

# Physico-chimie du minéral osseux et conséquences biologiques

C. Rey, C. Combes

**Université de Toulouse, INPT, UPS, CNRS,  
CIRIMAT, Toulouse, France**

[christian.rey@ensiacet.fr](mailto:christian.rey@ensiacet.fr)

## Contenu

- Composition, caractéristiques physiques et chimiques du minéral osseux
- Les environnements non-apatitiques
- La réactivité des apatites nanocristallines
- Quelques propriétés
  - Maturation
  - Echange ionique
  - Adsorption
  - Dissolution
- Conclusion et conséquences biologiques

## Composition du tissu osseux

3 Domaines : minéral, organique (MO), solution (bone fluid, BF)

- Calcium ( $\text{Ca}^{2+}$ )      minéral : 25,4 % (os sec) soit 99% du Ca de l'organisme  
                                  MO : sels organiques insolubles, complexes  
                                  BF : calcium libre, complexes solubles (albumine, citrate...), paires d'ions
- Phosphore ( $\text{P}^{+V}$ )      minéral : 11,6% (os sec), soit 85% du P de l'organisme  
                                  orthophosphate :  $\text{PO}_4^{3-}$  et  $\text{HPO}_4^{2-}$   
                                  MO : phospholipides, phosphoprotéines, ...  
                                  BF : orthophosphates libres, essentiellement  $\text{HPO}_4^{2-}$  et  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$ , pyrophosphates, paires d'ions
- Carbonate ( $\text{C}^{+IV}$ )      minéral : 2 à plus de 10% (os sec)  
                                   $\text{CO}_3^{2-}$ , ( $\text{HCO}_3^-$  ?) ;  
                                  BF :  $\text{HCO}_3^-$ , paires d'ions,

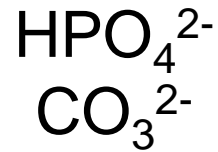
## Composition du tissu osseux

- Sodium ( $\text{Na}^+$ )      minéral : 0,53 % (os sec)  
BF :  $\text{Na}^+$  ( $\text{Cl}^-$ )
- Magnésium ( $\text{Mg}^{2+}$ ) minéral : 0,269 % (os sec) soit 45 % du Mg de l'organisme  
associations MO (sels, complexes)  
BF : magnésium libre, complexes solubles, paires d'ions
- Fluor ( $\text{F}^-$ )      minéral : 390 ppm (os sec)
- Silicium ( $\text{Si}^{+IV}$ )      associations MO
- Zinc ( $\text{Zn}^{2+}$ )      205 ppm (os sec)  
minéral et associations MO

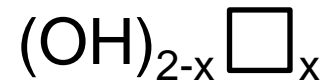
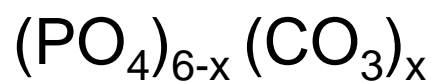
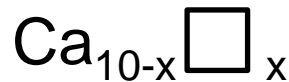
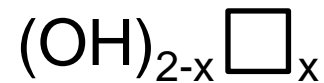
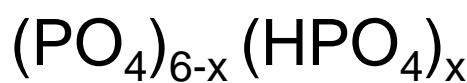
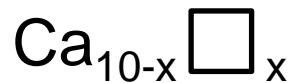
Forte variabilité pour de nombreux éléments trace

## Structure apatitique

Hydroxyapatite :



lacune



avec  $0 < x < 2$

## Formule chimique des apatites biologiques



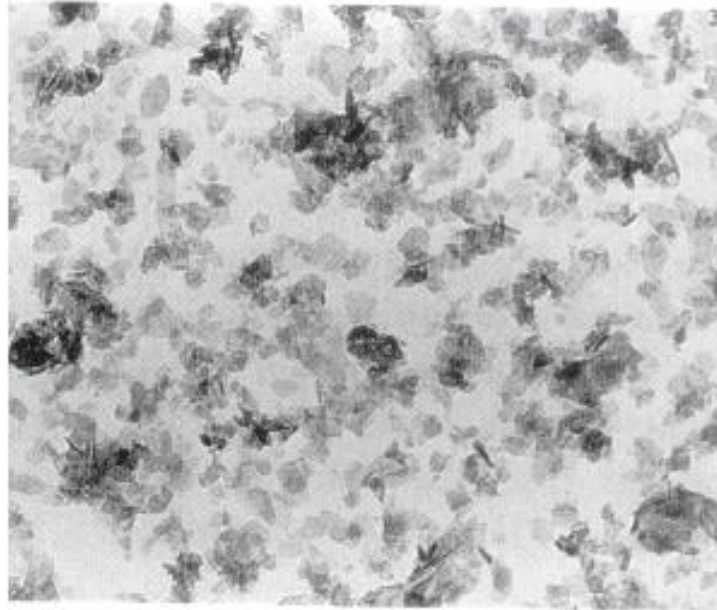
### Os Humain (composition moyenne)



- Taux de lacunes élevé
- Peu de OH<sup>-</sup> (pas réellement une hydroxyapatite)
- Le taux de carbonate varie suivant les espèces, l'âge, le type d'os (le carbonate est, dans tous les cas, le troisième ion par ordre d'importance (carbonate-apatite))

## Les cristaux

- Nanométriques, distributions irrégulières, légère augmentation de la taille avec l'âge
- Plaquettes irrégulières (forme inhabituelle pour une apatite)



Os de vache (4 ans)

