

Écoulements liquidiens et biomatériaux

Dans cette étude, la microtomographie a déterminé la porosité et les caractéristiques micro-architecturales des empilements de biomatériaux. La simulation informatique d'un écoulement liquidien à travers ces empilements a permis de voir l'accessibilité des fluides corporels et des cellules ostéoformatrices et de confirmer qu'elle dépend de la forme et de la disposition 3D des granules au sein d'une pile.

Les biomatériaux sous forme de granules sont employés couramment pour combler les pertes osseuses en chirurgie bucco-dentaire et maxillo-faciale. Cependant, il n'existe pas aujourd'hui de véritable consensus dans la littérature sur le biomatériau idéal et les modalités d'utilisation et de préparation de ces biomatériaux. L'industrie fournit des biomatériaux synthétiques ou naturels de granulométrie variable. Les présentations les plus courantes sont sous forme de gros granules (par exemple, 1000-2000 μm), de petits granules (par exemple, 250-1000 μm) et des formulations en poudre ou en pâte prête à l'emploi avec un agent liant (donnant une consistance similaire à un dentifrice). Des articles concernant ces différentes formes existent dans la littérature mais ils se limitent généralement à quelques cas cliniques, notamment dans les revues d'odontologie. Bien que la nature chimique du biomatériau soit de la plus haute importance pour assurer la cicatrisation osseuse, il est probable que la forme des granules et leur disposition géométrique dans l'espace (3D) dans le site greffé jouent un rôle considérable pour favoriser la colonisation cellulaire [Karageorgiou et coll., 2005].

Lorsque l'on place des granules dans un défaut osseux, les vides entre les granules forment un espace

Lorsque l'on place des granules dans un défaut osseux, les vides entre les granules forment un espace interconnecté.

interconnecté disponible pour que les cellules osseuses envahissent la zone greffée [Carvalho et coll., 2007, Redondo et coll., 1995]. La microtomographie par rayons X (microCT) est un outil de laboratoire puissant pour analyser et mesurer le volume 3D, la porosité et la micro-architecture des empilements de granules *in vitro* [Farber et coll., 2003, Ndiaye et coll., 2015]. L'évaluation au laboratoire des paramètres volumétriques et micro-architecturaux des empilements granulaires est particulièrement importante et permet d'avoir une idée précise de leur futur comportement lorsqu'ils seront greffés en site osseux.

Nous avons précédemment montré que les empilements de granules réalisent une micro-architecture proche de celle de l'os naturel [Arbez et coll., 2019, Arbez et coll., 2018., Chappard et coll., 2015, Ndiaye, Terranova, Mallet, Mabileau and Chappard 2015]. La perméabilité des empilements 3D (obtenus par l'analyse microCT) peut être évaluée au moyen de méthodes numériques de simulations [Ochoa et coll., 2009, Syahrom et coll., 2013]. Des méthodes simulant l'écoulement d'un liquide à travers un objet poreux (et différents paramètres) peuvent être utilisées et calculent, mais aussi visualisent graphiquement la pression, la perméabilité absolue, la tortuosité (c'est-à-dire la complexité du trajet de l'écoulement). Ces méthodes de simulation (Computational fluid dynamics - CFD) ont été largement initiées et décrites en géologie pour connaître les écoulements des liquides (eau et pétrole) à travers les roches et les sables de façon à optimiser les procédés industriels. Nous avons appliqué cette méthode CFD aux empilements de granules de biomatériaux [Chappard et coll., 2020].

AUTEURS

Pr Daniel CHAPPARD

- Doctorats d'État en médecine (1979) et ès sciences en génie biologique et médical (1992)
- Professeur des universités et praticien hospitalier (CHU et faculté de médecine d'Angers)
- Directeur de l'unité Inserm u922 (2003-2012) puis de l'unité de recherche Gerom, groupe d'études sur le remodelage osseux et les biomatériaux (depuis 2012).
- Directeur du LabCom NextBone ANR
- Co-organisateur du DU tissus calcifiés et implantologie dentaire
- Expert auprès des ministères de la recherche autrichien, belge et roumain
- 517 publications (319 indexées sur PubMed h-index = 54)
- Ouvrages : *L'ostéoporose, mieux la connaître pour mieux la traiter* (Wolters Kluwer, 2009), *Tissu osseux et biomatériaux en chirurgie dentaire* (Quintessence, 2014).



