

Reconstruction de l'espace des phases

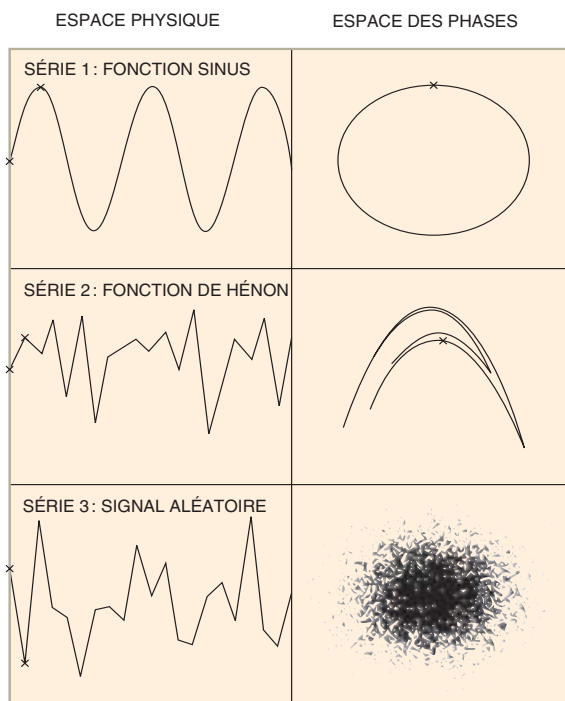
L'étude de la dynamique des systèmes est plus facile dans un espace mathématique nommé espace des phases. On y représente l'évolution du système sous la forme d'une trajectoire, dont la structure renseigne directement sur la nature du système étudié : erratique ou chaotique, périodique ou non, etc.

La reconstruction de l'espace des phases peut être illustrée par de simples cas bidimensionnels. Considérons trois séries temporelles. Les coordonnées sont le temps t en abscisse et la valeur de la série à l'instant t , $f(t)$ en ordonnée (à gauche). À ces trois séries, on associe les portraits de phase correspondants (à droite) : leurs coordonnées sont $(f(t), f(t+d))$, c'est-à-dire les valeurs de la série au temps t en abscisse et les valeurs de la série au temps $(t+d)$ en ordonnée, où d est l'intervalle qui sépare deux mesures. Dans l'espace des phases reconstruit, à chaque couple de points des figures de gauche correspond un seul point des figures de droite, après avoir éliminé la dépendance explicite de la variable temporelle.

La première série temporelle est une sinusoïde $y(t) = \sin \omega t$, un signal déterministe simple ; le portrait de phase correspondant est un cercle. Représenté par deux coordonnées ($x(t) = \cos \omega t$ et $y(t) = \sin \omega t$), il est obtenu ici avec $y(t) = x(t+d)$ où $d = \pi/2\omega$. La deuxième série temporelle représente la fonction de Hénon, un système simple qui engendre du chaos. Son portrait de phase a une forme de banane. Enfin, un algorithme de génération de nombres aléatoires a produit la troisième série. Dans l'espace des phases reconstruit correspondant, aucune structure n'apparaît : le signal a une origine stochastique.

Bien que les deuxième et troisième séries semblent aléatoires, les espaces des phases reconstruits sont distincts : l'origine déterministe du deuxième signal contraint les variables de l'espace des phases reconstruit à former une trajectoire nommée attracteur étrange

ou chaotique. En revanche, dans le cas de la troisième série, aucune structure ne ressort de cet espace des phases reconstruit.



ce que ces structures représentent, l'essentiel est qu'elles apparaissent de nouveau après le traitement du signal.

Nous avons reproduit l'expérience avec le mot *bonjour* (*buon giorno*), d'une durée égale à une seconde environ (voir la figure 4). À l'entrée du filtre, nous ajoutons un bruit numérique au signal original. Puis, nous comparons le signal obtenu à la sortie au *bonjour* initial : la différence est faible et peut être considérée comme le bruit résiduel. Ce bruit résiduel n'est pas constant, mais il varie, en particulier dans la transition entre les syllabes *bon* et *jour* (*buon* et *giorno*), où un pic apparaît. Un silence imperceptible se glisse entre les deux mots et le signal ne comporte plus de structures périodiques. À ce niveau, l'estimation de l'hypersurface sur laquelle effectuer la projection présente un plus grand degré d'incertitude. Les états situés à proximité des transitions entre les phonèmes occupent des régions de l'espace reconstruit qui n'appartiennent ni au phonème qui se termine ni à celui qui commence. Dans ce contexte, le filtrage se fait avec une qualité inférieure. Sinon, les phonèmes occupent des régions distinctes de l'espace des phases reconstruit, et on identifie leur point de séparation dans l'espace des phases et dans le temps, donc dans la série temporelle. Les phonèmes sont ainsi automatiquement reconnus.

Pour vérifier le fonctionnement du filtre, nous avons aussi fait varier le niveau du bruit introduit, de 10 à 500 pour cent de la variation du signal, c'est-à-dire que le signal superposé va d'un bruissement à peine perceptible à un bruit qui entraîne la perte complète de l'intelligibilité. Nous avons comparé les performances de notre filtre avec les résultats obtenus en utilisant l'algorithme qui sert de référence

dans le filtrage de signaux vocaux, dit algorithme d'Ephraïm et Malah. Notre filtre améliore les performances du filtrage, notamment pour des niveaux élevés de bruit.

Le filtre que nous avons conçu consiste à créer un espace des phases reconstruit à partir des données scalaires, ce qui, d'un point de vue strictement mathématique, a un sens seulement pour des signaux déterministes et stationnaires. Nous avons montré que la représentation dans un espace des états et le confinement dans une hypersurface sont valables au niveau de phonèmes distincts ; il faut seulement considérer un espace de dimension suffisamment élevée avec les paramètres de reconstruction qui conviennent. Le nombre élevé de dimensions de cet espace vectoriel aide à résoudre la non-stationnarité du signal vocal. Notre algorithme utilise des outils de la théorie du chaos sans toutefois que l'on ait à se préoccuper de savoir si la voix humaine est assimilable à un système chaotique ou non.