## Les environnements non-apatitiques

- Ordre à longue distance : méthodes de diffraction

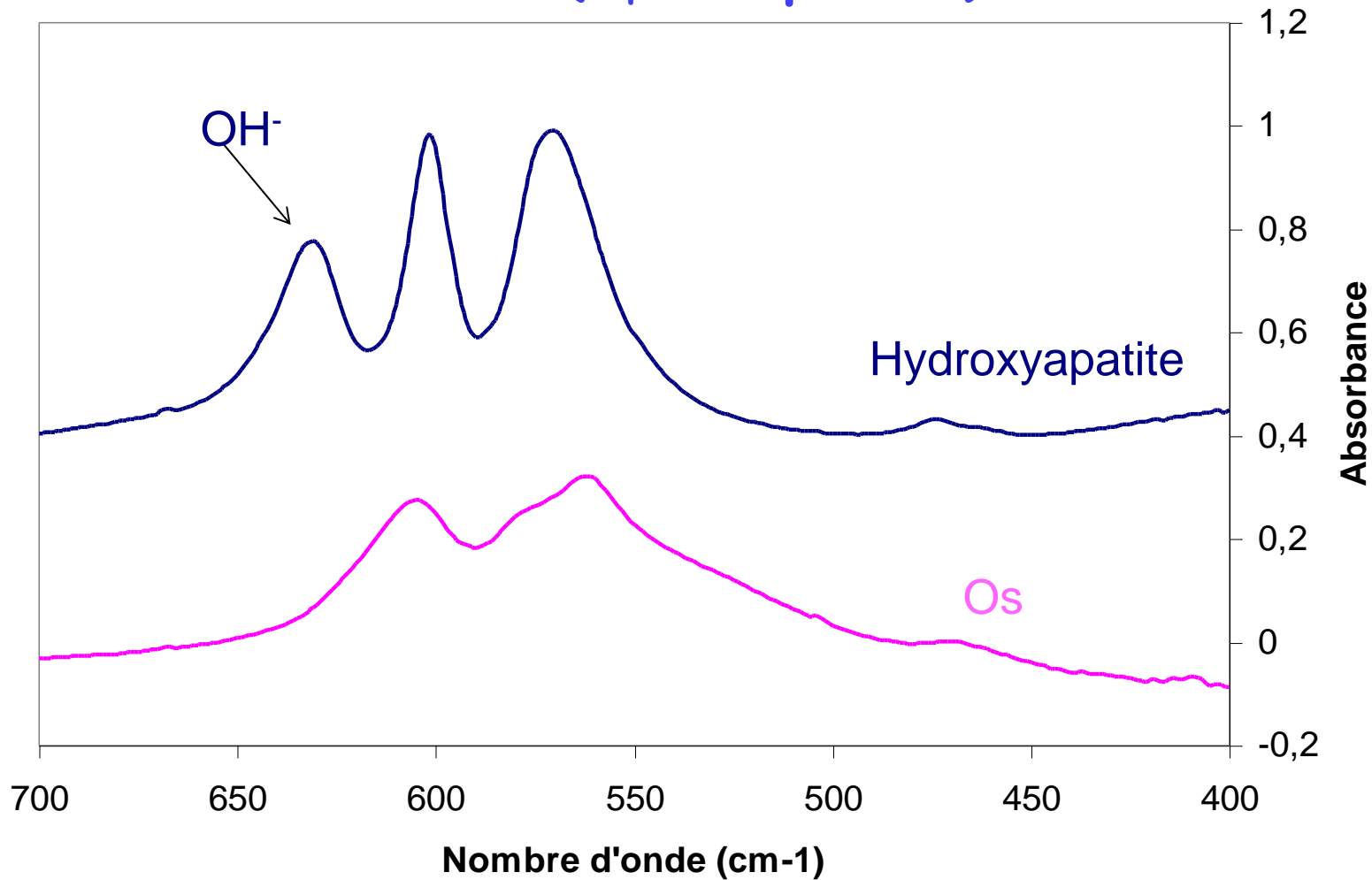
**Ces méthodes montrent généralement une seule phase : l'apatite**

- Ordre à courte distance : méthodes spectroscopiques essentiellement
  - Spectroscopies vibrationnelles
    - FTIR
    - diffusion Raman
  - Résonance magnétique nucléaire
    - RMN du solide
  - Autres méthodes (RPE, XANES, EXAFS...)

**Toutes ces méthodes confirment l'existence d'environnements des ions minéraux différents de ceux d'une apatite**



## FTIR ( $\nu_4$ Phosphates)



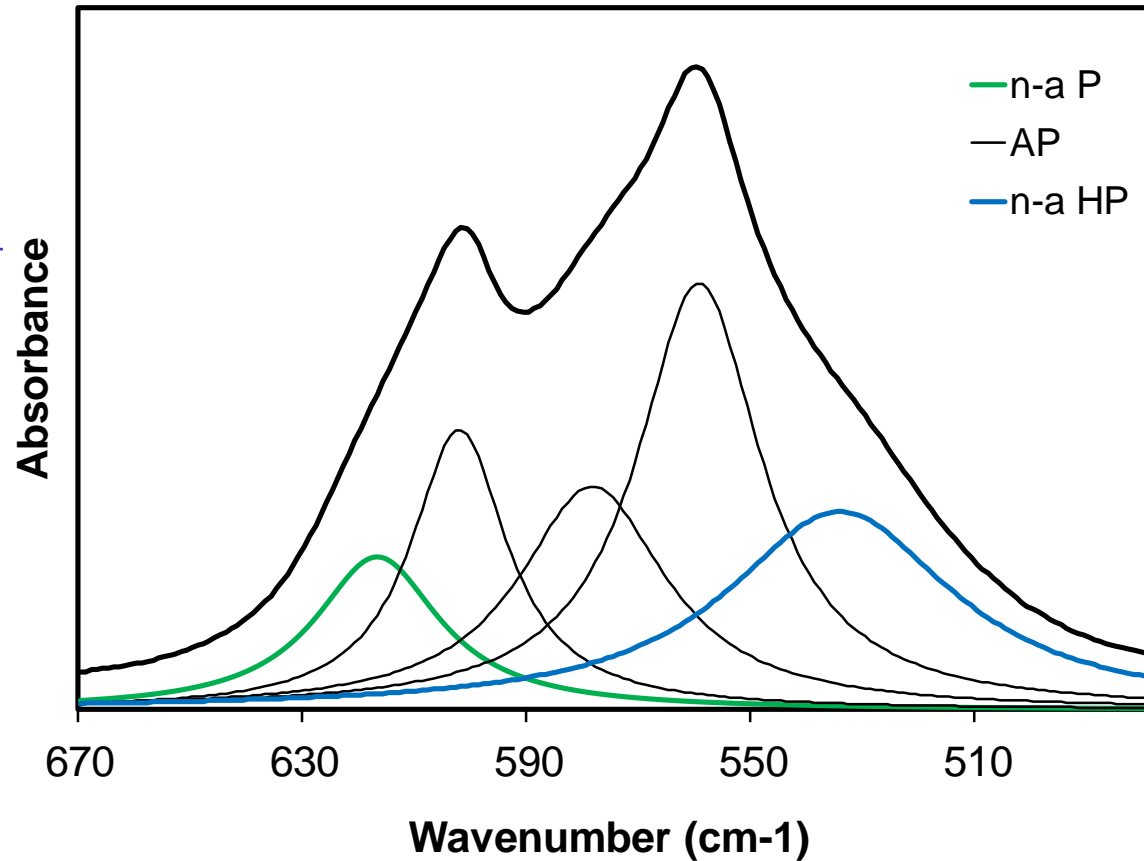
## FTIR ( $\nu_4$ Phosphates)

