaire du milieu vivant. Ils doivent, de ce fait, être dotés d'un ensemble de propriétés désignées sous le terme de biocompatibilité (voir *encadrés*). La notion de biocompatibilité a évolué ces dix dernières années, répondant à un souci d'une conception plus approfondie des propriétés que doit avoir un biomatériau. En effet, pour être biocompatible, celui-ci doit avoir des propriétés mécaniques et physico-chimiques aussi proches que possible des propriétés de l'organe, de la partie de l'organe ou du tissus (articulation, vaisseau, valve cardiaque, plasma sanguin) dont il constitue un substitut ; il ne doit pas introduire de toxicité ni par lui-même ni par ses produits de dégradation ou de relargage, il ne doit pas provoquer de réactions néfastes de la part de l'organisme hôte (mutagénicité, carcinogénicité, réaction immunitaire ou de rejet, thrombose, etc.). Il faut noter que cette définition de la biocompatibilité est encore actuellement insuffisante et qu'elle devra, à terme, être caractérisée par une série de grandeurs mesurables [1, 2].

TABLEAU I. - *Application des biomatériaux en 1982 (USA + Europe)*

Système de suppléance	nombre/an
Implants cardiovasculaires :	
valves cardiaques	75.000
pacemakers	250.000
prothèses vasculaires	250.000
Implants orthopédiques	
prothèses de la hanche	250.000
prothèses du genou	100.000
Implants ophtalmologiques :	
lentilles cornéennes	2.000.000
implants intra oculaires	250.000
Suppléances extracorporelles :	
oxygénateurs	500.000
hémodialyseurs	16.000.000
tubes pour circulation extra-corporelle	17.000.000
catheters	200.000.000
poches à sang	30.000.000

Les biomatériaux sont actuellement constitués de matériaux aux propriétés physiques et chimiques très diverses puisqu'ils sont à base de métaux, de céramiques et de polymères en fonction de leur usage médical. Les thérapeutiques substitutives, ayant pour objet de suppléer aux fonctions déficientes qui apparaissent chez certains patients, relèvent de deux grandes catégories de suppléances :

Biomatériaux

Matériaux artificiels ou synthétiques destinés à travailler sous contrainte biologique, en contact direct avec le système vivant.

Ils sont utilisés pour réaliser des systèmes de suppléance :

- Organes bioartificiels
- Implants
- CEC
- Prothèses
- Oxygénateurs
- Hémodialyseurs

Trois domaines

- Cardiovasculaire
- Chirurgies orthopédique et odontologique
- Ophtalmologie.

Ils ont généralement des applications spécifiques qui dépendent de leurs propriétés chimiques et mécaniques.

Biocompatibilité

- **Thrombogénicité**
- **Immunogénicité**
  - activation de la réponse immunitaire : anticorps et système du complément.
- **Action sur les cellules**
  - modulation de la croissance,
  - expression phénotypique,
  - activité biologique,
  - mutagénicité.
- **Toxicité**

  le matériau peut être toxique :
  - par lui-même,
  - par ses produits de dégradation,
  - par ses produits de relargage.
- **Carcinogénicité**

Laboratoire de recherches sur les macromolécules, université Paris-Nord, avenue J.-B.-Clément, 93430 Villetaneuse.

- les organes dits artificiels tels que les ensembles de dialyse rénale, d'épuration plasmatique ou le pancréas artificiel assurant la compensation d'une déficience fonctionnelle momentanée ou chronique,

- les prothèses implantées telles que les prothèses orthopédiques (articulations de la hanche et du genou), cardiovasculaires (substituts du plasma sanguin ou du sang, valves cardiaques, prothèses vasculaires) ou ophtalmologiques (cristallin artificiel, lentilles cornéennes à port prolongé ou permanent, implants intra-oculaires).

Dans tous les cas, la mise en œuvre des ces thérapeutiques substitutives entraîne la mise au contact des organismes humains avec des systèmes artificiels constitués pour tout ou partie de polymères, que ce soit en chirurgie orthopédique et traumatologique, dans le domaine cardiovasculaire, ophtalmologique ou divers (pansements, sutures, substituts sanguins ou peau artificielle) *(tableau I)*.

Biocompatibilité des polymères en chirurgie orthopédique et traumatologique

Dans le domaine de la chirurgie orthopédique et traumatologique, même si les matériaux métalliques et les céramiques sont largement utilisés en raison de leurs propriétés mécaniques ainsi que le montre la *figure 1*, les matériaux à base de polymères biodégradables ou non ont fait aussi leurs preuves pour certains usages.

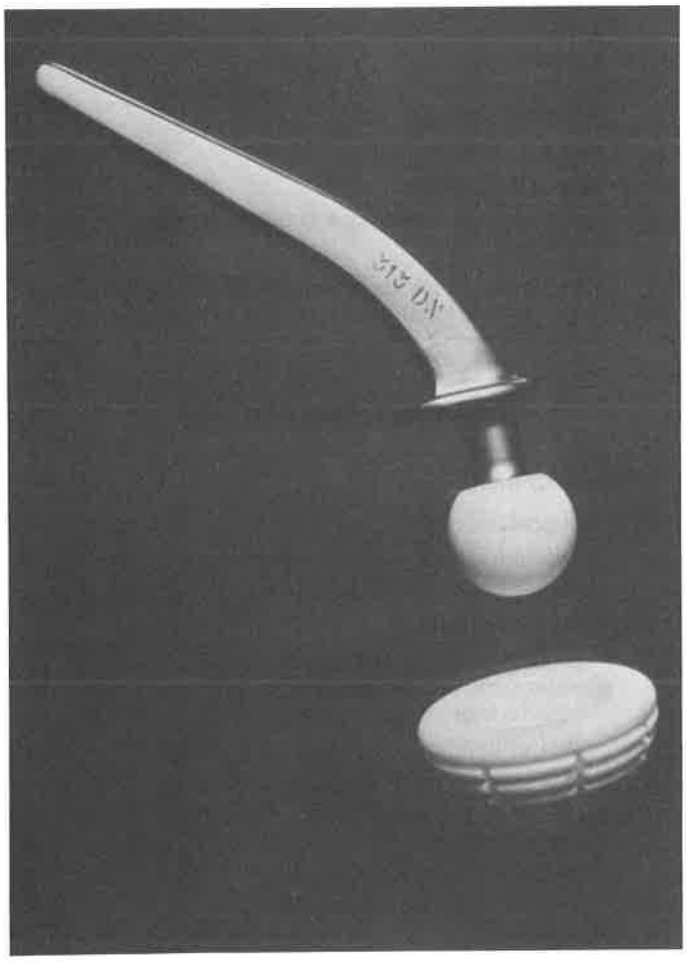


FIGURE 1. - *Prothèse totale de hanche.*
Queue fémorale : acier inoxydable ou alliage de titane.
Tête de frottement : acier, céramiques ou zircone.
Cothyle prothétique : polyéthylène ou alumine.

Ainsi, par exemple, des polymères de synthèse tels que le polytétrafluoroéthylène expansé, les polyesters sont utilisés pour réaliser des ligaments prothétiques. Dans ce domaine, des copolymères ou des alliages de polymères fonctionnalisés, capables d'interagir positivement avec les fibroblastes et, de ce fait, colonisables par les tissus vivants devraient permettre la réalisation de prothèses ligamentaires pour lesquelles n'existe actuellement aucune solution vraiment satisfaisante. De même, les polymères tels que les acides polyglycoliques, polylactiques et polymaléiques constituent des matériaux susceptibles de présenter une bonne biodégradabilité modulable en fonction du temps. Ces caractéristiques en font des matériaux de base pour la réalisation de plaques d'ostéosynthèse biorésorbables évitant les réinterventions chirurgicales d'extraction des plaques actuellement souvent indispensables. Les polymères sont toutefois surtout utilisés en tant que ciment, comme le polyméthacrylate de méthyle pour le scellement des prothèses de la hanche. Les ciments actuellement utilisés ne répondent que partiellement aux exigences de la biocompatibilité telle que définie précédemment. La mise au point de prothèses colonisables par le tissu osseux sans qu'il soit nécessaire de procéder à un scellement (ancrage biologique sur hydroxyapatite par exemple) devrait pouvoir être faite à partir de matériaux ostéoinductifs. L'attachement, l'étalement de l'ostéoblaste à la surface du matériau, la modulation par ce dernier de la croissance des ostéoblastes devraient assurer la biointégration de ceux-ci.