Dr Bernard GUILLAUME

- Doctorat d'État en médecine (CHU Saint-Antoine à Paris - 1981)
- CES en stomatologie et chirurgie maxillo-faciale (1983)
- Assistant hospitalier en stomatologie et chirurgie maxillo-faciale
- Qualifié en chirurgie maxillo-faciale (1985)
- DU biomatériaux tissus calcifiés et implantologie dentaire, faculté de médecine d'Angers (1998)
- Membre de l'unité de recherche Gerom, groupe d'études sur le remodelage osseux et les biomatériaux, faculté de médecine (Angers - 2000)
- Président fondateur du Collège français d'implantologie



Dr Jean-Daniel KÛN-DARBOIS

- Chirurgien maxillo-facial, maître de conférences des universités, praticien hospitalier au CHU d'Angers
- Thèse d'exercice et thèse de doctorat d'université au laboratoire Gerom sur le remodelage osseux en pathologie maxillo-faciale
- 35 articles en pathologie maxillo-faciale



Les biomatériaux utilisés

Nous avons utilisé à la fois des matériaux naturels et des matériaux synthétiques. Nous avons donc comparé des granules de :

- allogreffe de tissu osseux humain non décalcifié. Les granules ont été préparés à partir d'une tête fémorale (Osteopure - Ost Development (France) avec un broyeur d'os,
- xélogreffe bovine non décalcifiée. Des granules de Bio-Oss ont été achetés Geistlich Pharma AG (Suisse). L'emballage et la notice indiquent qu'ils sont préparés à partir d'os « spongieux » bovin déprotéinisé,
- xélogreffe bovine non décalcifiée. Des granules de CopiOs ont été achetés directement auprès de Zimmer Dental (Allemagne),
- céramique synthétique β -TCP (phosphate bêta-tricalcique) (TCP Dental HP Kasios). Ils présentent une porosité élevée,
- céramique synthétique β -TCP KeraOs (Keramit La Corogne, Espagne),
- céramique β -TCP 25 % et hydroxyapatite 75 % (TCH - Kasios SAS),
- carbonate de calcium (BioCoral 1000 - Biocoral France, Saint-Gonny, France) préparé en broyant l'exosquelette de corail naturel en granules de 630-1000 μm ,
- poudre sèche contenant 35 % de sulfate de calcium et 65 % de triphosphate de calcium EthOss (Medbone Medical Devices, Sintra, Portugal) pour la greffe osseuse et pour stimuler la régénération osseuse,
- pâte synthétique faite d'hydroxyapatite nanocristalline dans de l'eau stérile Nanostim (Medtronic - France).

Les empilements de granules réalisent une micro-architecture proche de celle de l'os naturel.

À l'exception du corail, tous les matériaux ont été utilisés sous forme de petits granules (250 – 500 microns) et de larges granules (1000 – 2000 microns).

Bien que des granules de bioverres bioactifs (phosphosilicate de calcium et de sodium) soient proposés avec un certain nombre de publications dans la littérature, nous n'avons pas testé ces biomatériaux dans la présente étude. En effet, ils présentent un certain nombre de dangers pour la santé : induction d'une réponse auto-immune (voir la revue de [Subra 2004]), les particules peuvent migrer dans l'organisme et induire une

insuffisance rénale aiguë chez les animaux après implantation dans l'os ou le péritoine [Gorustovich et coll., 2007, Kawanabe et coll., 1992].

La méthode d'analyse utilisée

Tous les granules ont été transférés dans des tubes à essai plastique normalisés et analysés en microCT (appareil Skyscan 1272 – Bruker, Belgique). Nous avons pu ainsi mesurer la porosité, le diamètre moyen des pores et visualiser avec des logiciels de reconstruction d'images 3D la morphologie de ces empilements. La simulation dynamique des écoulements liquidiens à travers des empilements 3D a été réalisée en utilisant le module « Transport Phenomena Simulation » du logiciel VG Studiomax (Volume Graphics GmbH, Heidelberg, Germany).

Dans tous les empilements, on simule la pénétration de liquide de viscosité similaire à celle des liquides extracellulaires et avec une pression constante de 1 Pascal. On visualise le trajet des écoulements à travers l'empilement pour mesurer la perméabilité absolue (en milliDarcy), la tortuosité hydraulique (indice qui mesure la longueur du trajet du flux liquidien à travers l'empilement) et le débit liquidien total (en mm^3/s) à travers l'empilement des granules de biomatériau. Les images produites ressemblent à celles des bulletins météorologiques dans lesquels la trajectoire des vents apparaît sous forme de petites flèches et son intensité est proportionnelle à la couleur d'une table de référence.

Les résultats

Microtomographie

En microCT, EthOss apparaît sous la forme d'une poudre composée de très petites particules minérales tassées et le diamètre des pores entre ces petits granules est très réduit (Fig.1A). Le Nanostim se présente sous forme d'une masse compacte sans porosité clairement définie entre les nanoparticules d'hydroxyapatite. Les pores observés occasionnellement étaient en fait des bulles apparaissant lors de l'extrusion de la pâte de la seringue. Le biomatériau était hétérogène, et les amas de nanoparticules sont agglutinés sous forme de masses blanches et mal délimitées (Fig.1B). Les empilements de petits granules d'une taille <1000 μm ont une porosité moindre que les empilements de gros granules (Fig.1C-D).

Les granules d'os allogénique ou xéno génique donnent des empilements dans lesquels les fragments de travées osseuses sont facilement reconnaissables (Fig.1E-F).