Lorenzo MATASSINI travaille dans la Société Daimler-Chrysler, en Allemagne.

J. GLEICK, *La théorie du chaos. Vers une nouvelle science*, Albin Michel, 1989.

A. DAHAN-DALMEDICO, *Chaos et déterminisme*, Points Sciences Le Seuil, 1992.

I. EKELAND, *Le chaos : un exposé pour comprendre*, Dominos Flammarion, 1996.

Holger KANTZ et Thomas SCHREIBER, *Nonlinear Time Series Analysis*, Cambridge University Press, 1997.

La nacre, substitut de l'os

ÉVELYNE LOPEZ • SOPHIE BERLAND • SANDRINE BORZEIX

La nacre et l'os sont des tissus minéralisés partageant plusieurs caractéristiques, par exemple leur structure ou leur mode d'élaboration.

Divers essais cliniques montrent que la nacre aide à régénérer les os endommagés.

En 1972, l'historien des sciences Amadéo Bobbio, de l'Université d'Aquara, à São Paulo, au Brésil, examine des crânes amérindiens vieux de plus de 4 000 ans mis au jour au Honduras. Il découvre alors que les Mayas remplaçaient des dents disparues par des fragments de nacre. La radiographie de ces os révèle que les dents de substitution sont bien soudées à l'os du maxillaire et biologiquement bien tolérées. L'étude de la texture des dents de remplacement indique qu'ils ont été taillés dans la nacre d'un mollusque bivalve, l'huître *Pinctada maxima* fréquente à cette époque dans le golfe du Mexique, mais aujourd'hui disparue dans cette région.

Ainsi, les Mayas ont été les premiers à utiliser la nacre, pour ses qualités physiques, notamment pour sa dureté, mais aussi parce qu'elle ressemble aux tissus minéralisés complexes, tels ceux qui constituent les dents et l'os. La nacre, sous forme de poudre de perles, est présente depuis l'Antiquité dans les pharmacopées traditionnelles égyptienne, asiatique et amérindienne. La nacre était surtout utilisée pour prévenir les brûlures du Soleil et les apaiser.

Si les Mayas ont utilisé les propriétés de la nacre de façon empirique, cette substance naturelle intéresse aujourd'hui les physiciens, les minéralogistes et les biologistes, qui l'étudient afin d'élucider les mécanismes de minéralisation des coquilles, mais aussi d'autres

structures biologiques minéralisées, tels l'émail et l'ivoire des dents, ainsi que l'os. Ils cherchent à découvrir les analogies structurales de la nacre et de l'os.

Depuis 1992, plusieurs expériences, que nous examinerons, ont mis en évidence les qualités de la nacre qui favorise la régénération osseuse, mais qui comble aussi les pertes osseuses, consolidant les os endommagés par un accident, par l'usure ou par des maladies, telle la parodontose ou l'ostéoporose. Aussi, étudions-nous la compatibilité biologique entre la nacre et le tissu osseux, et analysons-nous les mécanismes de la croissance de ces deux tissus minéralisés et du contrôle de la minéralisation. Après avoir décrit ces deux structures et mis en lumière le contexte de leur élaboration, nous exposerons quelques exemples où la nacre a révélé son rôle de substitut potentiel pour des réparations osseuses. Enfin, nous détaillerons ce que l'on sait des mécanismes moléculaires de la croissance de ces deux tissus minéralisés, et ce qu'ils nous apprennent sur leur histoire évolutive.

Des cristaux sous contrôle

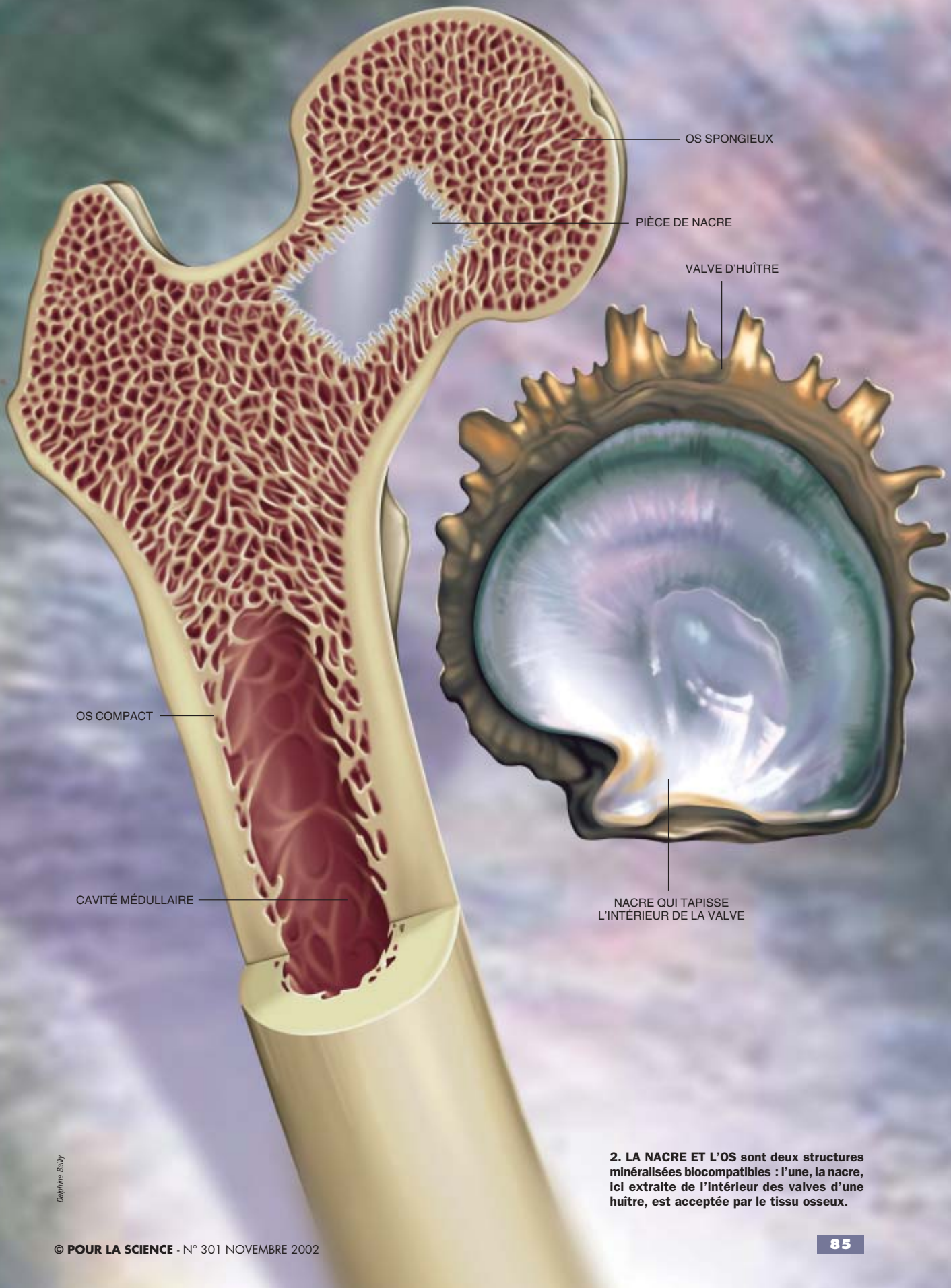
Un cristal est un assemblage d'atomes (ou de molécules) agencés en un réseau tridimensionnel périodique, composé d'une maille élémentaire répétée. Cette structure en réseau restreint la liberté de mouvements des atomes et confère sa rigidité au cristal. Les cristaux issus d'un mécanisme de biominéralisation, où la formation et la croissance sont guidées par une matrice de molécules organiques, diffèrent notablement de ceux qui se forment spontanément dans la nature à partir de réactions purement physico-chimiques, car ils résultent de phénomènes dits «hors équilibre» (ils ne sont pas en équilibre avec le milieu environnant). Par exemple, chez les vertébrés, le minéral le plus répandu est celui de l'os : il s'agit du phosphate de calcium cristallisé sous une forme d'hydroxyapatite, où le cristal de phosphate de calcium est lacunaire et peut incorporer différents ions, tels des ions carbonate, des ions fluor, des ions iodure... Ces substituants modifient la solubilité du cristal dans sa forme géologique, l'apatite.