Ainsi, la biocompatibilité des polymères à l'interface ostéoblaste humain/biomatériau osseux comporte deux aspects :

- la biocompatibilité basale qui concerne les fonctions de prolifération cellulaire, l'état de la membrane cellulaire, la sécrétion des protéines cellulaires totales ;

- la biocompatibilité spécifique qui concerne l'ostéoblaste : morphologie, synthèse de protéines spécifiques, récepteurs membranaires spécifiques.

Ces études de biocompatibilité peuvent être actuellement réalisées en expérimentation *in vitro* en réalisant le contact direct du polymère avec les ostéoblastes.

Enfin, il faut souligner que l'étude *in vivo* et *ex vivo* d'un biomatériau après des délais d'implantation variables (aspect histologique, caractéristiques mécaniques du biomatériau, examen du tissu au contact du biomatériau) constitue aussi une part importante des aspects fondamentaux de la recherche en matière de biocompatibilité des polymères.

Biocompatibilité des polymères dans le domaine de l'ophtalmologie

Les principales utilisations des biomatériaux en ophtalmologie concernent la réalisation de prothèses destinées à corriger les déficiences de la vision. Les réalisations les plus spectaculaires dans ce domaine sont les lentilles cornéennes à base de polyméthacrylate de méthyle (lentilles dures) ou de polyhydroxyéthylméthacrylate et de ses copolymères notamment avec la polyvinylpyrrolidone (lentilles souples). Ces lentilles telles que représentées sur la *figure 2* remplissent leur fonction grâce à une perméabilité suffisante à l'oxygène et au gaz carbonique (permettant la respiration de la cornée) et à une stabilité suffisante sur ces lentilles du film de larmes qui est indispensable pour une bonne vision. Cependant, la perméabilité aux gaz de ces lentilles nécessite de les désinfecter quotidiennement, leur encrassement par la formation de dépôts de nature protéique limitant l'extension de leur usage. Des matériaux de perméabilité de plus en plus importante à l'oxygène et au gaz carbonique sont mis en œuvre tels que ceux associant, dans des proportions complexes, des dérivés de la

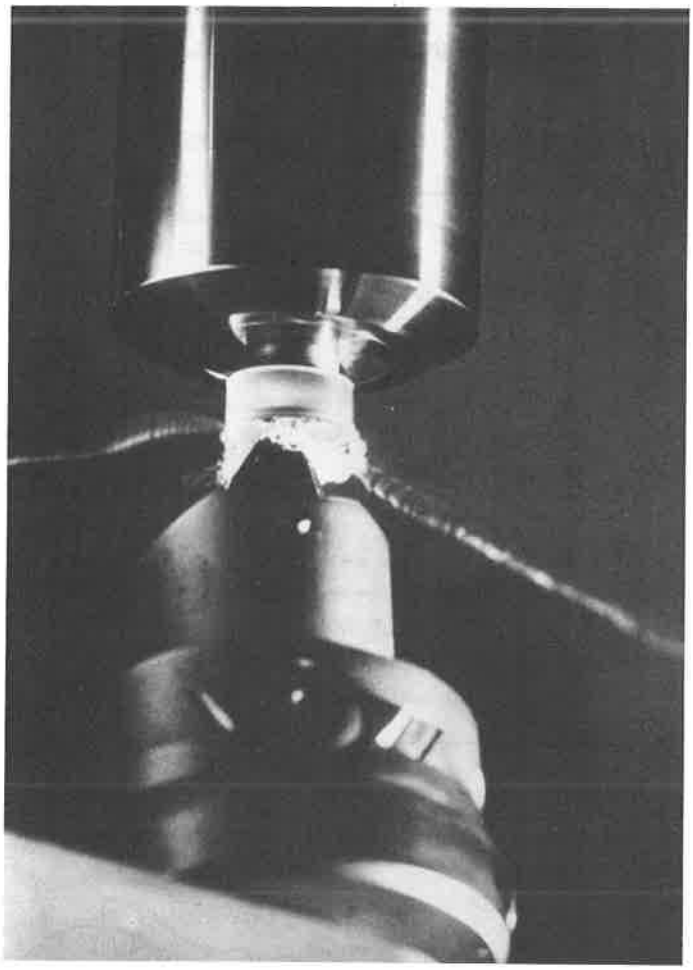


FIGURE 2. - *Lentille de contact : son élaboration.*

cellulose, le silicone et le polyméthacrylate de méthyle pour assurer aussi une bonne solidité. Les possibilités de matériaux biofonctionnels n'ont toutefois été que peu développées jusqu'à présent en raison de la difficulté à entreprendre des études *in vitro* liée, d'une part, à la faible disponibilité des larmes et, d'autre part, à l'absence de modèle biologique représentatif de l'œil. En effet, une bonne connaissance physico-chimique et biochimique de la structuration du film lacrymal sur l'épithélium cornéen est indispensable pour permettre de mieux définir les propriétés de surface nécessaires aux lentilles cornéennes pour améliorer leur biocompatibilité avec le film lacrymal. De même, une meilleure connaissance de la formation du dépôt protéique est indispensable si l'on veut empêcher l'encrassement des lentilles cornéennes en mettant en œuvre des matériaux constitutifs des lentilles « bioactifs », capables d'empêcher la formation du dépôt ou de le détruire une fois formé. Enfin, la mise au point de biomatériaux polymères nouveaux pour remplacer les hydrogels actuellement utilisés est nécessaire, la perméabilité aux gaz et/ou leurs propriétés mécaniques qui assurent la stabilité géométrique des lentilles restant insuffisantes. A côté de ces grandes applications des polymères en ophtalmologie, il faut souligner l'utilisation de polymères pour la réalisation de cristallins artificiels implantés, de gels de polymères remplaçant le corps vitré ou bien la délivrance contrôlée de principes actifs à l'aide de polymères [2]. Enfin, la mise en place d'une lentille en lieu et place de la cornée, constituée de polymères biofonctionnels favorisant la formation d'un nouvel endothélium et d'un nouvel épithélium sur le biomatériau devrait permettre, dans l'avenir, le remplacement des cornées défectueuses par des prothèses implantées aux lieux et places des greffes de cornées humaines actuellement réalisées. Des recherches portant sur les différents types de collagènes sont effectuées en vue de tester le bien fondé de cette démarche. Les collagènes étant présents dans les structures de l'œil, ces composés sont tout à fait adaptés pour éviter toute réaction inflammatoire et immunologique.

Biocompatibilité des polymères dans le domaine cardiovasculaire

Il a été largement montré dans les années passées que les polymères utilisés dans le domaine cardiovasculaire devaient posséder des propriétés d'interaction très particulières avec les tissus constituant le système cardiovasculaire, qu'il s'agisse du sang ou des parois vasculaires.

L'élargissement de cette notion de biocompatibilité des polymères qu'ils soient solubles ou insolubles selon leur usage comporte trois secteurs :

- le plus anciennement étudié, celui de l'étude des interactions des polymères avec les composants de l'hémostase et de la coagulation,

- un secteur étudié depuis une dizaine d'années, celui qui concerne les réactions avec les protéines et les cellules du système immunitaire à l'origine de manifestations pathologiques à court ou long terme lorsque le sang est en contact avec les biomatériaux constitutifs d'un système de suppléance.

- enfin le secteur le plus récent qui élargit le concept de biocompatibilité aux effets sur les cellules. En effet, la tolérance d'une prothèse vasculaire est partiellement conditionnée par sa bonne intégration dans les tissus dans lesquels elle est mise en place. Bien que les mécanismes qui gouvernent les interactions entre la prothèse et ces tissus ne soient pas encore bien connus, il est évident que les interactions entre les biomatériaux et les cellules sont déterminantes.