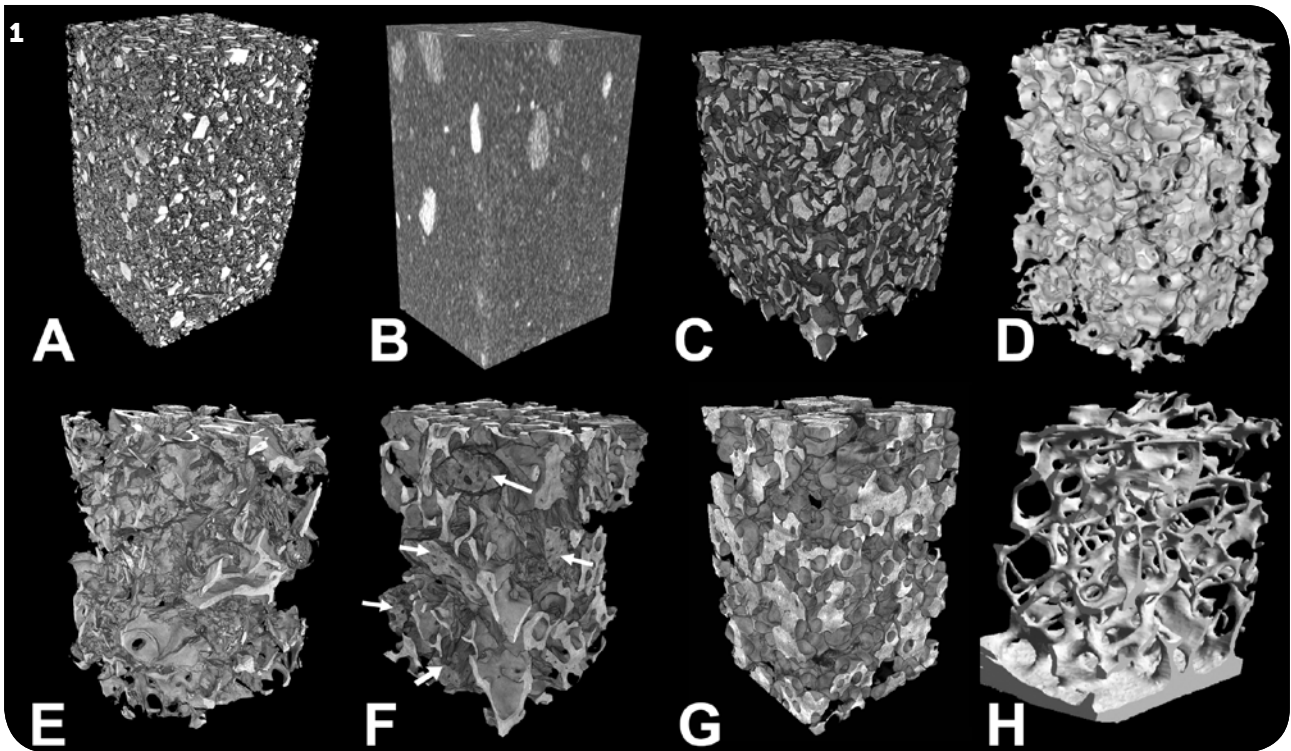


Fig.1 : Analyse microCT de certains biomatériaux utilisés dans ce travail.

A) EthOss est une poudre composée de particules minérales mélangées ensemble à l'état sec, l'adjonction d'eau permet d'obtenir une pâte.

B) Nanostim est une pâte prête à l'emploi composée de nanoparticules d'hydroxyapatite dans de l'eau. La pâte n'apparaît pas homogène et les nanoparticules ont tendance à s'agglomérer dans des zones paraissant blanches en avec des contours imprécis.

C) TCP Dental HP, petits granules très rapprochés.

D) TCP Dental HP en gros granules formant un échafaudage avec une porosité interconnectée ressemblant à la micro-architecture de l'os trabéculaire. Comparer avec les plus petits granules en C.

E) Osteopure composé de gros granules où les travées entières sont clairement identifiées.

F) Bio-Oss est composé d'un mélange de travées et de fragments d'os cortical (flèches) identifiés par leur aspect compact et la présence de canaux haversiens.