Décomposition spectrale :

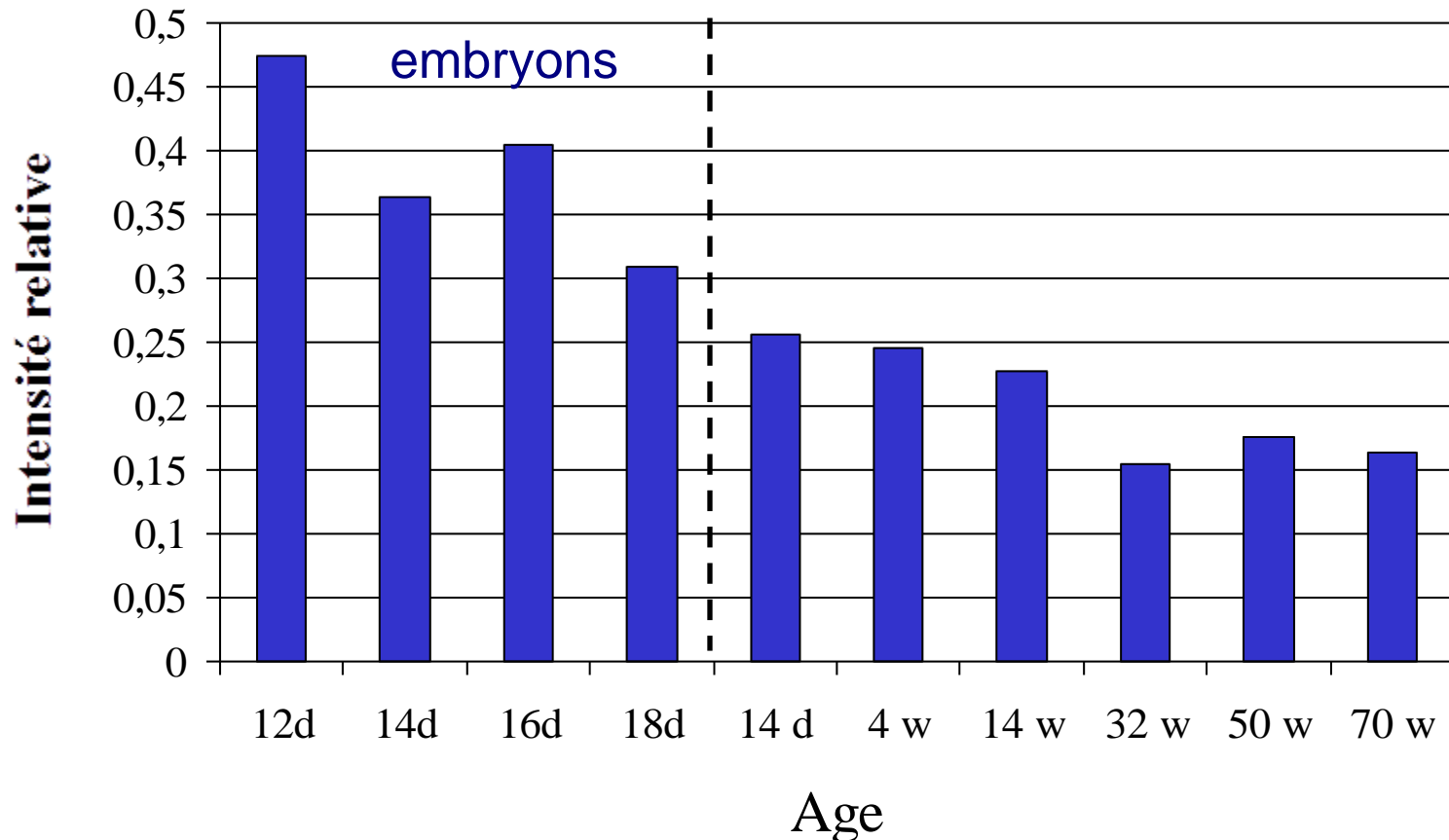
Deux types d'environnements non-apatitiques :

-vers  $615\text{ cm}^{-1}$  attribué à des  $\text{PO}_4^{3-}$

-vers  $535\text{ cm}^{-1}$  attribué à des  $\text{HPO}_4^{2-}$



## Evolution de la proportion d'environnements non-apatitiques des ions $\text{HPO}_4$ en fonction de l'âge (FTIR, os de poulet)