Le concept de polymères biofonctionnels compatibles avec différents systèmes biologiques est né d'observations relatives aux interactions entre des polymères et les protéines ou cellules, et d'observations cliniques telles que la mise en évidence de l'activation systémique du système du complément (constitué de 19 protéines présentes dans le plasma sanguin) et des globules blancs neutrophiles ou bien encore l'induction de la production d'interleukine 1 par les monocytes lorsque le plasma est en contact avec certaines membranes ou fibres creuses d'hémodialyseurs ou au cours de la circulation extracorporelle du sang en chirurgie cardiaque [3]. D'une façon générale, un polymère biofonctionnel ou biospécifique est porteur de groupements chimiques fonctionnels qui induisent des interactions privilégiées avec des sites spécifiques impliqués dans certaines activités biologiques comme les sites actifs des molécules enzymatiques, les sites de reconnaissance des récepteurs glycoprotéiques membranaires ou encore les sites de la région variable des molécules d'immunoglobulines (idiotypes ou paratopes) impliquées dans la liaison de l'anticorps à l'antigène [4]. Ainsi le concept d'hémocompatibilité longtemps restreint aux protéines de la coagulation à l'interface entre le sang et le polymère hémocompatible s'est élargi aux plaquettes sanguines, aux protéines plasmatiques du complément, aux anticorps et à certaines cellules comme les lymphocytes, les cellules endothéliales vasculaires et capillaires, les cellules musculaires lisses, les fibroblastes.

Interaction des polymères avec les protéines du sang et les tissus constitutifs des vaisseaux impliqués dans l'hémostase.

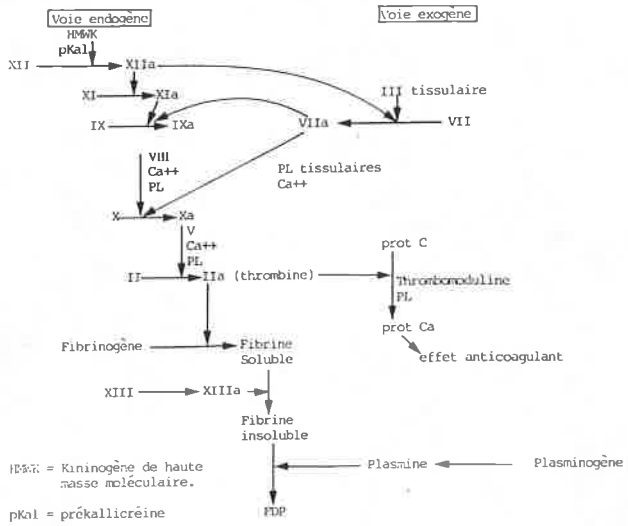
Les données biologiques du problème sont les suivantes. Au

contact du sang avec des surfaces artificielles, des protéines plasmatiques sont adsorbées rapidement sur ces surfaces. Celle-ci peuvent les « passiver » et diminuer les interactions de ces surfaces avec les protéines de la coagulation et les plaquettes. C'est éventuellement le cas, par exemple, de l'albumine, protéine qui se trouve dans le plasma sanguin à une concentration de 40 grammes par litre. D'autres interactions impliquent les protéines dites « adhésives » telles que la fibrine, la fibronectine, la vitronectine, le facteur Willebrand, la thrombospondine qui favorisent l'adhésion des érythrocytes, des plaquettes, des monocytes et des granulocytes aux surfaces artificielles.

Enfin, l'adsorption des facteurs de la coagulation tels que le facteur XII, le kininogène de haute masse moléculaire (HMWK), la prékallicréine entraîne au contraire l'activation du système de la coagulation qui aboutit à la formation du caillot fibrino-plaquettaire (voir *encadré*). Cette activation implique la génération d'enzymes telles que la kallicréine, les facteurs de la coagulation activés, facteurs XIIa, XIa, IXa, Xa, IIa (ce dernier encore dénommé thrombine) et XIIIa dont le rôle est essentiel puisqu'ils sont responsables, entre autres, de l'activation et de l'agrégation des plaquettes, de la polymérisation et de la réticulation de la fibrine, éléments constitutifs principaux, précisément, du caillot fibrino-plaquettaire. La concentration plasmatique de chaque facteur de la coagulation est de l'ordre de 10 mg par litre, à l'exception du fibrinogène dont la concentration plasmatique est d'environ 2,5 g au litre.

Physiologiquement, la coagulation est contrôlée par des inhibi-

Schéma simplifié de la coagulation sanguine



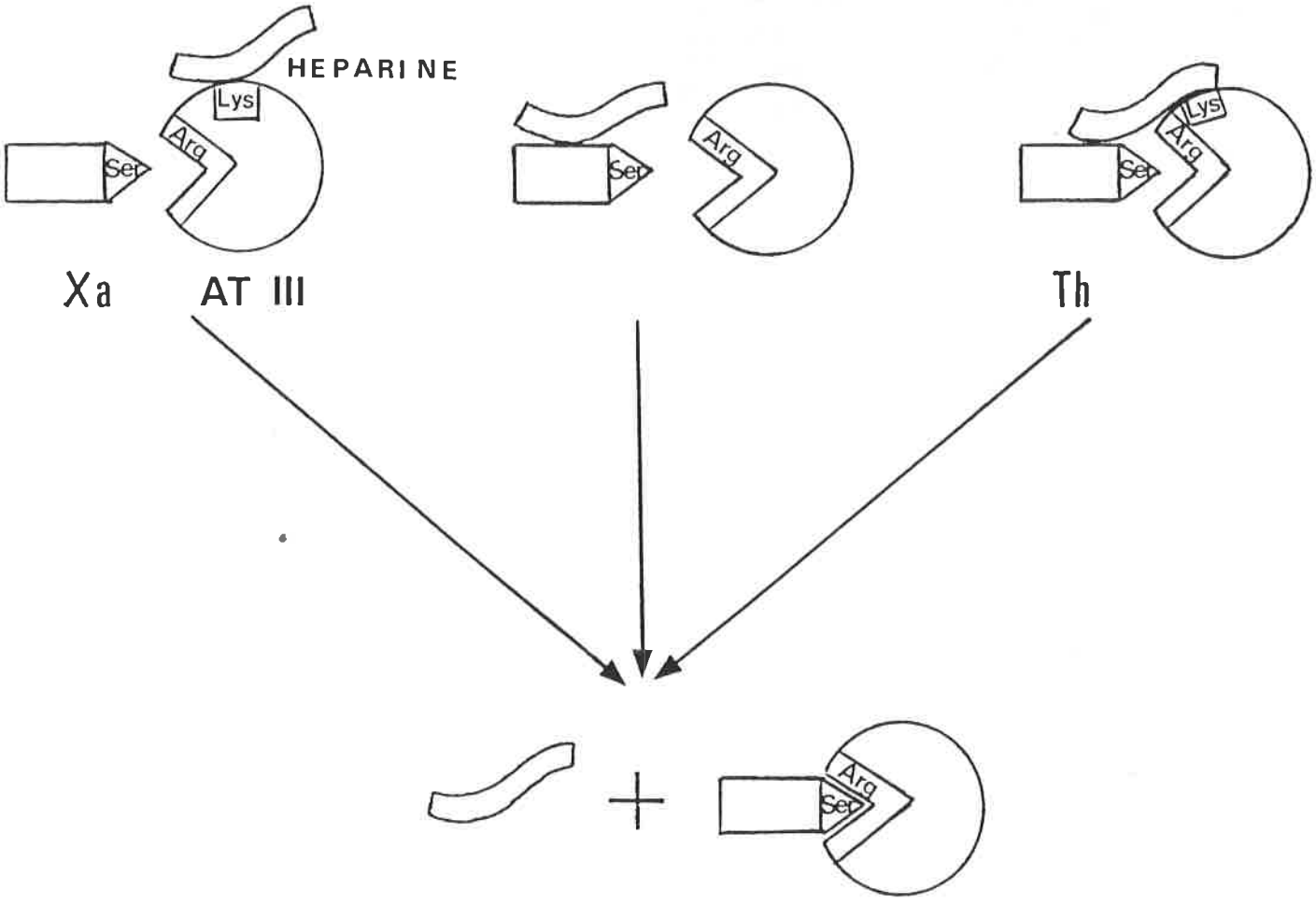


FIGURE 3. - *Effet catalytique de l'héparine sur la vitesse d'inhibition de serine-protéases : le facteur X activé (Xa) ou la thrombine (Th), par leur inhibiteur naturel, l'antithrombine (AT III).*

teurs plasmatiques de la thrombine et du facteur Xa dont le plus connu est l'antithrombine *(figure 3)*. Au cours des dernières décennies, des travaux ont montré que des surfaces de polymères possédant la propriété d'accélérer considérablement la réaction d'inhibition de la thrombine par l'antithrombine, selon un mécanisme de catalyse hétérogène, pouvaient être obtenues en introduisant par liaison covalente sur ces polymères des groupes chimiques de type sulfonate et carboxylique (4) *(figure 4)*. Ces groupes sont assez proches de ceux portés par l'héparine, glycosaminoglycane sulfaté naturel constitué d'une alternance d'acide uronique et de glucosamine diversement substitués *(figure 5)*. Cet anticoagulant naturel, principalement extrait de mucus intestinal, accélère la réaction d'inhibition de la thrombine et du facteur Xa par l'antithrombine selon un mécanisme de catalyse homogène [5].