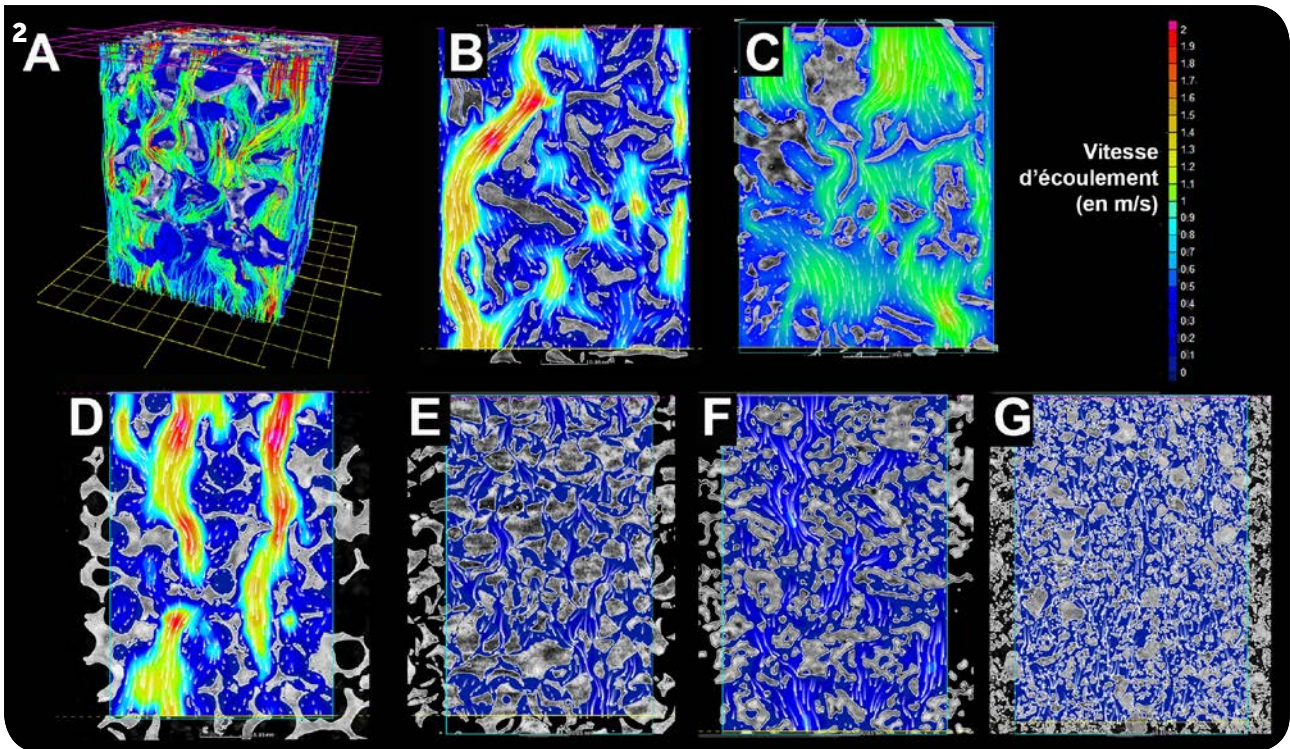
G) KeraOs produisant un échafaudage poreux.

H) par comparaison, le réseau de travées osseuses fixées sur une corticale.

Cependant, le Bio-Oss se présente comme composé d'un mélange d'os trabéculaire et cortical ; ces fragments corticaux sont facilement identifiés par leur plus grande taille et la présence de canaux haversiens (Fig.1F). Les céramiques synthétiques créent des empilements imitant l'architecture de l'os trabéculaire avec une porosité interconnectée (Fig.1D et G). Dans le cas du TCP Dental HP, la porosité interconnectée est clairement mise en évidence tandis que les pores fermés et ronds ont été clairement identifiés dans les KeraOs (Fig.1G). TCH et KeraOs étaient composés de gros granules et présentaient la porosité et le diamètre de pore les plus faibles de ce groupe.

Simulation de la dynamique des fluides

La figure 2 illustre le principe et les résultats de la simulation de la dynamique des fluides appliquée à plusieurs types d'empilements de granules. La Fig.2A illustre les conditions de la simulation : les parois latérales de la zone de mesure sont définies comme des faces imperméables à travers lesquelles le liquide ne peut s'échapper. L'écoulement se fait dans le sens vertical, en partant du plan d'entrée rose vers le plan opposé en jaune qui constitue la face de sortie. La vitesse calculée du fluide est codée par couleur avec une table de correspondance qui était la même pour toutes les analyses. Les lignes d'écoulement du fluide se présentent sous la forme de petites flèches blanches orientées dans le sens du courant.



On voit aisément que les gros granules favorisent la perméation des fluides à travers les empilements (Fig.2B-D) tandis que les petits granules induisent une vitesse réduite et une augmentation de la trajectoire moyenne.

Le Nanostim a été très difficile à étudier avec le logiciel de perméation, car il n'y avait presque pas de porosité dans les échantillons. La perméabilité absolue et le débit sont donc nuls et la tortuosité n'a pas pu être déterminée. Sur la Fig.3A, l'influence de la taille des granules a été mise en évidence sur tous les paramètres. Les piles de petits granules présentaient une perméabilité absolue et un débit significativement plus faibles que les larges granules du même biomatériau ($p < 0,001$). À l'inverse, les voies d'écoulement étaient significativement plus nombreuses car les trajectoires des fluides étaient plus complexes et plus allongées.

Un exemple de corrélation entre les paramètres de la micro-architecture et les paramètres de dynamique des fluides apparaît sur la figure 3B. La perméabilité absolue était significativement corrélée avec la porosité, le diamètre moyen des pores et la surface spécifique. Le débit total était fortement corrélé avec le diamètre moyen des pores et la porosité.

Discussion

Les équations décrivant l'écoulement des fluides incompressibles à travers un milieu poreux ont été décrites

Fig.2 : Simulation de la dynamique des fluides à travers des empilements de différents types de biomatériaux.