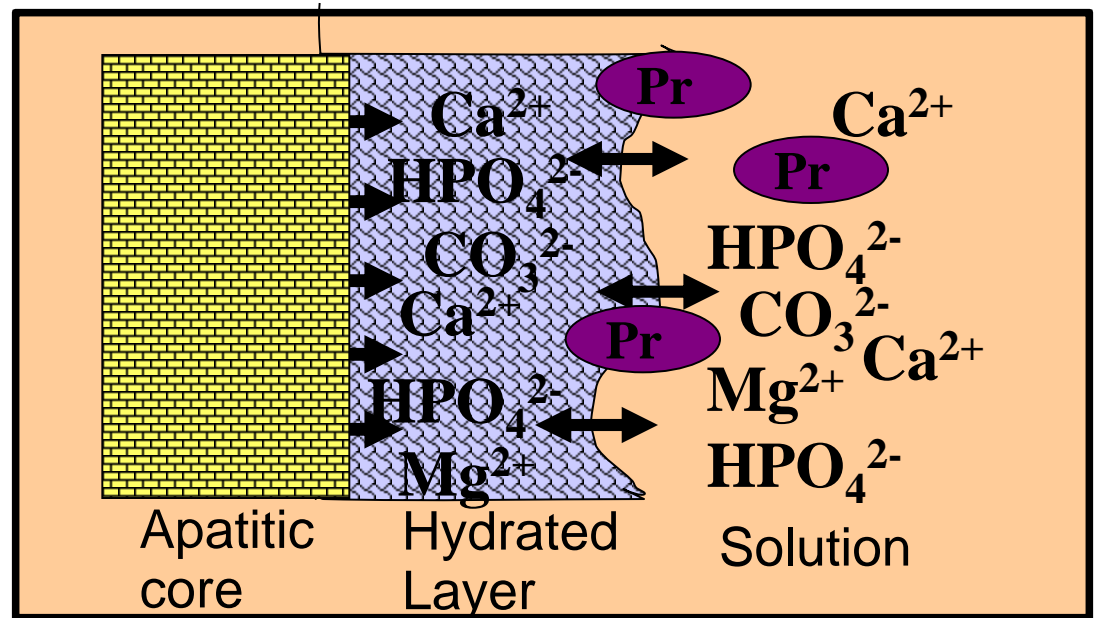
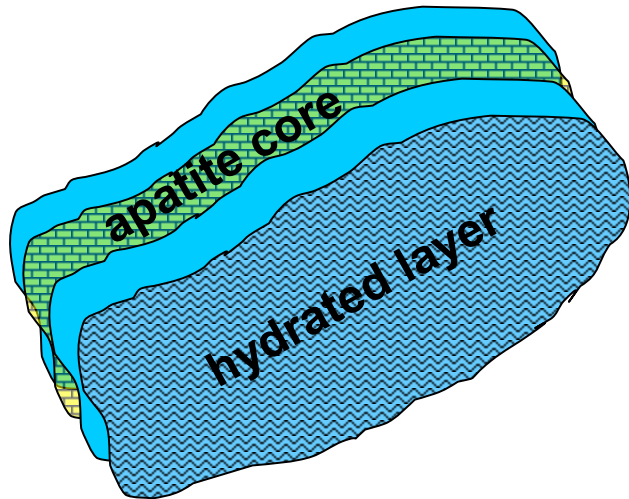
## RMN du solide ( $^{31}\text{P}$ )

- Diminution de la teneur en  $\text{HPO}_4^{2-}$  avec l'âge
- Environnement spécifique des ions  $\text{HPO}_4^{2-}$  (différent de celui qui existe dans les phosphates de calcium bien cristallisés)
- Les  $\text{HPO}_4^{2-}$  non-apatitiques sont à proximité immédiate de molécules d'eau

## Autres données

- Composition (FTIR) : Augmentation de la teneur en carbonate, diminution de la teneur en  $\text{HPO}_4^{2-}$  avec l'âge
- Structure : Diminution de la proportion d'environnements non-apatitiques
- Dimensions : augmentation de la taille/perfection des cristallites

## Modèle de la surface d'un nanocristal d'apatite osseuse

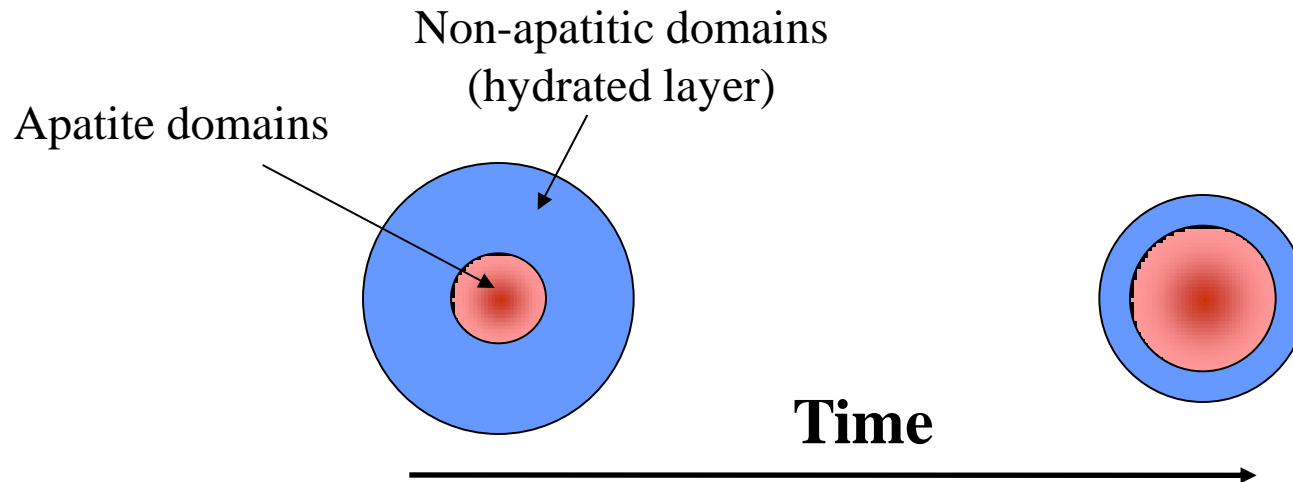


## Nécessité d'études des caractéristiques des nanocristaux sur des composés de synthèse

- Difficultés d'étude du minéral osseux (séparation des cristaux difficile, hétérogénéité de ces cristaux)
- Quantification possible des valeurs spectroscopiques
- Analyse facilitée des propriétés chimiques de ces cristaux
- Analyse physico-chimique du phénomène de maturation par opposition à une vision uniquement biologique

## Processus de Maturation

- Le premier précipité formé est thermodynamiquement instable et riche en environnements non-apatitiques dans la couronne hydratée.
- Cette dernière diminue alors que le réseau apatitique stable se développe progressivement.
- La composition de l'apatite en croissance est déterminée par les conditions de maturation et .
- La maturation du minéral osseux correspond en partie à un phénomène physico-chimique.