La cristallisation de carbonate de calcium est un autre mode de calcification adopté par le monde vivant pour élaborer un squelette protecteur. Ainsi, chez les animaux à squelette externe, tels les mollusques, le minéral le plus répandu est le carbonate de calcium cristallisé soit sous forme de calcite (la maille cristalline est rhomboédrique, c'est-à-dire qu'elle a la forme de deux tétraèdres accolés par leur base), soit sous forme d'aragonite (la maille est alors



1. LA NACRE extraite de l'intérieur des deux valves de l'huître *Pinctada maxima* (médailillon) peut être utilisée en chirurgie osseuse réparatrice sous deux formes : en blocs massifs ou micronisée, c'est-à-dire réduite en poudre et associée à un liant.

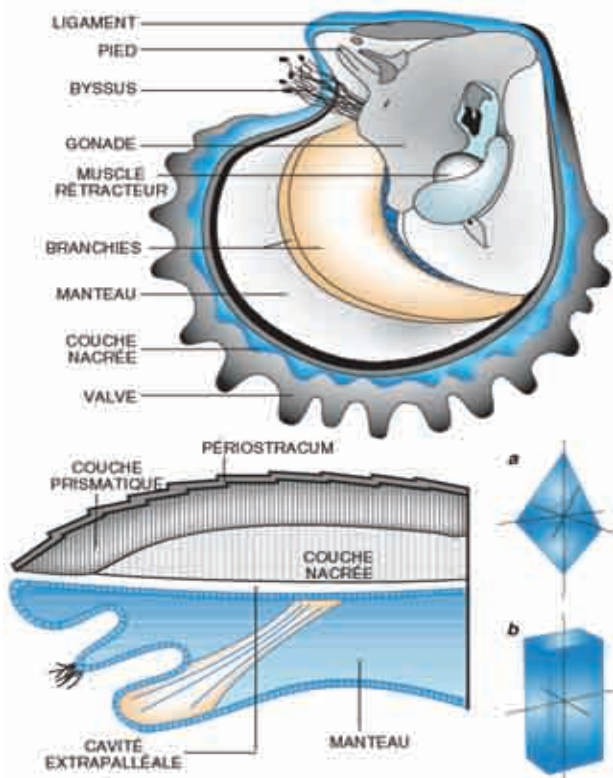
Illustrations des auteurs, sur la page 85



orthorhombique, c'est-à-dire parallélépipédique). Dans la coquille des mollusques, telles les huîtres, les deux formes coexistent. Chez l'huître *Pinctada*, la calcite et l'aragonite sont disposées en deux couches distinctes et superposées, la première constitue la couche prismatique, la seconde, la couche nacréée (voir la figure 3). Ces deux couches sont recouvertes du périostacum.

Ces diverses couches coquillières résultent de l'activité sécrétoire de cellules épithéliales du manteau, la couche de cellules qui recouvre le corps du mollusque, et de cellules circulantes, nommées hémocytes, qui participent aussi aux fonctions immunitaires. La cavité extrapalléale, délimitée par la coquille et le manteau, contient un fluide neutre ou légèrement basique en période de minéralisation, quand les ions calcium abondent. Dans ce liquide s'accumulent les éléments nécessaires à la fabrication de la nacre : d'une part, les polysaccharides et les glycoprotéines de la matrice organique produits par les cellules du manteau et les hémocytes et, d'autre part, les ions calcium et des ions bicarbonate.

Les cristaux de carbonate de calcium se forment lorsque le milieu est saturé en ions calcium et en ions bicarbonate.