- A) Analyse 3D avec le plan d'entrée rose et le plan de sortie jaune parallèles.
- B) Analyse de granules 1000-2000 µm d'Osteopure.
- C) Analyse de granules 1000-2000 µm de CopiOs.
- D) Analyse de granules de TCP Dental HP 1000-2000 µm.
- E) Analyse de granules de TCP Dental HP 250-1000 µm, notez que la vitesse est considérablement réduite et la direction des lignes de courant est plus tortueuse.
- F) Analyse de granules Biocoral, la vitesse est réduite et les trajectoires sont tortueuses.
- G) Analyse de la poudre EthOss. La vitesse est considérablement réduite et les trajectoires des lignes de courant sont rendues très complexes par les nombreuses petites particules qui fragmentent le flux liquidien. La vitesse est codée par couleur selon la table de correspondance de 0 à 2 m/s ; les lignes de courant apparaissent en blanc.

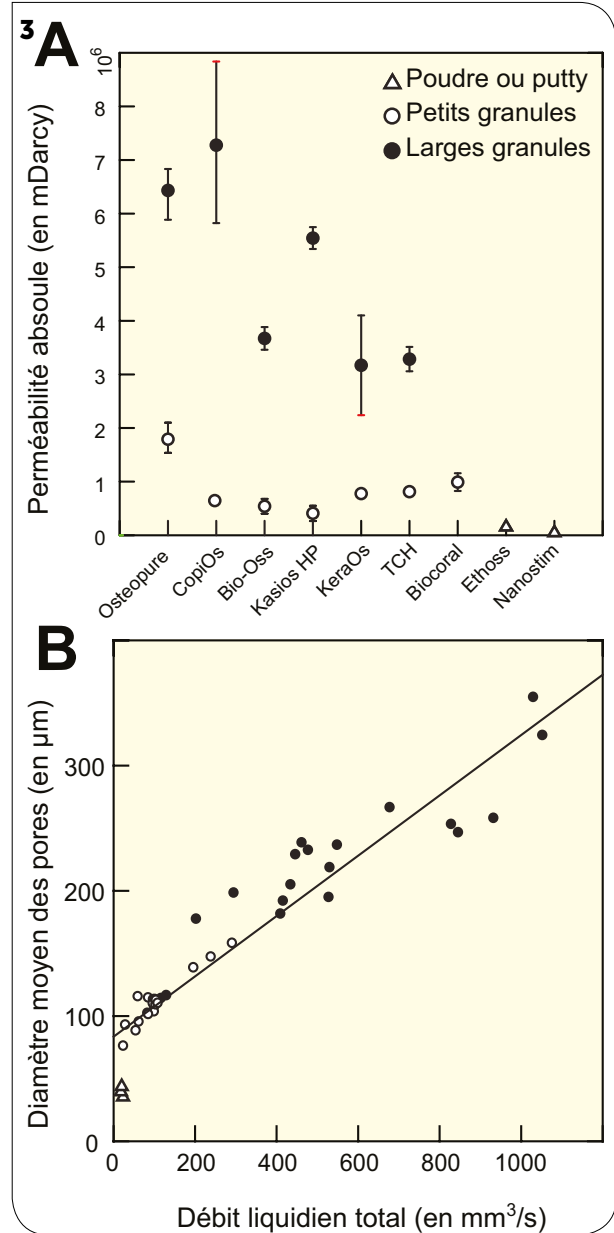
Fig. 3 : A) Analyse statistique de la perméabilité absolue mesurée par simulation informatique d'un écoulement de fluide (CFD) dans divers empilements de granules. B) Relation entre la micro-architecture (diamètre moyen des pores) et les paramètres de la CFD (débit liquidien total). ● granules larges, ○ petits granules, Δ pâte ou biomatériau en poudre.

en 1856 par Henry Philibert Gaspard Darcy. Ce français, ingénieur des ponts et chaussées et hydraulicien a décrit ces mécanismes en étudiant l'adduction d'eau dans sa ville de Dijon [Darcy 1856]. Le mouvement d'un fluide à travers un échantillon poreux dépend de la section transversale de l'échantillon, de la différence de pression, de la longueur du trajet d'écoulement et de la viscosité du fluide concerné ; le fluide s'écoulant de la haute vers la basse pression. Dans la présente étude, les caractéristiques micro-architecturales des différents types de granules ont été analysées par microCT, un outil puissant pour évaluer l'os et les matériaux poreux tels que les mousses, les roches, le pain et d'autres produits alimentaires comme les glaces, le riz soufflé, le pop-corn... [Ho et coll., 2006, Van Dalen et coll., 2014, Voltolini et coll., 2011, Wang et coll., 2011].

On visualise le trajet des écoulements à travers l'empilement pour mesurer la perméabilité absolue.