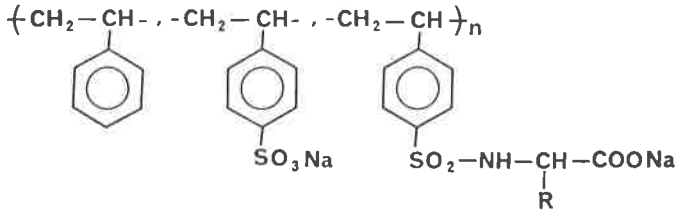


FIGURE 4. - *Structure générale des polystyrènes fonctionnalisés par des fonctions sulfonates et sulfone-amide d'acides aminés.*

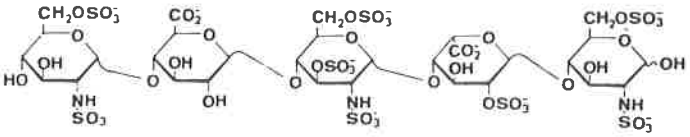


FIGURE 5. - *Structure d'un pentaccharide héparinique de synthèse à haute affinité pour l'antithrombine III.*

Des tubes de polyéthylène ont ainsi été greffés de polystyrène par voie radiochimique sur leur face interne *(figure 6)*. Ils ont alors subi des traitements chimiques pour les fonctionnaliser et se sont avérés être parfaitement anticoagulants [4]. Dans le but d'obtenir des surfaces d'élastomères dotées de propriétés anticoagulantes, des polyuréthanes ont été également, depuis peu, fonctionnalisés en introduisant des fonctions sulfonates [6, 7]. Ces nouveaux matériaux sont en cours d'étude et montrent aussi des propriétés anticoagulantes faisant intervenir une catalyse hétérogène de la réaction d'inhibition de la thrombine et du facteur Xa par l'antithrombine. La synthèse de polysiloxanes biofonctionnels anticoagulants a également été récemment effectuée. Ces derniers polymères présentent un intérêt particulier du fait de leur propriétés mécaniques qui en font de très bons candidats pour un usage biomédical [8]. L'ensemble de ces travaux montre qu'il est possible de préparer un polymère anticoagulant à condition de le fonctionnaliser judicieusement. Il faut penser qu'une nouvelle génération de polymères biofonctionnels est en train de naître.

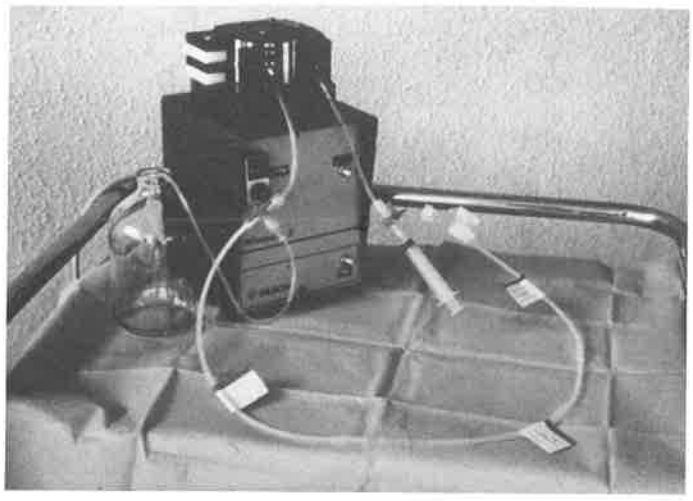


FIGURE 6. - *Schéma du dispositif expérimental utilisé pour évaluer les propriétés anticoagulantes des tubes dont la surface interne a été fonctionnalisée.*

Polymères et système immunitaire

Les études effectuées dans ce domaine sont un exemple de l'extension du concept de « biocompatibilité » vis-à-vis de différents systèmes biologiques.

Le système immunitaire, qui contribue à la défense naturelle et spécifique de l'hôte contre des agents étrangers, implique différents acteurs :

- le système du complément constitué de 19 protéines plasmatiques,

- les anticorps qui sont des immunoglobulines du plasma sanguin reconnaissant spécifiquement des antigènes (substances étrangères solubles ou cellulaires), synthétisés par une sous-population de globules blancs, les lymphocytes B, et apparaissant généralement après l'introduction d'antigènes dans l'organisme,

- les globules blancs du sang impliqués, à des titres divers, dans la défense immunitaire, regroupés sous le terme générique de leucocytes, comprenant des sous-populations telles que les granulocytes, les monocytes et macrophages, les lymphocytes de classes B et T,

- d'autres protéines plasmatiques tels que les interférons, les interleukines, etc.

Les contacts du sang circulant avec les biomatériaux constitutifs des systèmes utilisés en hémodialyse, plasmaphérèse, circulation extracorporelle, contacts uniques ou répétés, brefs ou prolongés, s'accompagnent de réactions de l'organisme à l'origine de manifestations pathologiques. Ainsi, par exemple, l'hémodialyse effectuée sur des membranes ou des fibres creuses de cellulose et l'utilisation de dispositifs de circulation extracorporelle en chirurgie cardiaque provoquent des leucopénies transitoires associées à l'activation du système du complément. De même, des chocs anaphylactoïdes médiés par l'activation du système du complément ont été observés chez des patients recevant des perfusions de substituts de plasma sanguin, généralement constitués de dextrane, de gélatine ou d'hydroxyéthyle amidon, administrés principalement à la suite d'un choc hypovolémique.

De ce fait, des recherches sont entreprises pour améliorer la biocompatibilité des matériaux mis en œuvre dans ce type de systèmes de suppléance fonctionnelle vis-à-vis des systèmes de défense immunitaire. L'activation du complément se produit par des mécanismes différents (voie classique et voie alterne) et peut être modulée par des polymères fonctionnels. L'action de ces derniers fait appel à des mécanismes différents selon que le système « polymère/milieu biologique » est homogène ou hétérogène.

Des études effectuées sur des polymères insolubles tels que le dextrane réticulé, polysaccharide assez proche de la cellulose *(figure 7)*, montrent que la capacité activatrice du complément que possèdent ces matériaux peut être modulée en substituant les polymères par des groupements fonctionnels du type méthylcarboxylique et/ou arylsulfonate [4].

Ainsi, la capacité activatrice du complément présentée par la

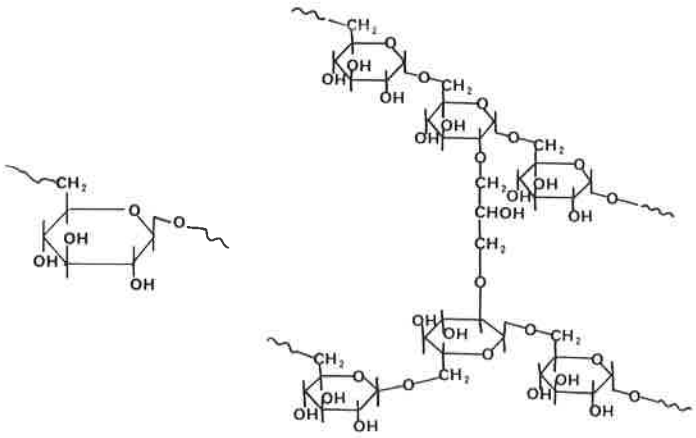


FIGURE 7. - *Structure du dextrane (a) et du dextrane réticulé (b).*

cellulose pourrait être atténuée par la fixation de tels groupes chimiques. Les hémodialyseurs dont environ 80 %, au plan international, sont à base de cellulose pourraient être ainsi modifiés et leur utilisation n'entraînerait plus les effets secondaires actuellement observés qui sont dommageables pour la santé des patients.