3. L'HUÎTRE est un mollusque bivalve : l'organisme, mou, est protégé par une coquille en deux parties. Les organes (*en haut*) de l'animal sont entourés par le manteau qui fabrique les diverses couches de la coquille (*en bas*), dont les composants s'accumulent dans la cavité extrapalléale avant de cristalliser sous le contrôle de la matrice organique. On distingue trois couches : le périostacum, à l'extérieur ; la couche prismatique où le carbonate de calcium est cristallisé sous la forme rhomboédrique (*a*, la maille élémentaire du cristal est constituée de deux tétraèdres accolés par la base) ; la couche nacréée où il est sous la forme orthorhombique (*b*, la maille est parallélépipédique).

Cette cristallisation est guidée par la matrice organique, qui peut, par exemple, modifier localement la saturation du milieu en ions et, par conséquent, la formation des cristaux. Ainsi, la matrice organique conditionne la minéralisation, du germe cristallin (de calcite ou d'aragonite) jusqu'à la croissance et la fusion des cristaux.

À l'instar des Mayas

Selon l'équipe de Steve Weiner, de l'Institut Weizmann, en Israël, la matrice organique de la nacre est constituée d'une trame polysaccharidique de *bêta*-chitine et de protéines fibreuses analogues aux protéines de la soie. L'analyse des protéines qui se lient aux ions calcium révèle qu'elles sont riches en deux acides aminés, l'acide aspartique et l'acide glutamique, qui portent des groupes chargés négativement (ce sont eux qui attirent les ions calcium, chargés positivement). La nature et l'arrangement de ces sites de liaison orientent la cristallisation.

La disposition de la matrice organique et de la phase minérale suit une organisation en «brique et mortier» ; l'alternance des briques (les cristaux) et du mortier (les protéines) confère à l'ensemble une dureté et une résistance remarquables. Cette structure empêche les fissures ou les microfractures de se propager. La nacre est aussi résistante à la traction que l'aluminium ou que le plexiglas, soit 1 000 fois plus que ne l'est l'aragonite géologique ! Les «briques» (voir la figure 4) sont des tablettes polygonales, dont la morphologie varie selon les espèces, et qui sont constituées d'une multitude de biocristaux de carbonate de calcium dont la cohérence est assurée par la matrice organique. Celle-ci est percée de pores irréguliers et dispersés qui forment un réseau de communication entre les différentes couches.

Une lésion de la nacre d'une coquille entraîne, probablement par la médiation de messagers chimiques, l'afflux d'hémocytes. Ces cellules migrent vers le site endommagé et participent à la formation d'un cal de réparation. Existe-t-il une analogie avec l'os, où la réparation d'une fracture passe aussi par la libération de messagers moléculaires, des cytokines, et par la mise en place d'un cal de réparation ?

En 1992, une première série d'expériences confortait cette hypothèse. On avait montré que des fragments de nacre et des fragments d'os placés à distance sur des ostéoblastes, les cellules formatrices de l'os, sont soudés en peu de temps par un tissu mixte composé d'os étroitement associé à de la nacre. Ainsi, il existe dans la nacre des substances diffusibles, des «molécules signal» qui stimulent les cellules formatrices d'os, notamment humaines. Depuis ces expériences pionnières, nous avons également démontré que ces «molécules signal» stimulent la croissance de l'os sur des cellules souches, contenues dans la moelle osseuse et précurseurs des cellules formatrices de l'os, ainsi que sur leurs précurseurs, des fibroblastes issus des cellules du tissu conjonctif.

Nous utilisons la nacre d'une huître première géante du genre *Pinctada* qui atteint jusqu'à 30 centimètres de diamètre. Cette huître est cultivée aujourd'hui en Océanie pour la perliculture. La couche de nacre, qui atteint jusqu'à deux centimètres d'épaisseur, est extraite de la coquille de ces huîtres. Ce matériau est employé sous la forme de petites prothèses (voir la figure 1) taillées dans le bloc ou sous la forme de nacre micronisée, c'est-à-dire réduite en poudre, et associée à un liant. La nacre des huîtres *Pinctada* est stable jusqu'à 550 °C alors que la matrice organique de l'os est altérée dès

200 °C. Cette qualité, associée aux propriétés mécaniques, autorise une stérilisation prolongée indispensable à son utilisation en tant que biomatériau.

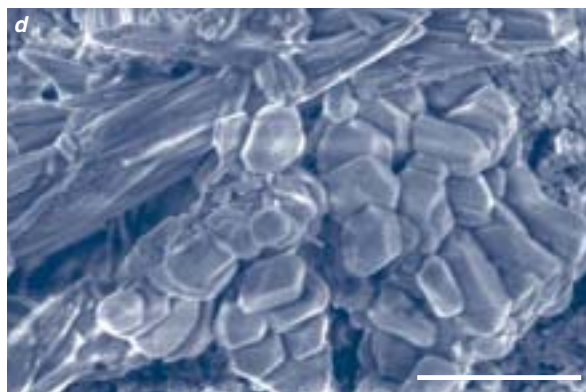
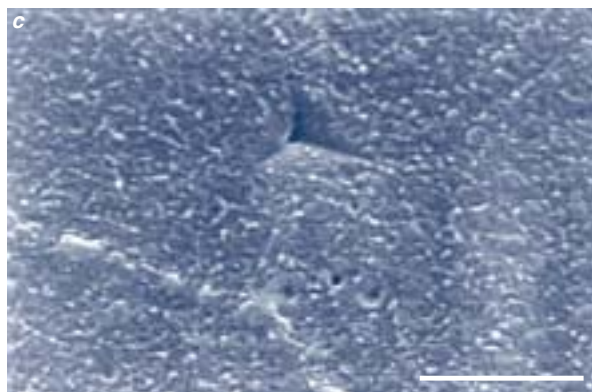
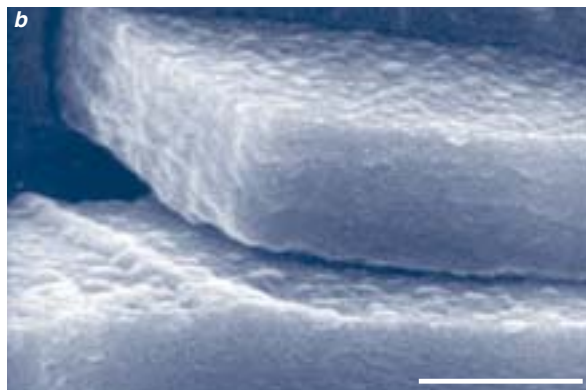
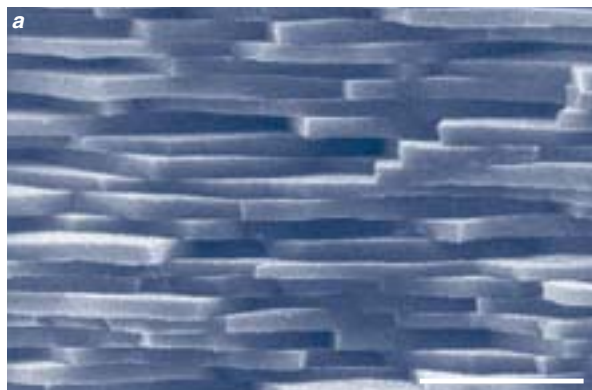
Mâchoires nacrées