Dans un article récent, nous avons montré les caractéristiques moléculaires et 3D de neuf biomatériaux commerciaux utilisables pour la greffe osseuse en chirurgie maxillo-faciale [Arbez, Kun-Darbois, Convert, Guillaume, Mercier, Hubert and Chappard 2019, Arbez, Kun-Darbois, Guillaume and Chappard 2018.]. Les empilements de petits granules (250-1000 μm) ont une porosité beaucoup plus faible qu'avec les gros granules (1000-2000 μm) avec des pores plus petits que la taille de 300 μm communément acceptée qui favorise l'invasion vasculaire dans une greffe.

Dans la présente étude, nous avons analysé 15 biomatériaux différents avec une petite ou large granulométrie et avons ajouté deux types de « putty ». Les pâtes non-durcissantes sont décrites dans la



littérature comme étant de bons systèmes pour la greffe osseuse avec le mode d'emploi très pratique [Bohner 2010, Callan et coll., 2000, Neiva et coll., 2008] mais des voix s'élèvent en rapportant des résultats négatifs avec des cas de non-union ou de mauvaise régénération osseuse [Kim et coll., 2012, Kurien et coll., 2013, Lee et coll., 2009]. Les deux produits analysés ici avaient le plus faible diamètre des pores et le Nanostim n'avait pratiquement aucune porosité quantifiable.

La physique du drainage d'un fluide à l'intérieur d'un matériau poreux tel que la roche ou le sable est expliquée par la théorie de la percolation d'invasion [Berkowitz et coll., 1998].

La simulation de la dynamique des fluides - CFD est une méthode récemment développée, utilisée pour l'évaluation de la perméabilité des matériaux poreux comme dans les études d'exploration réalisées par l'industrie pétrolière et gazière et le drainage des eaux pour les sols [Bourbie et coll., 1985, Hilpert et coll., 2001]. Pour les tissus ou biomatériaux biologiques, la perméabilité reflète la quantité de liquide extracellulaire qui peut pénétrer et diffuser au travers en apportant aussi les cellules ostéoprogénitrices. Une structure perméable est capable de laisser diffuser des nutriments et de l'oxygène à travers ses pores interconnectés.

À notre connaissance, cette étude est la première simulation du drainage des fluides biologiques à travers des empilements de matériaux granulaires utilisables pour la greffe osseuse par CFD. Tous les granules de large taille sont utilisés pour remplir l'espace 3D, donnent ainsi des échafaudages virtuels qui imitent ce qui se passe lorsqu'un chirurgien remplit une cavité osseuse [Guillaume 2017, Ndiaye, Teranova, Mallet, Mabillean and Chappard 2015]. Les empilements de larges granules présentaient ici les valeurs les plus élevées de perméabilité absolue et de débit total. Les deux « putty » avaient des valeurs proches de zéro ou égales à zéro, ce qui indique que l'accès des fluides à l'intérieur de la zone greffée avec ces produits sera considérablement réduit, voire nul. Dans une étude préliminaire chez le lapin, nous avons montré que le même matériau permettait une colonisation des cellules jusqu'au cœur de la zone greffée lorsqu'il était employé sous forme granulaire alors que l'utilisation sous forme de pâte aboutissait à une absence de régénération osseuse (Fig.4).

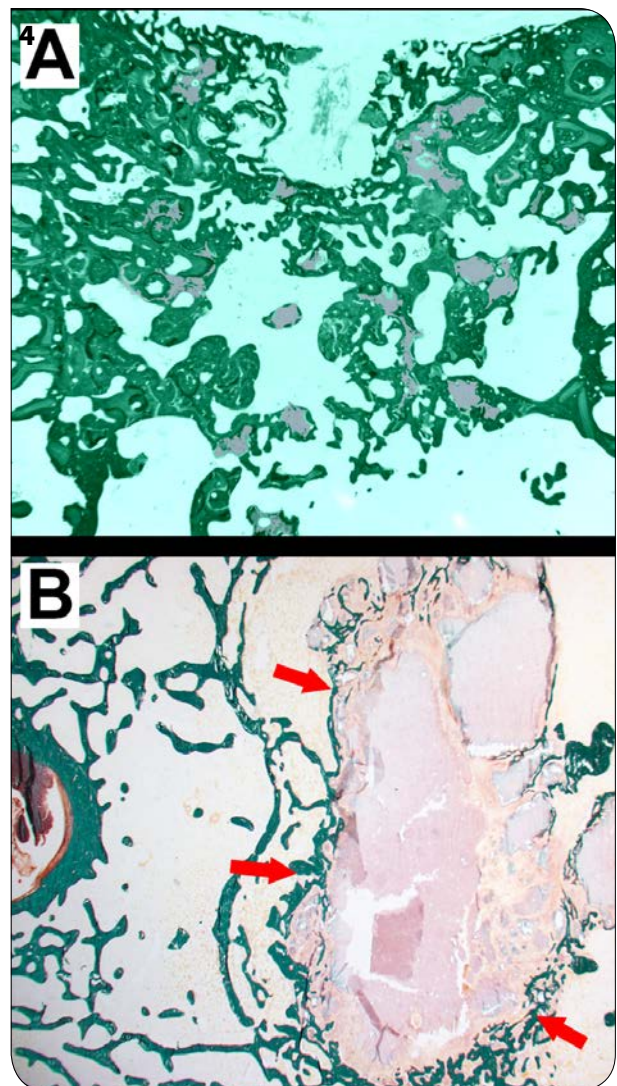
Les études CFD ont montré que la perméabilité absolue et le débit sont corrélés positivement avec la porosité et le diamètre moyen des pores. Il faut noter que la présence de fragments d'os cortical mélangés à des granules d'os trabéculaire dans le BioOss modifie de manière significative la dynamique des fluides en créant des trajectoires hétérogènes et sinueuses. La tortuosité

La tortuosité hydraulique est un paramètre lié à la micro-architecture qui mesure la complexité des chemins qu'un liquide suit à travers une porosité interconnectée.