Des polymères solubles à base de dextrane ont été fonctionnalisés par les mêmes groupes méthylcarboxyliques et sulfonates *(figure 8)*. Ces dérivés solubles sont très proches, dans leurs diverses propriétés physico-chimiques, des dextranes qui sont largement utilisés comme substituts de plasma sanguin. En modulant le taux des groupes fonctionnels portés par le dextrane, il est possible d'obtenir un produit possédant une très faible activité anticoagulante et, au contraire, une activité d'inhibition de l'activation du complément très élevée [4]. Celle-ci est si élevée qu'il est possible de réaliser des substituts de plasma sanguin sans aucune capacité activatrice du complément, sans pour autant provoquer un risque hémorragique en ajoutant à la gélatine, au dextrane ou à l'hydroxyméthylamidon une faible proportion de ce produit. Cette action anticomplémentaire importante et thrombolytique faible confère à ce dérivé le double avantage de prévenir les chocs anaphylactoïdes liés à l'administration du substitut de plasma sanguin et de traiter les thromboses fréquemment associées aux états de choc des patients auxquels ces substituts sont administrés. D'autres applications de ce dérivé sont possibles.

Notons enfin qu'un intérêt croissant est porté au rôle de l'interleukine 1 (IL-1) et du TNF (tumor necrosis factor), médiateurs synthétisés et libérés par les monocytes activés qui sont en partie responsables de la bioincompatibilité immunologiques des surfaces artificielles. Ainsi, par exemple, la production d'IL-1 par les monocytes est stimulée au cours des séances d'hémodialyse utilisant des membranes ou fibres creuses activatrices du complément.

Les travaux effectués sur l'étude des interactions des polymères fonctionnalisés avec les anticorps permettent d'espérer des applications dans le domaine de l'épuration plasmatique ou bien encore dans celui du diagnostic par les techniques immunologiques. Ainsi, la synthèse de polystyrènes phosphorylés *(figure 9)* a permis de montrer que ces polymères sous forme de résine ont des affinités préférentielles pour les anticorps autoimmuns anti-phospholipides ou anti-ADN développés par les malades atteints de Lupus Erythémateux Disséminés, selon leur taux de substitution en groupements phosphates. Les anticorps reconnaissent ces polymères comme des analogues soit des phospholipides soit de l'ADN. Ces anticorps sont adsorbés sur certaines des ces résines et la liaison implique le fragment porteur des sites d'interaction avec l'antigène (fragment dénommé antigen binding, Fab). A partir de ces résultats, il est possible d'envisager la préparation de résines destinées à l'immunoépuration spécifique.

Les anticorps anti-facteur VIII sont détectés dans le plasma de certains hémophiles A, ayant reçu des injections répétées de facteur VIII, facteur plasmatique indispensable à la coagulation sanguine et dont ces patients sont dépourvus. L'épuration plasmatique, pratiquée si nécessaire, pourrait être réalisée sur des adsorbants sélectifs obtenus en substituant des résines à base de polystyrène par des fonctions sulfonate et sulfamide d'hydroxy-

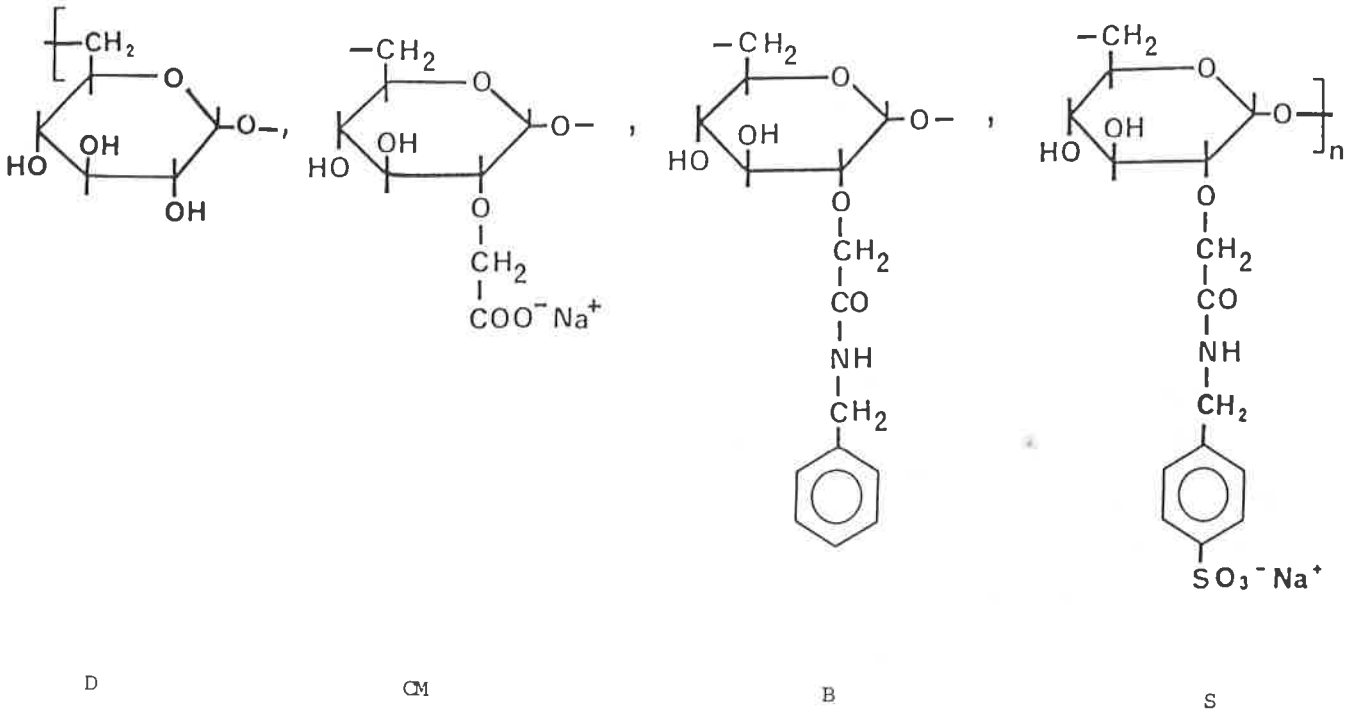


FIGURE 8. - *Famille des dextranes fonctionnalisés. Les unités osidiques sont natives (D) ou bien substituées par la fonction méthylcarboxylique (CM), benzylamide (B) ou benzylamide sulfonate (S). Elles sont statistiquement réparties au hasard le long de la chaîne macromoléculaire.*

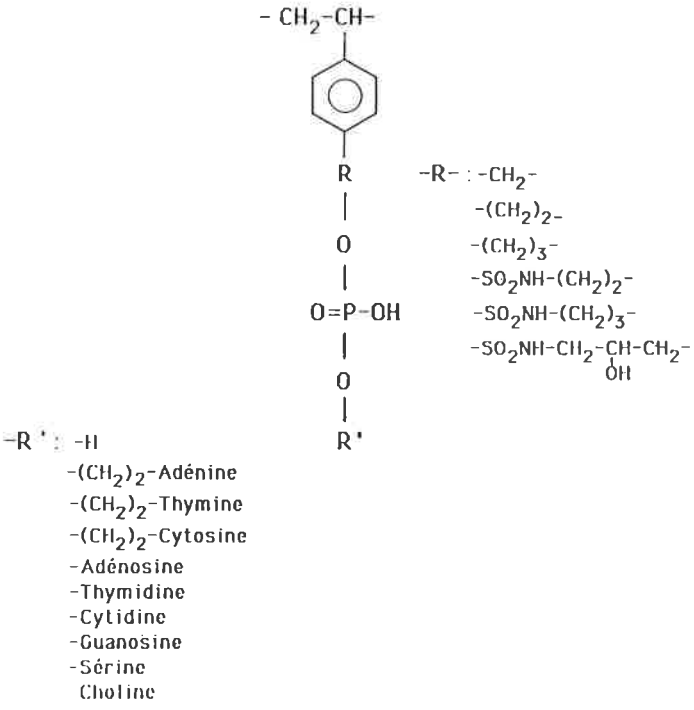


FIGURE 9. - *Résines phosphorylées dérivées du polystyrène.*

proline, par exemple. En effet, ces résines ainsi substituées ont été préparées et sont reconnues par les anticorps anti-facteur VIII. En outre, l'étude de l'adsorption du fragment F(ab')2, préparé par action de la pepsine sur l'anticorps et isolé, montre que l'interaction avec les résines implique bien ce fragment de l'anticorps porteur des sites assurant l'interaction avec les épitopes de l'antigène qui est ici le facteur VIII. La capacité des résines à adsorber les anticorps anti-facteur VIII est assez élevée puisque l'utilisation d'environ soixante grammes de résine (100 ml) conduirait à l'élimination de 90 % des anticorps anti-facteur VIII et seulement 3 à 5 % de la totalité des autres immunoglobulines G, après trois passages successifs de l'ensemble du plasma d'un patient sur une colonne de chromatographie comportant ce type de résines comme phase stationnaire. Ces résines sont aussi anticoagulantes et permettraient, en principe, une épuration plasmatique sans risque au cours de plasmaphérèses thérapeutiques.