En collaboration avec les chirurgiens orthopédistes Yves Catonné et Olivier Delattre, du Centre hospitalier universitaire de Fort-de-France, nous avons placé des pièces de nacre dans le fémur d'un mouton : la nacre était au contact de l'os et de la moelle osseuse (voir la figure 5) dans la cavité médullaire. Après dix mois, le greffon était parfaitement accepté, avait conservé sa forme intacte et n'avait fait l'objet d'aucune réaction de rejet. L'analyse des interfaces du greffon de nacre implanté et de l'os a confirmé les résultats obtenus *in vitro*, c'est-à-dire que l'os et la nacre étaient soudés par formation d'os nouveau dépourvu de tissu conjonctif fibreux et non minéralisé. En chirurgie orthopédique, la continuité de l'os avec un implant de substitution est indispensable au bon transfert des forces mécaniques de l'os à l'implant, et à l'intégrité de l'axe de soutien mécanique reconstitué. À l'inverse, l'interposition de tissu conjonctif entraîne une mobilité de l'implant.

Ainsi, les ostéoblastes de l'os qui reçoit le greffon de nacre sont stimulés. Par ailleurs, la nacre entraîne la différenciation des cellules précurseurs des ostéoblastes, les cellules stromales, situées dans la moelle osseuse. La stimulation des ostéoblastes se traduit par une augmenta-

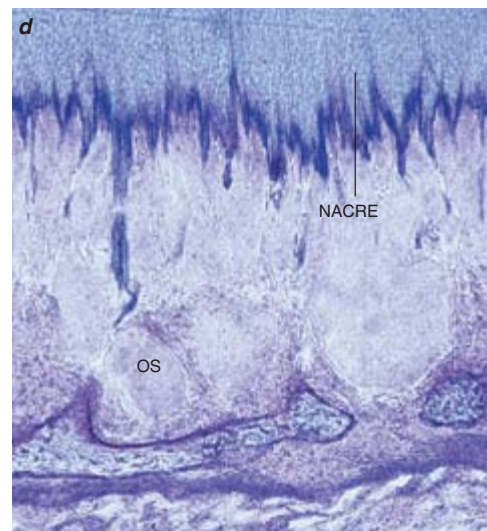
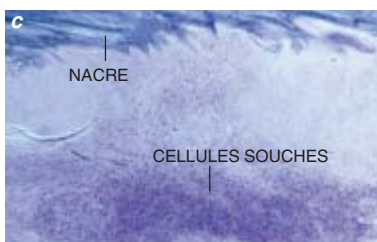
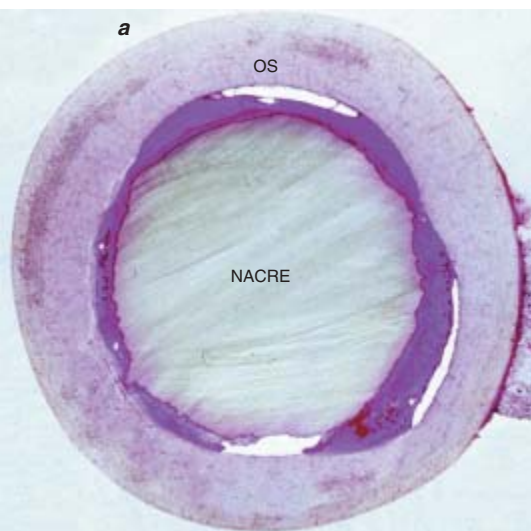
tion de la quantité d'ARN messagers codant des protéines essentielles de la matrice osseuse, tels le collagène de type I, l'ostéocalcine et l'ostéopontine. On observe à la surface de l'implant de nacre et dans l'environnement immédiat, une accumulation des éléments constitutifs de l'os, tels les ions calcium et les ions phosphate. Bien qu'il n'y ait pas de résorption de la nacre en profondeur, la soudure os-nacre passe par une érosion de la surface de l'implant par un mécanisme cellulaire mettant en jeu les ostéoclastes, des cellules spécifiques de la résorption osseuse (l'os subit sans cesse des phénomènes de construction et de destruction, ou résorption). Au final, la nacre et l'os sont attaqués par les ostéoclastes, mais simultanément, les ostéoblastes reconstruisent l'os qui «repousse», notamment dans les interstices creusés dans la nacre. L'interface séparant les deux matériaux a une allure en dents de scie. Ce mécanisme, qui se met en place dès l'implantation, se stabilise rapidement, puis cesse – après six mois pour des prothèses massives – au moment de l'ancrage de la nacre sur l'os. La nacre recrute différentes populations cellulaires qui coopèrent pour la réparation osseuse : elle entraîne une différenciation cellulaire qui conduit à la synthèse d'une matrice osseuse minéralisable, une propriété qui n'était jusqu'alors attribuée qu'à l'os lui-même.