Fig. 4 : Comparaison histologique de deux trous de forage réalisés dans le condyle fémoral chez l'animal (lapin) et comblé par le même biomatériau (β -TCP).

A) Trou de forage comblé par des granules (TCP Dental HP) ; le tissu osseux apparaît en vert, les reliquats des granules ostéo-intégrés apparaissent en rosâtre. Notez que des néo-travées osseuses recouvrent les granules de biomatériau et s'insinuent entre eux.

B) Trou de forage comblé par du β -TCP sous forme de *putty*. La masse d'injection apparaît clairement visible en rose ; notez la prolifération de fines travées osseuses de mauvaise qualité qui encerclent la zone greffée. Il n'y a pas de pénétration du tissu osseux entre ces amas de pâte injectée chez l'animal. Dans les deux cas, la durée d'implantation a été de deux mois.



hydraulique est un paramètre lié à la micro-architecture qui mesure la complexité des chemins qu'un liquide suit à travers une porosité interconnectée. Comme prévu, la tortuosité a été nettement augmentée avec les petits granules et impossible à calculer pour Nanostim.

Conclusion

Dans le cadre des comblements de cavités osseuses de petite taille, il convient d'utiliser des matériaux synthétiques sous forme de granules de large taille. Il ne faut pas comprimer ces granules ni les écraser lors de la mise en place. L'utilisation de formes pâtes ou « putty » doit être proscrite. L'indication chirurgicale en parodontologie, chirurgie buccale et pré-implantaire fait désormais appel couramment aux biomatériaux se substituant aux greffes d'os autologues. La technique de placement des

biomatériaux dans le site déficitaire influe de façon significative sur l'évolution d'une régénération osseuse complète. Les comblements effectués avec un tassement compact nuisent au remodelage cicatriciel [Guillaume 2017].

Il est essentiel de permettre aux éléments constitutifs de la matrice osseuse (cellules ostéoformatrices, néovascularisation) de croître et d'envahir le produit comblant la zone de greffe. L'apport d'un biomatériau ayant, de par sa constitution, une grande porosité facilite cette migration. À l'inverse, il est fréquemment constaté cliniquement l'absence d'une régénération complète en cas de comblement initial fortement tassé par un biomatériau de faible porosité et petit calibre se présentant comme une structure amorphe sans densité. #

BIBLIOGRAPHIE

- Arbez B., Kün-Darbois J.D., Convert T., Guillaume B., Mercier P., Hubert L., Chappard D. : « Biomaterial granules used for filling bone defects constitute 3D scaffolds: porosity, micro-architecture and molecular composition analyzed by microCT and Raman microspectroscopy ». *J. Biomed. Mater. Res. B Appl. Biomater.*, 2019; 107B: 415-423.
- Arbez B., Kün-Darbois J.D., Guillaume B., Chappard D. : « Les granules de biomatériaux de comblement réalisent des empilements 3D poreux. Étude de leur micro-architecture et de leur composition moléculaire. ». *Dentoscope*, 2018.; 200: 36-42.
- Berkowitz B., Ewing R.P. : « Percolation theory and network modeling applications in soil physics ». *Surv. Geophys.*, 1998; 19: 23-72.
- Bohner M. : « Design of ceramic-based cements and putties for bone graft substitution. ». *Eur Cell Mater*, 2010; 20: 3-10.
- Bourbie T., Zinszner B. : « Hydraulic and acoustic properties as a function of porosity in Fontainebleau sandstone ». *J. Geophys. Res. Solid Earth*, 1985; 90: 11524-11532.
- Callan D.P., Salkeld S.L., Scarborough N.J.I.D. : « Histologic analysis of implant sites after grafting with demineralized bone matrix putty and sheets ». *J. Implant Dent.*, 2000; 9: 36-44.
- Carvalho A.L., Faria P. E., Grisi M.F., Souza S.L., Taba M.J., Palioto D.B., Novaes A.B., Fraga A.F., Ozyegin L.S., Oktar F.N., Salata L.A. : « Effects of granule size on the osteoconductivity of bovine and synthetic hydroxyapatite: a histologic and histometric study in dogs ». *J. Oral Implant.*, 2007; 33: 267-276.
- Chappard D., Kün-Darbois J.D., Guillaume B. : « Computational fluid dynamics simulation applied to microCT stacks of commercial biomaterials usable for bone grafting. ». *Micron*, 2020: DOI: 10.1016/j.micron.2020.102861.
- Chappard D., Terranova L., Mallet R., Mercier P. : « 3D Porous Architecture of Stacks of beta-TCP Granules Compared with That of Trabecular Bone: A microCT, Vector Analysis, and Compression Study ». *Front. Endocrinol.*, 2015; 6: 161.
- Darcy H. : « Les fontaines publiques de la ville de Dijon : Exposition et application des principes à suivre et des formules à employer dans les questions de distribution d'eau. », Victor Dalmont, Paris,(1856).