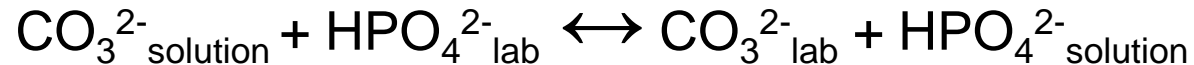
## Facteurs déterminant le processus de maturation

- Paramètres physiques : température, pH
- Paramètres chimiques :
  - inhibiteurs de la croissance des apatites (ou stabilisants de la couche hydratée): magnésium, carbonate, par exemple.
  - Éléments favorisant l'évolution vers l'apatite : Fluor, hydroxides, par exemple.
- Adsorbants (citrate, albumine, bisphosphonates ...) et probablement de nombreuses autres molécules

## Autres propriétés

- Echanges ioniques
- Adsorption
- Dissolution

## Echanges ioniques



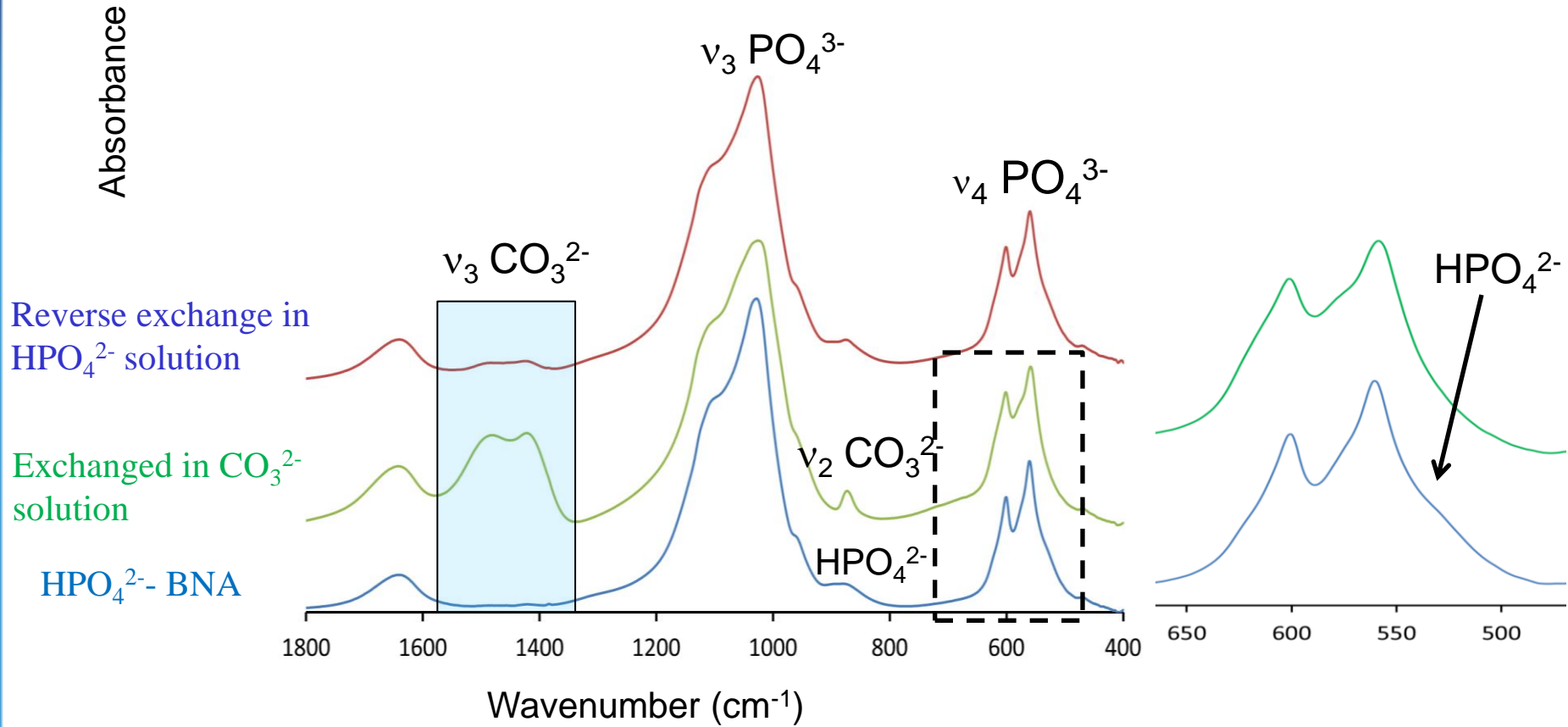
Soit  $N$  la quantité totale de  $\text{HPO}_4^{2-}$  labiles échangeable dans le solide,  $Q$  la quantité d'ions carbonate échangés dans le solide à l'équilibre ( $\text{CO}_3^{2-}_{\text{lab}}$ ),  $C_e$  la concentration de carbonate à l'équilibre ( $\text{CO}_3^{2-}_{\text{solution}}$ ), on a:  
 $\text{HPO}_4^{2-}_{\text{lab}} = N - Q$

$$K_{ex} = \frac{P_{sol} \cdot Q}{C_e (N - Q)}$$

$$Q = \frac{NK_{ex} C_e / P_{sol}}{(1 + K_{ex} C_e / P_{sol})}$$

- Lorsque l'échange est effectué le solide est stable si le rapport  $C_e/P_{\text{solution}}$  ne change pas