Polymères fonctionnels et cellules

Nous avons déjà indiqué que la biocompatibilité des prothèses dépend, pour une grande part, des événements qui surviennent à l'interface tissus biologiques/biomatériau impliquant les cellules constitutives de ces tissus. De ce point de vue, de nombreuses études ont montré que les biomatériaux avaient des effets divers sur les cellules : mobilité, stimulation ou inhibition de la croissance, différenciation, expression phénotytique, variation de la morphologie, adhésion au biomatériau, activité biologique.

Les efforts de recherche portent actuellement sur l'élaboration de polymères dont la biocompatibilité est analysée en fonction de leur utilisation ultérieure (effet souhaitable d'une stimulation ou au contraire d'une inhibition de la croissance cellulaire). D'autres recherches tentent d'analyser les effets de polymères fonctionnalisés, c'est-à-dire de polymères porteurs de fonctions chimiques actives vis-à-vis des cellules. Les études prennent en compte les différents constituants présents dans l'environnement cellulaire : hormones transportées vers leurs cellules cibles par le sang, facteurs de croissance que l'on rencontre dans de nombreux tissus, récepteurs spécifiques (membranaires ou autres), constituants de la matrice extracellulaire.

L'études des interactions des cellules et des polymères insolubles a commencé vers les années 1970 [9]. Les premiers travaux ont montré que la biocompatibilité des polymères est contrôlée par les interactions entre le tissu biologique et le matériau et que la cellule qui joue un rôle primoridal dans la réaction tissulaire est le macrophage [10]. L'examen des interactions des leucocytes avec des biomatériaux de référence, polyuréthanes, polydiméthylsiloxane, polyéthylène de basse densité, montre qu'ils adhèrent plus ou moins à la surface du matériau déclenchant une série de réactions dont l'adhésion et l'étalement cellulaire, la dégranulation, l'exocytose des enzymes du lysosome et la mort des cellules. Ces conclusions entraînent à considérer que la réponse cellulaire vis-à-vis d'un matériau est de première importance pour évaluer sa biocompatibilité.

Parmi les études récentes, celles qui mentionnent que l'adhésion cellulaire est liée à l'adsorption des protéines dites adhésives présentes dans le milieu extracellulaire sont tout à fait intéressantes. Ainsi, par exemple, des copolymères polyméthacrylate d'éthyle-polyméthacrylate d'hydroxyéthyle prétraités avec des immunoglobuline G ou de la fibronectine voient l'adhésion des macrophages favorisée, macrophages qui ont des récepteurs pour ces deux protéines [11]. Parallèlement, d'autres travaux montrent que des hépatocytes de rats adhèrent sur des surfaces de polystyrène greffé de différents oligosaccharides = glucose, maltose, lactose, maltotriose [12]. L'ancrage des hépatocytes à ces surfaces dépend de la reconnaissance par les cellules des oligosaccharides présents à la surface du polymère. D'autres copolymères polyamine-polyméthacrylate d'hydroxyéthyle ont été réalisés pour obtenir un support à microdomaines hydrophobes et hydrophiles. Ces microdomaines favoriseraient des interactions spécifiques avec certaines sous-classes de lymphocytes par l'intermédiaire d'une redistribution des glycoprotéines ou des lipides présents sur la membrane cellulaire [13, 14].

De nombreux résultats montrent que les fonctions méthylcarboxyliques et benzylamides présentes sur des dextranes parfaitement insolubles car réticulés ou sur des dextranes solubles n'entraînent pas les mêmes effets vis-à-vis de certaines cellules. Dans le cas d'une lignée cellulaire tumorale insulinosécrétrice (cellules RINm5F), la présence de ces groupements fonctionnels sur le polymère insoluble favorise l'attachement de ces cellules et se traduit par une activation du processus de sécrétion d'insuline (figure 10 et figure 11) alors que le même polymère soluble n'a aucun effet. A l'inverse, les dextranes solubles fonctionnalisés par ces groupes chimiques et des groupes sulfonates inhibent la

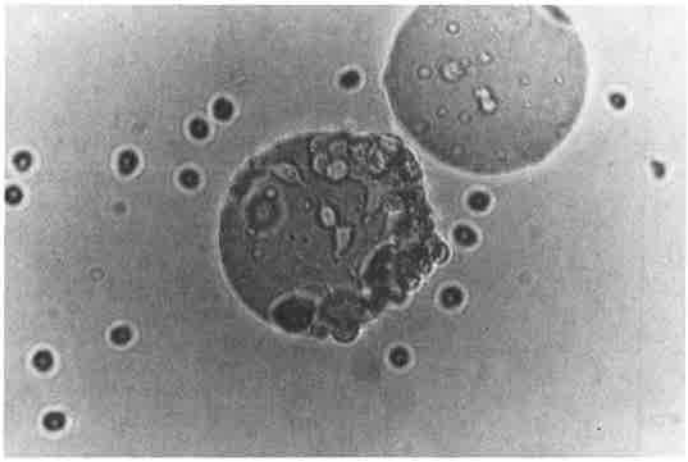


FIGURE 10. - *Cellules RINm5F (cellules pancréatiques tumorales de rats) en présence de microporteurs sphérique fonctionnalisés.*