La nacre peut être également utilisée comme biomatériau de comblement, sous forme de poudre. Nous avons mis au point des méthodes de micronisation afin d'obtenir un matériau pulvérulent, de granulométrie contrôlée,



4. LA NACRE observée au microscope électronique à balayage révèle une architecture semblable à celle d'un mur de briques (*a*, la barre blanche représente cinq micromètres). Les «briques» sont constituées d'une multitude de biocristaux de carbonate de calcium (*b*, la barre représente 500 nanomètres), assemblés par une matrice organique. Cette matrice organique (*c*, la barre représente 500 nano-

mètres) est percée de pores de tailles différentes et disséminés dans tout le volume ; ils forment un réseau de communication entre les différentes couches. L'observation de la substance organique hydrosoluble extraite de la nacre (*d*, la barre représente deux micromètres) met en évidence des aiguilles et des cristaux prismatiques associés à la substance organique.



5. UNE PIÈCE CYLINDRIQUE DE NACRE est implantée dans la cavité médullaire du fémur d'un mouton (a). Après dix mois, la radiographie (b) de l'os montre la parfaite compatibilité de la nacre et de l'os : la prothèse n'a fait l'objet d'aucun rejet et a conservé sa forme d'origine. L'étude des mécanismes de l'ancrage révèle (c) que les cellules souches des os, contenues dans la moelle osseuse, sont stimulées et attirées par la nacre. Dans un second temps, de l'os se forme à

l'endroit où ces cellules activées se sont accumulées (d). Les ostéoclastes détruisent en permanence l'os et agissent aussi sur la nacre. Simultanément, les cellules souches se différencient en ostéoblastes, les cellules qui reconstruisent l'os ; elles fabriquent de l'os qui colonise la surface de la nacre érodée par les ostéoclastes. Ces phénomènes de résorption et de reconstruction expliquent pourquoi l'interface de l'os et de l'implant de nacre est en dents de scie.

exempt d'esquilles agressives pour les tissus receveurs. Le broyage se déroule à sec afin d'éviter la perte de substances actives solubles. La nacre réduite en poudre est mélangée à un liant, par exemple du sang du receveur, puis utilisée comme matériau de comblement et de régénération osseuse chez l'animal et chez l'homme. Par exemple, l'os du maxillaire est fragile et se résorbe rapidement soit après la perte de dents, soit à la suite de pathologies dont la plus commune, la parodontose, aboutit au déchaussement des dents. Cette maladie s'accompagne d'une destruction de l'os parodontal qui entoure les dents. Les travées osseuses de cet os spongieux sont très minces et remplies de moelle riche en cellules précurseurs des ostéoclastes. Après la perte d'une ou de plusieurs dents, l'os maxillaire qui n'est plus sollicité par la mastication se désagrège rapidement. Aussi est-il nécessaire de le reconstruire.

La technique la plus efficace et la plus utilisée en chirurgie réparatrice est la greffe d'os autologue, c'est-à-dire prélevé sur le patient lui-même, afin de constituer un greffon de réparation. Cependant, le prélèvement du greffon n'est pas sans risque et la quantité d'os disponible reste limitée. C'est pourquoi la mise au point et la production de nouveaux matériaux implantables constituent un enjeu de santé publique.

À la suite des succès obtenus sur la restauration du maxillaire par l'implantation de nacre micronisée chez l'animal, des essais cliniques ont été entrepris chez l'être humain. L'étude histologique de biopsies osseuses, prélevées six mois après l'intervention, montre que la nacre micronisée implantée dans l'os du maxillaire a disparu progressivement et a été remplacée par de l'os nouveau.

Contrairement aux implants massifs de nacre qui ne sont résorbés qu'en surface, la nacre micronisée se dissout complètement. Les cellules autour des implants participent à ce phénomène et libèrent progressivement de la matrice protéique les molécules signal qu'elle contient. Ces molécules exercent leur action sur les cellules envi-

ronnantes, les ostéoblastes et leurs précurseurs. Une cascade d'événements conduit à une formation d'os nouveau. Ainsi, la poudre de nacre joue un rôle de support, mais elle libère également des facteurs qui favorisent la régénération osseuse. La caractérisation biochimique de ces facteurs moléculaires est en cours.

La consolidation des vertèbres

La colonne vertébrale est l'un des éléments clé du squelette. Les vertèbres, constituées d'os spongieux, sont souvent l'objet d'atteintes pathologiques qui conduisent à une fragilité de l'os et, par conséquent, de l'axe de soutien du corps. Pour les vertébroplasties, on injecte directement dans la vertèbre, à l'aide de cathéters, des biomatériaux de consolidation dont le plus utilisé est un ciment inerte, le polyméthylméthacrylate, qui se solidifie par polymérisation sur le site. Cependant, la polymérisation est exothermique et la libération de chaleur endommage le tissu receveur. Aussi avons-nous testé la nacre micronisée en espérant obtenir non seulement la substitution, mais aussi la régénération osseuse (voir la figure 6). La nacre micronisée permet de suivre la réparation des vertèbres par radiographie, car sa granulométrie est modulable et elle peut être facilement mélangée à d'autres matériaux visibles par les techniques d'imagerie. De plus, la nacre micronisée est naturellement opaque aux rayons X, ce qui augmente sa traçabilité par imagerie médicale.

Injectée dans une cavité créée expérimentalement, la poudre de nacre déclenche un mécanisme d'ostéogénèse, comme dans le cas du maxillaire. Cette formation osseuse commence huit semaines après l'intervention, et le gain osseux est notable après 12 semaines : au sein et autour de la cavité, l'os spongieux vertébral est renforcé. La comparaison avec des cavités laissées vides montre que les cavités emplies de nacre régénèrent plus vite. Plus étonnant, la densité osseuse de l'os vertébral régénéré après injection de nacre est 2,5 fois

supérieure à celle de l'os vertébral mis en place lors du processus de réparation naturel en l'absence de biomatériau.

La nacre micronisée pourrait devenir un biomatériau de choix en chirurgie pour la reconstruction osseuse, notamment vertébrale. Toutefois, cette adéquation soulève des questions. Qu'ont en commun la nacre et l'os pour autoriser ce mariage réussi et leurrer notre système immunitaire?