## FTIR : exemple d'échange carbonate- $\text{HPO}_4^{2-}$



Les ions carbonate se substituent (réversiblement) aux ions  $\text{HPO}_4^{2-}$  en quelques minutes

## Echange ionique et maturation

Proportion d'ions échangeables en fonction du temps de maturation

Temps de maturation	Sr libéré (%)
sans maturation	90
1 jour	39
3 jours	23
10 jours	23
30 jours	20

Temps de maturation	Mg libéré (%)
1 jour	84
3 jours	84
10 jours	87
30 jours	82

Les ions minéraux de la couche hydratée peuvent

- soit s'incorporer à la couche apatitique en croissance au cours de la maturation et, dans ce cas, la proportion échangeable diminue avec le temps (cas du Sr)
- soit rester dans la couche hydratée et rester échangeables au cours de la maturation (cas du Mg)

## Echanges ioniques

Deux types d'ions:

- Ions qui peuvent s'incorporer à la couche labile et se substituer aux ions du le réseau apatitique (Sr, carbonates...)
- Ions qui peuvent s'incorporer à la couche labile mais ne peuvent pas se substituer aux ions du réseau apatitique (Mg, pyrophosphate...)

Dans les deux cas la capacité d'échange primaire est déterminée par le degré de maturation et dépend du type d'ion

## Adsorption

Souvent l'adsorption sur les apatites s'apparente à un échange ionique, c'est le cas notamment avec les bisphosphonates.

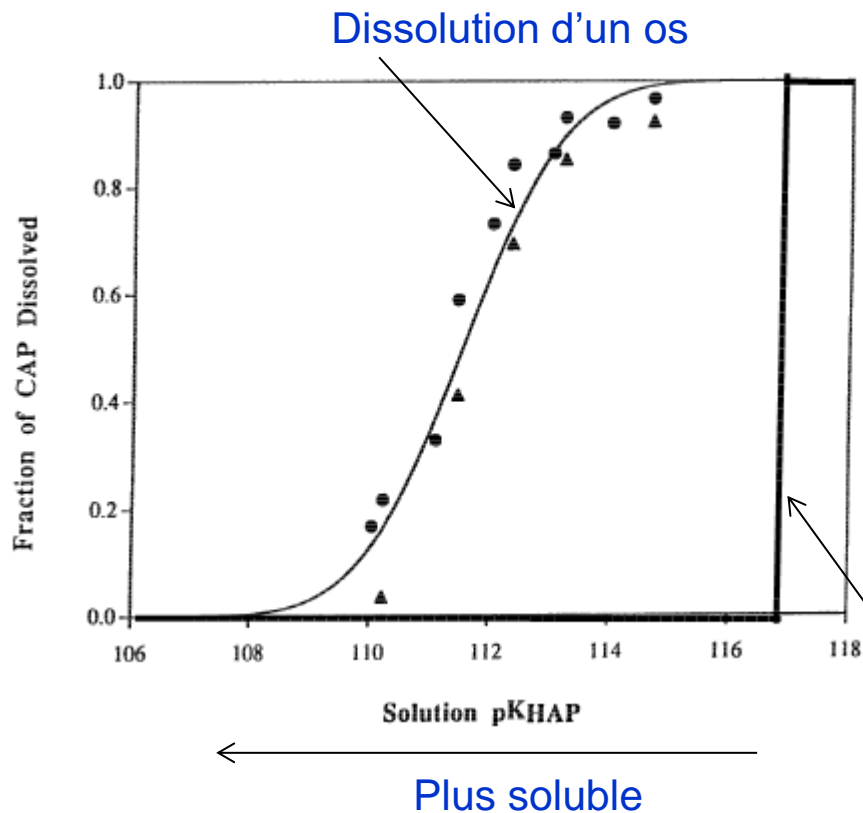
Dans ce cas les équations chimiques et leurs effets sont identiques à ceux donnés plus haut pour un échange ionique :

Le bisphosphonate adsorbé, par exemple, reste fixé tant que le rapport  $\text{BP}_{\text{solution}} / \text{P}_{\text{solution}}$  reste constant.

A condition toutefois que cet équilibre soit le seul à exister!

# Dissolution

Concept d'équilibre de solubilité métastable  
(Metastable Equilibrium Solubility: MES)



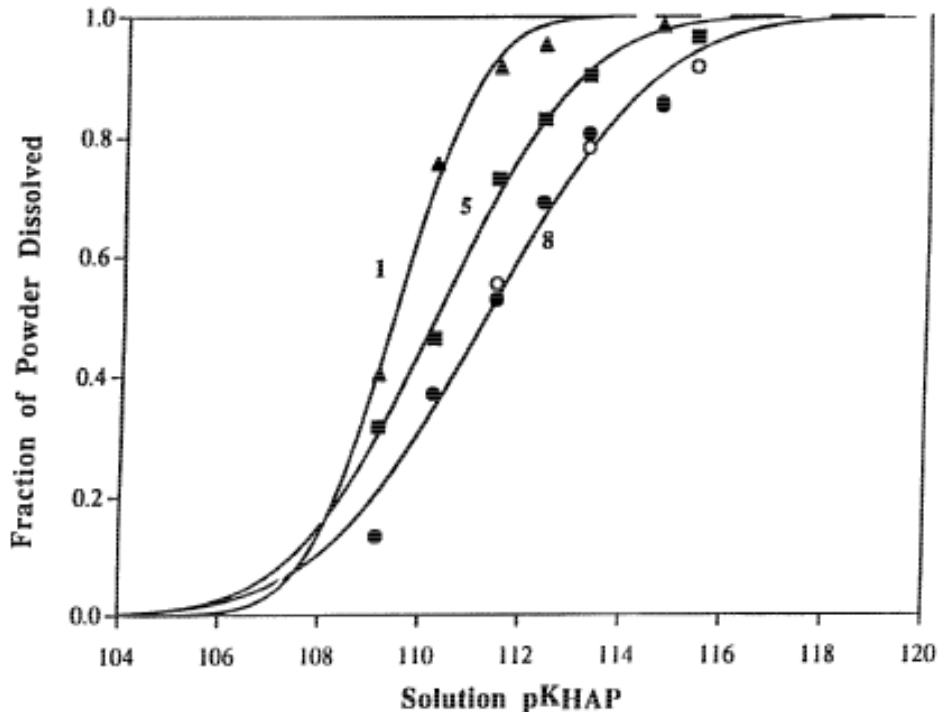
Pour un os la solubilité diminue lorsque la quantité dissoute croît, c'est le concept de MES.