- Farber L., Tardos G., Michaels J.N. : « Use of X-ray tomography to study the porosity and morphology of granules ». *Powder Technol.*, 2003; 132: 57-63.
- Gorustovich A.A., Monserrat A.J., Guglielmotti M.B., Cabrini R. : « Effects of intraosseous implantation of silica-based bioactive glass particles on rat kidney under experimental renal failure ». *J. Biomater. Appl.*, 2007; 21: 431-442. Guillaume B. : « Filling bone defects with beta-TCP in maxillofacial surgery: A review ». *Morphologie*, 2017; 101: 113-119.
- Hilpert M., Miller C. : « Pore-morphology-based simulation of drainage in totally wetting porous media ». *Adv. Water Res.*, 2001; 24: 243-255.
- Ho S.T., Hutmacher D. W. : « A comparison of micro CT with other techniques used in the characterization of scaffolds ». *Biomaterials*, 2006; 27: 1362-1376.
- Karageorgiou V., Kaplan D. : « Porosity of 3D biomaterial scaffolds and osteogenesis ». *Biomaterials*, 2005; 26: 5474-5491.
- Kawanabe K., Yamamuro T., Kotani S., Nakamura T. : « Acute nephrotoxicity as an adverse effect after intraperitoneal injection of massive amounts of bioactive ceramic powders in mice and rats ». *J. Biomed. Mater. Res. - Part A*, 1992; 26: 209-219.
- Kim D.M., Nevins M., Camelo M., Nevins M.L., Schupbach P., Rodrigues V.S., Fiorellini J.P. : « Human histologic evaluation of the use of the dental putty for bone formation in the maxillary sinus: case series ». *J. Oral Implantol.*, 2012; 38: 391-398.
- Kurien T., Pearson R.G., Scammell B.E. : « Bone graft substitutes currently available in orthopaedic practice: the evidence for their use ». *Bone Joint J.*, 2013; 95-B: 583-597.
- Lee S.S., Jang J.H., Kim K.S., Yoo Y. J., Kim Y.S., Lee S.K. : « Failure of bone regeneration after demineralized bone matrix allograft in human maxillary sinus floor elevation. ». *Bas. Appl. Pathol.*, 2009; 2: 125-130.
- Ndiaye M., Terranova L., Mallet R., Mabilleanu G., Chappard D. : « Three-dimensional arrangement of beta-tricalcium phosphate granules evaluated by micro-computed tomography and fractal analysis ». *Acta Biomater.*, 2015; 11: 404-411.
- Neiva R.F., Tsao Y.P., Eber R., Shotwell J., Bily E., Wang H.L. : « Effects of a putty-form hydroxyapatite matrix combined with the synthetic cell-binding peptide P-15 on alveolar ridge preservation ». *J. Periodontol.*, 2008; 79: 291-299.
- Ochoa I., Sanz-Herrera J.A., Garcia-Aznar J.M., Doblare M., Yunos D.M., Boccaccini A.R. : « Permeability evaluation of 45S5 Bioglass-based scaffolds for bone tissue engineering ». *J. Biomech.*, 2009; 42: 257-260.
- Redondo L.M., García Cantera J.M., Hernández A.V., Puerta C.V. : « Effect of particulate porous hydroxyapatite on osteoinduction of demineralized bone autografts in experimental reconstruction of the rat mandible ». *Int. J. Oral Maxillofac. Surg.*, 1995; 24: 445-448.
- Subra J.-F.J. : « Silice et auto-immunité ». *Rev. Franc. Lab.*, 2004; 2004: 23-25.
- Syahrom A., Abdul Kadir M.R., Abdullah J., Ochsner A. : « Permeability studies of artificial and natural cancellous bone structures ». *Med. Eng. Phys.*, 2013; 35: 792-799.
- Van Dalen G., Koster M., Hazekamp J. : « Freeze-fixation of bubbles for micro-CT imaging of liquid aerated food emulsions. ». *Brucker micro-CT user meeting.*, 2014: en ligne.
- Voltoni M., Zandomenighi D., Mancini L., Polacci M. : « Texture analysis of volcanic rock samples: Quantitative study of crystals and vesicles shape preferred orientation from X-ray microtomography data ». *J. Volcanol. Geotherm. Res.*, 2011; 202: 83-95.
- Wang S., Austin P., Bell S.J.J.O.C.S. : « It's a maze: the pore structure of bread crumbs ». 2011; 54: 203-210.