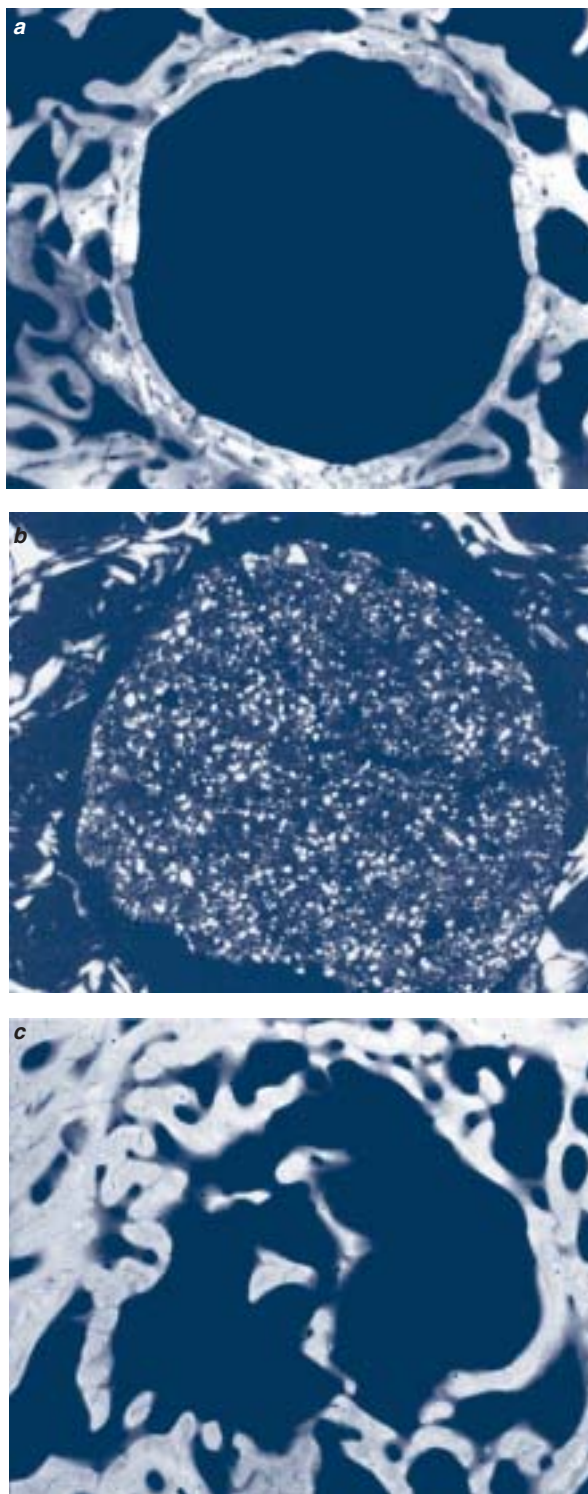
Association de bienfaiteurs

Les différences entre la nacre et les tissus squelettiques des vertébrés, tels les os et les dents, semblent importantes. Cependant, la fabrication de ces deux matériaux suit un même mécanisme : la formation d'une matrice organique, essentiellement glycoprotéique et synthétisée par des cellules spécialisées, qui se minéralise de façon contrôlée. Cette homologie se retrouve-t-elle au niveau moléculaire?

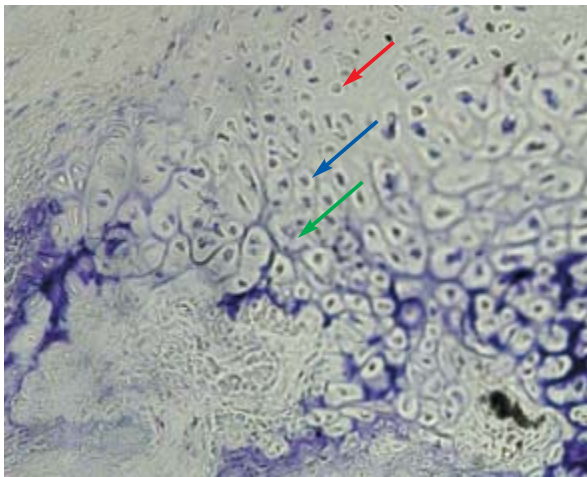
La matrice organique de l'os est constituée de protéines fibreuses, tel le collagène de type I, et de protéines non fibreuses, qui marquent les étapes de la minéralisation de l'os. Ces protéines non fibreuses, produites par les ostéoblastes, sont principalement des cytokines, tels l'ostéocalcine, l'ostéopontine, le facteur TGF- β , l'IGF1 (pour *Insuline growth factor 1*), des protéoglycannes et les protéines dites BMP (pour *Bone morphogenetic proteins*, c'est-à-dire des protéines morphogénétiques de l'os). Ces protéines BMP, apparentées au facteur TGF- β , sont des facteurs de différenciation cellulaire découverts en 1965.

Le début de la minéralisation est associé à une augmentation de l'activité d'une enzyme, la phosphatase alcaline. Par ailleurs, la matrice organique de l'os piège parfois des molécules non spécifiques de l'os, tel l'IGF, véhiculées par le sang. Elle représente un réservoir de substances actives *in situ*. Dès 1995, Christian Milet et Anne Le Faou ont mis en évidence dans la matrice organique de la nacre de l'huître *Pinctada maxima* des molécules apparentées à des protéines connues, tels le collagène de type I, la décorine qui participe à l'adhésion cellulaire, plusieurs cytokines dont l'IGF1, ainsi que le PTHrp et CGrp. Ces deux dernières molécules sont bien conservées au cours de l'évolution : l'une est un facteur de communication cellulaire, l'autre participe à la mobilisation des ions calcium chez les vertébrés, mais aussi chez les invertébrés. Une molécule apparentée au CGrp a également été identifiée dans les tissus de l'ormeau *Haliotis tuberculata*. Ces deux peptides, PTHrp et CGrp, ne sont pas des molécules spécifiques de la matrice organique de la nacre, mais sont probablement «piégés» par des protéines de liaison, constitutives de la matrice organique de la nacre, à partir de l'hémolymph circulant, selon un mécanisme similaire à celui observé dans la matrice organique de l'os.