Pour l'hydroxyapatite pure la solubilité ne dépend pas de la quantité dissoute.

Dissolution de l'hydroxyapatite



## Dissolution des apatites osseuses (rats 1, 5 and 8 months)



Le profil de MES change selon l'âge de l'animal (os de rat, 1, 5 et 8 mois).

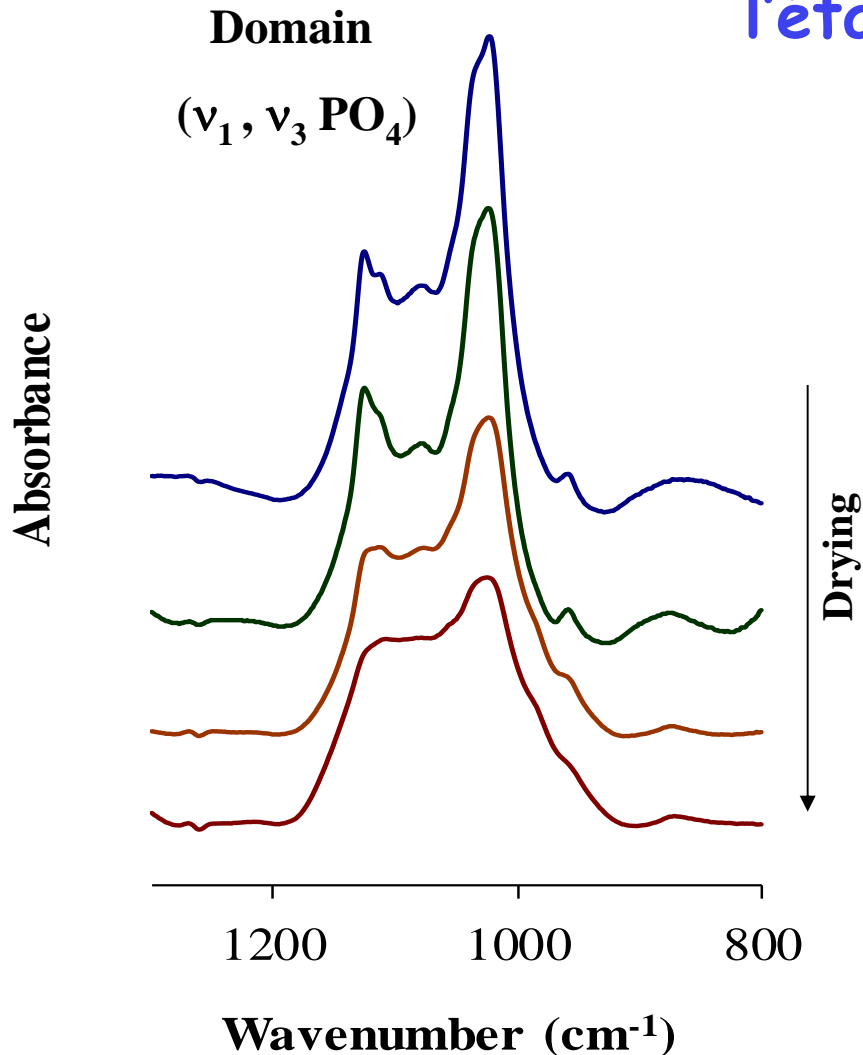
Avec l'âge le profil s'élargit (dispersion en solubilité plus grande) et, pour le même pourcentage dissous la solubilité diminue.

## Fragilité de la couche hydratée Etat sec et humide

Nous avons exposé quelques éléments de la réactivité des apatites nanocristallines et des changements de composition qui peuvent les affecter.

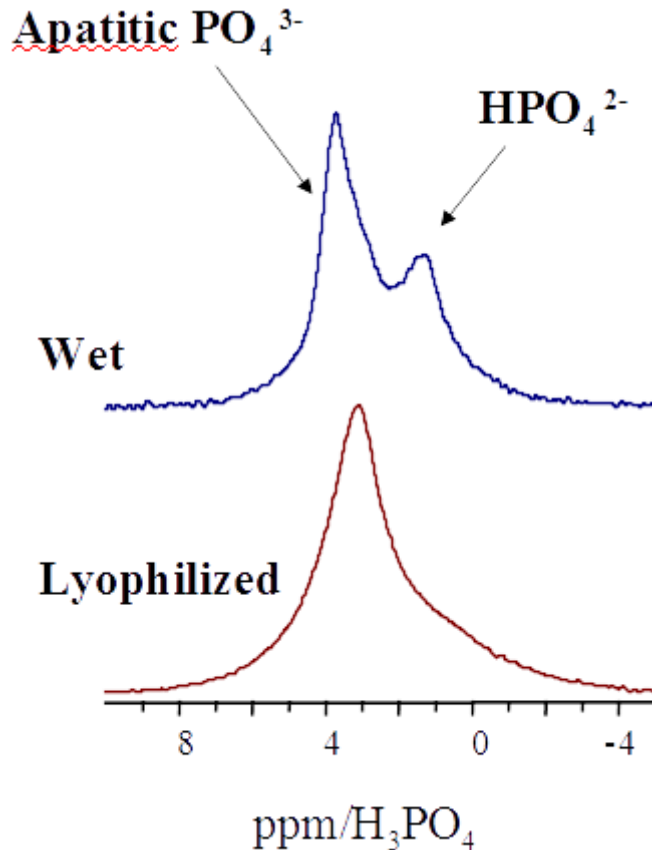
La plupart des analyses physico-chimiques se font à l'état sec et on peut se demander quel est l'impact du séchage sur ces caractéristiques.