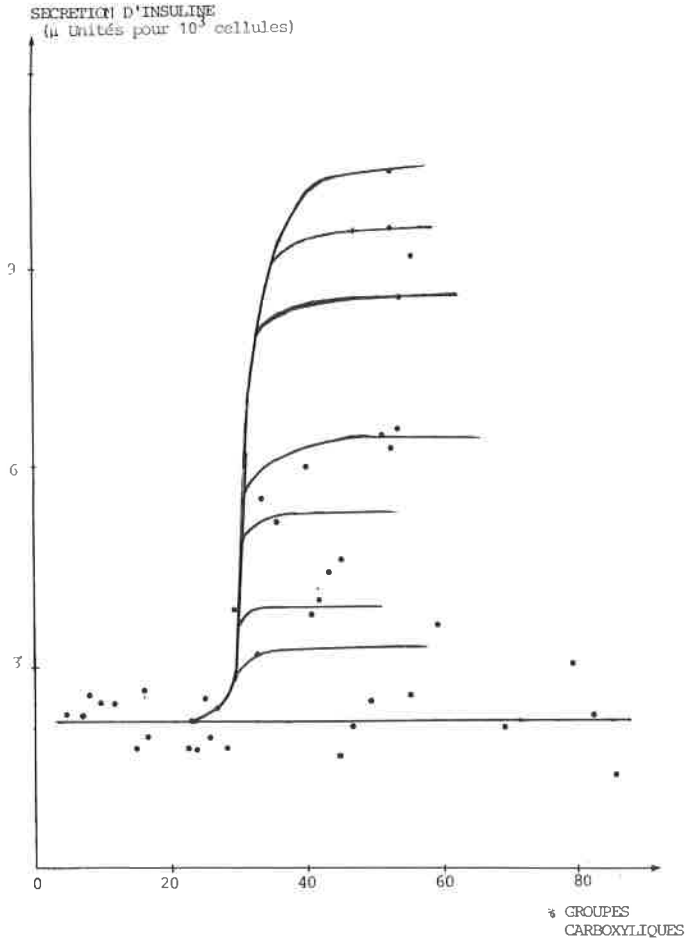


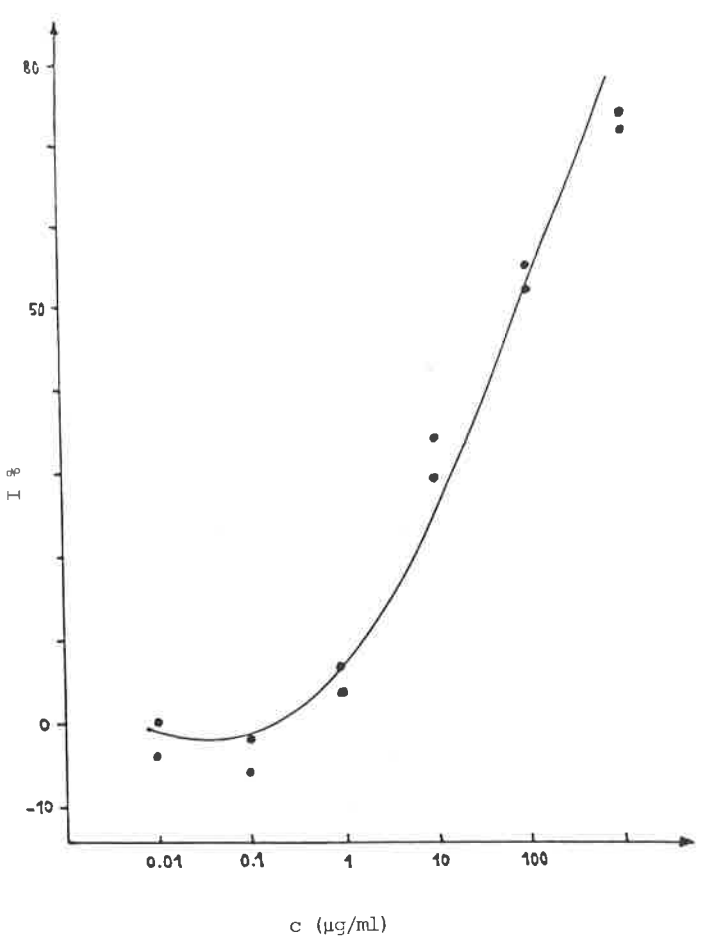
FIGURE 11. - *La sécrétion d'insuline des cellules RINm5F (cellules pancréatiques tumorales de rat), cultivées sur des supports constitués par des dérivés du dextrane réticulé, dépend de la composition chimique de ces dérivés : en-dessous d'un seuil de 30 % de substitution par des groupes carboxyliques, la sécrétion est identique à ce qu'elle est pour des cellules cultivées sur les supports traditionnels des boîtes de culture. En revanche, au-dessus de 30 % de groupes carboxyliques, une importante stimulation de la sécrétion d'insuline est observée qui est fonction de la substitution par des groupes benzylamides également présents sur ces dextranes réticulés. La sécrétion d'insuline est d'autant plus élevée que le pourcentage de benzylamide est plus important (variation de 0 à 40 %), chaque courbe correspond à un ensemble de polymères à taux constant de benzylamide.*

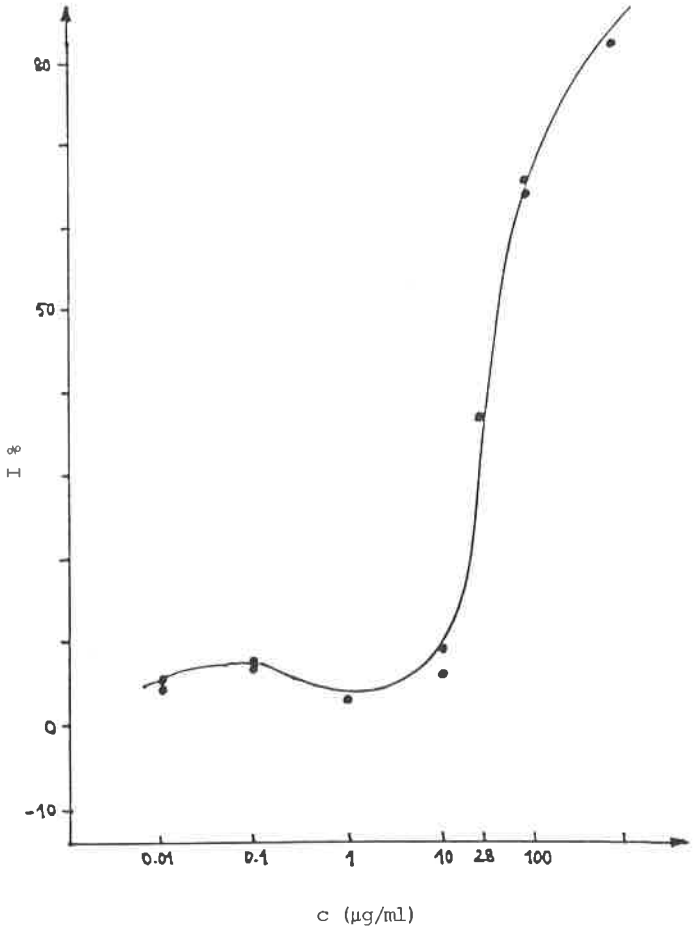
◀

prolifération et la synthèse d'ADN des cellules musculaires lisses d'aorte de rats, alors que les polymères équivalents insolubles ne semblent avoir aucun effet *(figure 12)*. Des observations analogues peuvent être faites sur les cellules endothéliales de la veine de cordon ombilical humain *(figure 13)*. Il semble certain que certains polymères insolubles, sous forme de films ou de microsphères, agissent sur les cellules en impliquant les protéines adhésives telles que la fibronectine. Celle-ci s'adsorbe à la surface des polymères en laissant disponible ou non, selon les fonctions chimiques portées par les polymères, le site d'interaction avec le récepteur membranaire de la cellule, spécifique de la fibronectine. L'affinité globale de cette surface recouverte de fibronectine vis-à-vis de la cellule dépendra en fait de la structure conformationnelle de la fibronectine. Le polymère soluble, quant à lui, peut jouer plusieurs rôles vis-à-vis de la cellule. Il peut entrer en

FIGURE 12. - *Pourcentage d'inhibition (I%) de la croissance des cellules musculaires lisses d'aorte de rats par l'héparine (figure de gauche) et par un dextrane fonctionnalisé (figure de droite).*

▼





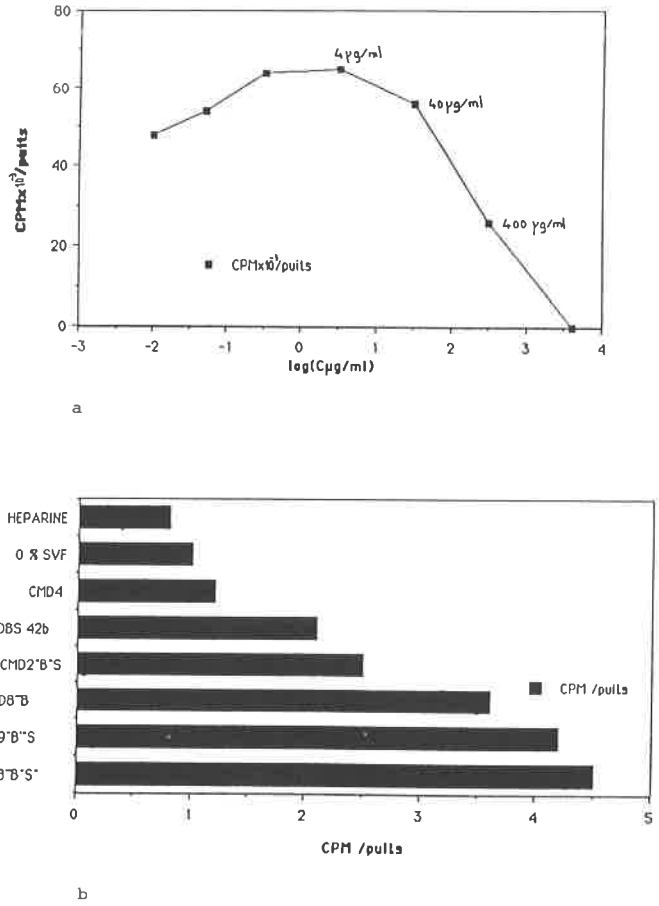


FIGURE 13. - *Modulation de la croissance des cellules endothéliales de la veine du cordon ombilical humain (cellules EVCOH) par des polysaccharides.*

a) Courbe dose-réponse représentant l'incorporation de thymidine tritiée en coups par minute par puits de boîte de culture (CPM/puits) en fonction du logarithme de la concentration d'un dérivé du dextrane fonctionnalisé.

b) Effet sur la stimulation de la croissance des cellules EVCOH de l'héparine et de dextranes diversement substitués par les groupes méthylcarboxyliques (CMD), méthylcarboxyliques et benzylamides (CMDB), méthylcarboxyliques, benzylamides et benzylamide sulfonates (CMDBS). Concentration du dérivé dans le milieu de culture 4 µg/ml ; sérum de veau fœtal (SVF) dans le milieu de culture : 0 %. Témoins : celllules en carence, 0 % SVF.

compétition avec les facteurs de croissance, les hormones ou les glycosaminoglycanes reconnus par la cellule ou secrétés par elle. A l'inverse du polymère insoluble, il peut être internalisé et avoir un effet direct sur l'activité biologique de la cellule. Il peut aussi, comme le polymère insoluble, amplifier l'action d'un facteur de croissance. Les études effectuées dans ce domaine portent souvent sur l'héparine qui stimule la croissance de certaines cellules comme les cellules endothéliales humaines capillaires veineuses ou artérielles. Cette action de l'héparine, dont l'étude est en plein développement, est en relation avec l'angiogenèse et son induction par les facteurs de croissance. Cette effet de l'héparine semble neutralisé par certains stéroïdes. Le fait que cette association bloque également la croissance de certaines cellules tumorales semble en relation avec l'inhibition de la vascularisation autour de la tumeur. Enfin, des résultats récents montrent que des polymères fonctionnels synthétiques, dotés par ailleurs de propriétés biologiques analogues à celles de l'héparine, stimulent également la croissance des fibroblastes (lignée transformée CCL39) en présence de aFGF (acide Fibroblast Growth Factor) et en absence de sérum. Cette action n'est pas liée à l'activité anticoagulante des produits examinés et confirme le fait que le mécanisme fait appel à des sites de la molécule différents de ceux impliqués dans le mécanisme de l'activité anticoagulante de l'héparine.

Les recherches entreprises sur les interactions des polymères et des cellules sont tout à fait prometteuses. Outre qu'elles démontrent que la réponse cellulaire fait partie de l'évaluation de la biocompatibilité d'un matériau, elles mettent en évidence la très grande diversité des effets observés qui varient avec la nature des polymères, d'une part, et le type de cellules, d'autre part. Les recherches, dans ce domaine, permettront de concevoir de nouveaux biomatériaux qui pourront servir de base à la réalisation de prothèses implantables de biocompatibilité améliorée.

Conclusion

Les recherches fondamentales consacrées à la biocompatibilité des matériaux ont permis d'abord de mieux définir cette notion qui est restée longtemps assez vague. Ceci s'est traduit par le fait que de nouvelles définitions de la compatibilité avec le sang, de la biocompatibilité générale on été adoptées lors d'une conférence européenne de consensus à Chester (Royaume-Uni) en 1986 à laquelle participaient également des représentants des chercheurs américains et canadiens [1].

Parmi les grandes classes de polymères disponibles sur le marché, les recherches ont pu aussi orienter le choix de ceux qui étaient les plus adaptés à la réalisation de systèmes destinés aux thérapeutiques substitutives. Par exemple, dans le domaine du cardiovasculaire, les polymères à base de polyuréthanes, de polysiloxanes, de polyamides, de polysaccharides sont ceux qui sont les plus utilisés.

Un autre résultat important de ces recherches a été de démontrer qu'il était possible de préparer simplement des polymères biofonctionnels spécifiques. Ces derniers sont porteurs de substituants spécifiques dont la distribution stérique aléatoire sur la macromolécule est modulée par le degré de substitution. Pour certains taux de substitution, la distribution spatiale de ces groupes chimiques rend possible la formation d'un site plus ou moins complexe et plus ou moins accessible capable d'interagir avec les constituants des systèmes vivants : facteurs de la coagulation sanguine, protéines du complément, anticorps, récepteurs membranaires, facteurs de croissance cellulaire, etc. Cette nouvelle génération de polymères biofonctionnels dont les propriétés vis-à-vis du système vivant sont définies pour telle ou telle application verront, probablement, dans l'avenir un développement important.

Enfin, les recherches qui, au départ, visaient à élaborer des polymères utilisables dans les systèmes de suppléance fonctionnelle ont montré qu'il était possible d'envisager d'autres applications avec ces polymères. Ainsi, par exemple, les études relatives aux cellules débouchent sur la réalisation de polymères qui sont d'excellents modulateurs de la croissance et de l'activité biologique des cellules. Selon leurs propriétés, ils peuvent être utilisés en biotechnologie pour améliorer l'activité biologique de souches cellulaires en réacteur ou en cancérologie lorsque les effets d'inhibition de la croissance des cellules tumorales l'emportent sur ceux de la croissance des cellules saines.

Bibliographie succinte

[1] D.F. Williams, Definitions in Biomaterials ; Progress in Biomedical Engineering, 4 ; Elsevier, Amsterdam, Oxford, New York, Tokyo, **1987**.

[2] Enjeux. *In vivo, In vitro - Approches de la biocompatibilité*, **1986**, 74, 38-87.

[3] M.D. Kazatchkine, M.P. Carreno, Activation of the comple-

ment system at the interface between blood and artificial surfaces, *Biomaterials*, **1988**, *9*, 30-35.
[4] J. Jozefonvicz, M. Jozefowicz, Interactions of biospecific functional polymers with blood proteins and cells, J. Biomater. Sci. Polymer Edn, **1990**, *1*, 1-19.
[5] Heparin Chemical and Biological Properties. Clinical Applications, (D.A. Lane and U. Lindahl, Eds), **1989**, Edward Arnold, London.
[6] J.P. Santerre, N.H. VanderKamp, J.L. Brash, Effect of sulfonation of segmented polyurethanes on the transient adsorption of fibrinogen from plasma : possible correlation with anticoagulant behavior, Transactions of 15 th Annual Meeting, Society for Biomaterials, **1989**, *12*, 113.
[7] T.G. Grasel, S.L. Cooper, Properties and biological interactions of polyurethane anionomers : Effect of sulfonate incorporation. *J. Biomed. Mater. Res.*, **1989**, *23*, 311-338.
[8] G. Hélary, D. Labarre, G. Sauvet, M. Jozefowicz, résultats non publiés.
[9] M. Jozefowicz, J. Jozefonvicz, Polymères fonctionnels et cellules, Organes artificiels hybrides, (C. Baquey, B. Dupuy, Eds), Colloque INSERM, **1989**, *177*, 47-66.
[10] K.M. Miller, J.M. Anderson, Human monocyte/macrophage activation and interleukin 1 generation by biomedical polymers. *J. Biomed. Mat. Res.*, **1988**, *22*, 713-731.
[11] A.J. Lentz, T.A. Horbett, L. Hsu, B.D. Ratner, Rat peritoneal macrophage adhesion to hydroxyethylmethacrylate - ethylmethacrylate copolymers and hydroxystyrene - styrene copolymers. *J. Biomed. Mat. Res.*, **1985**, *19*, 1101-1115.
[12] K. Kobayashi, H. Sumitomo, A. Kobayashi, T. Akaike, Oligosaccharide - carrying styrene type macromers. Polymerization and specific interactions between the polymers and liver cells, *J. Macromol. Sci. Chem.*, **1988,** *25*, (5-7), 655-667.
[13] K. Kataoka, Y. Sakurai, T. Hanaï, A. Maruyama, T. Tsuruta, Immuno-affinity chromatography of lymphocyte subpopulations using tert-amine derived matrices with adsorbed antibodies, *Biomaterials*, **1988**, *9*, 218-224.
[14] Multiphase Biomedical Materials (T. Tsuruta, A. Nakajima, Eds), VSP, Utrecht, The Netherlands, **1989**.