## FTIR d'apatites biomimétiques de l'état humide à l'état sec



- Les échantillons humides montrent des bandes fines et relativement bien résolues, attribuées à la couche hydratée, qui s'élargissent et disparaissent au séchage laissant place à une phase amorphe superposée à l'apatite.
- Pas de changement de la phase apatitique cristalline en diffraction des rayons X

## $^{31}\text{P}$ MAS-NMR d'apatites biomimétiques de l'état humide à l'état sec

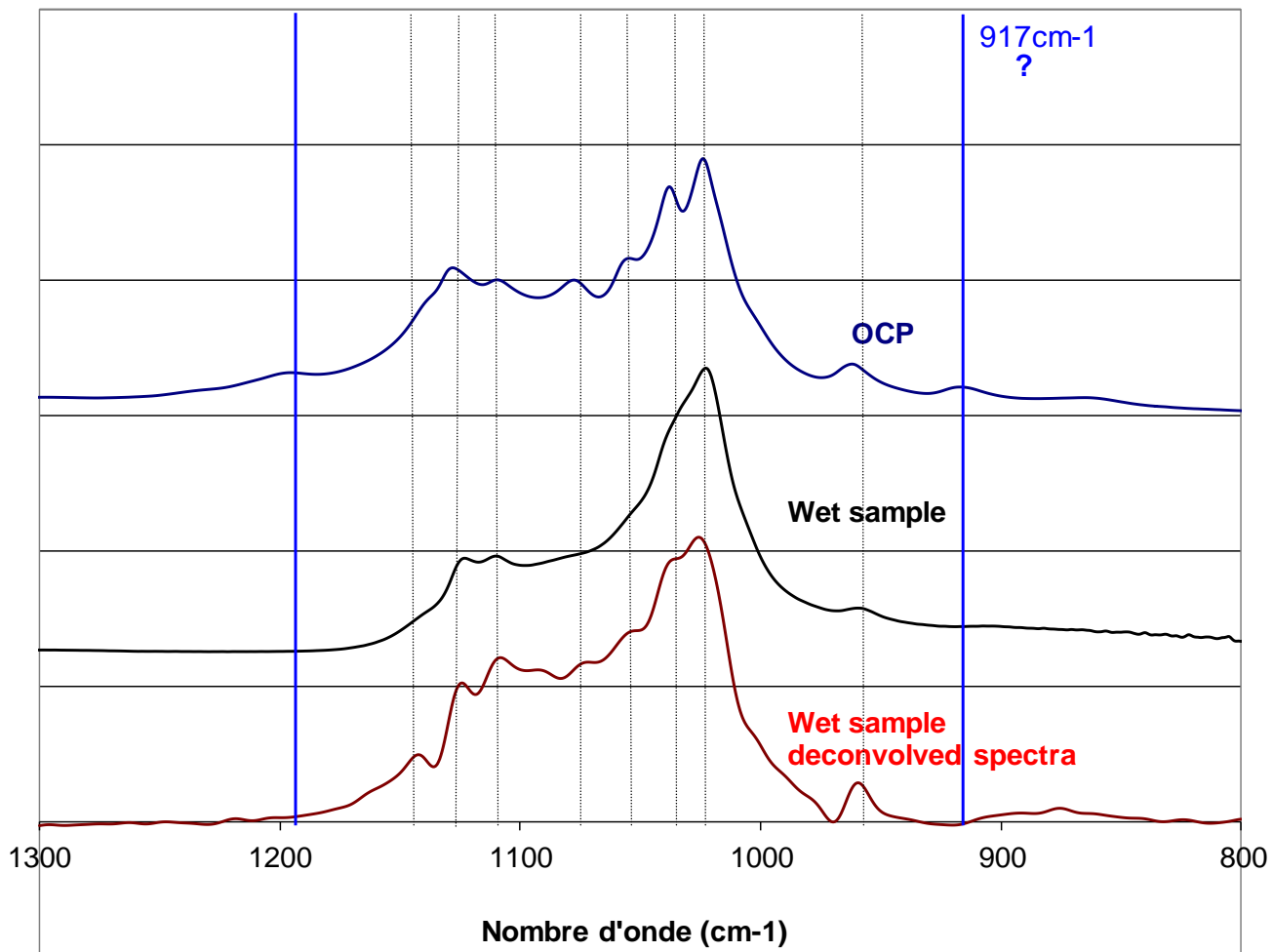


Les bandes dues au noyau  $^{31}\text{P}$  apparaissent, ici aussi, relativement fines avec notamment une bande  $\text{HPO}_4^{2-}$  clairement visible.

Après lyophilisation un élargissement des raies est observé. La bande  $\text{HPO}_4^{2-}$  devient un épaulement correspondant typiquement à un "amorphe".

La structure initiale est seulement partiellement retrouvée par réhydratation du solide lyophilisé.

## Structure de la couche hydratée Comparaison avec le phosphate octacalcique (OCP)



## Conséquences pour le minéral osseux

- Rapidité des échange ionique et intervention probable dans l'homéostasie
- Interactions intercristallines et avec certains constituants de la matrice organique osseuse et rôle possible sur les propriétés mécaniques du tissu osseux
- Nécessité d'un renouvellement périodique pour garder une réactivité et une capacité d'interactions haute en raison de l'évolution thermodynamique inévitable.
- Rôle possible dans la minéralisation secondaire, liée aux changements de volumes des agglomérats de nanocristaux.