Constituée elle aussi de macromolécules complexes, la matrice organique de la nacre, moins étudiée que celle de l'os, est plus avare de renseignements sur son activité biologique. Par ailleurs, la caractérisation biochimique des éléments matriciels, notamment des protéines, se heurte à un obstacle important : lorsqu'ils sont extraits de la structure minéralisée, ces composants s'agrègent et deviennent insolubles. Ce qui est probablement un système naturel de protection contre une fuite de ces éléments dans le milieu liquide environnant rend difficile l'accès au séquençage de ses constituants. Toutefois, plusieurs protéines spécifiques de la matrice organique des mollusques nacrés sont aujourd'hui isolées et caractérisées par leur séquence.



6. UN DÉFAUT D'UNE VERTÈBRE d'un mouton, ici une cavité circulaire (a), peut être réparé. De la nacre micronisée et associée à un liant est injectée dans la cavité (b) : ce matériau est naturellement opaque aux rayons X et autorise ainsi le suivi de son injection. Peu à peu, la nacre est dissoute : les facteurs ostéogènes contenus dans sa matrice organique sont libérés et diffusent. Ils favorisent la formation de tissu osseux vertébral (c) que l'on observe ici, sous la forme d'un réseau de nouvelles travées osseuses au sein de la cavité. L'os nouveau est identique au tissu osseux receveur de la vertèbre.



7. LA NACRE (ici implantée sous forme micronisée dans un tissu conjonctif de lapin afin de consolider l'axe vertébral) entraîne le recrutement de cellules conjonctives pour la formation d'os selon un mécanisme identique à la formation osseuse embryonnaire et au processus naturel de la réparation osseuse par la voie endochondrale, laquelle met en jeu trois types de cellules : les chondroblastes (flèche rouge), les chondrocytes prolifératifs (flèche bleue) et les chondrocytes hypertrophiés (flèche verte). L'observation au microscope des tissus au niveau de l'implant montre les différents stades de maturation de ces cellules cartilagineuses qui guident la formation d'un réseau de travées osseuses.

La nacréine, découverte, en 1996, par l'équipe de Hiroshi Myamoto, de l'Université Kinki, à Wakayama, au Japon, est une enzyme qui reconnaît le calcium. En 1997, Daniel Morse, de l'Université de Santa Barbara, a identifié chez une autre espèce d'ormeau, *Haliotis rufescens*, une protéine fibreuse, la lustrine A, qui confère, avec d'autres, son élasticité à la nacre. Cette propriété résulte de la présence de boucles d'un acide aminé, la glycine, répétées régulièrement dans sa séquence. La lustrine A serait essentielle au scellement des tablettes de cristaux entre elles. De plus, un domaine de la lustrine A présente une homologie avec le collagène de type I, caractéristique de l'os, qui expliquerait la reconnaissance immuno-logique de la matrice organique de *Pinctada maxima* par un vertébré. De surcroît, on a mis en évidence, chez une huître *Pinctada*, la MSI60, une molécule de soutien, et, chez un ormeau, la perlucine, une protéine proche des lectines qui participent à l'adhésion cellulaire.

Une équipe allemande a découvert, chez la moule nacrrière *Perna nobilis*, la mucoperline, une molécule apparentée à une mucine, qui participerait aussi au contrôle de la minéralisation. En effet, les mucines influent sur ce phénomène : par exemple, les mucines gastriques participent à la formation des calculs biliaires, ou bien, les mucines salivaires protègent les dents de la déminéralisation. Ces molécules sont souvent susceptibles de se lier aux ions calcium et certaines influent *in vitro* sur la cristallisation en aragonite.

Enfin, la séquence protéique de la perlustrine, une protéine de la nacre d'un ormeau, ressemble à celle d'une protéine de liaison à l'IGF1 des vertébrés. Les IGF forment une famille de facteurs de croissance conservés au cours de l'évolution : ils sont présents chez des mollusques, des arthropodes, des annélides et chez les vertébrés. La découverte de cette protéine de liaison à l'IGF1 dans la matrice organique de la nacre confirme, d'une part, le rôle

de la matrice organique nacrrière en tant que «réservoir» de facteurs actifs et, d'autre part, la conservation phylogénique de domaines moléculaires dans les matrices minéralisables, des invertébrés jusqu'à l'homme.

Des molécules signal qui expliqueraient pourquoi la nacre régénère l'os ont également été identifiées. Ainsi, nous avons isolé, de l'extrait protéique hydrosoluble de nacre de *Pinctada maxima*, quatre fractions protéiques. Une de ces fractions purifiées, contient des protéines qui favorisent *in vitro* la différenciation des fibroblastes et des cellules stromales de la moelle osseuse chez les mammifères. De plus, ces protéines participent au contrôle de l'apoptose (le suicide cellulaire) des ostéoblastes. Ces protéines actives purifiées sont en cours de séquençage.

L'unité fondamentale

Malgré la complexité des différentes structures élaborées et des mécanismes de contrôle, les biominéralisations ont hérité d'une «unité fondamentale» conservée au cours de l'évolution. La diversité des structures minéralisées de soutien et de réserve de calcium n'est sans doute apparue qu'après l'explosion de la vie animale, au Cambrien, il y a 544 millions d'années. Cependant, tous les composants de la machinerie nécessaire au processus de minéralisation étaient disponibles dès la fin du Précambrien, dans des tissus mous non spécialisés. Les premières matrices extracellulaires ancestrales auraient acquis, à la suite d'adaptations successives, la compétence de se minéraliser et de contrôler ce phénomène, l'orientant vers différentes «applications», tels la coquille des mollusques ou le squelette des vertébrés.

Ces processus de biominéralisation ont évolué grâce à un contrôle de plus en plus fin, assuré notamment par les cytokines et par les hormones circulantes. Les preuves s'accumulent pour confirmer l'hypothèse de la conservation de domaines moléculaires au cours de l'évolution des biominéralisations, la plus étonnante étant l'activité ostéogène, chez les mammifères, de certaines protéines de la nacre de *Pinctada*.

Ces découvertes récentes nous offrent aujourd'hui une batterie d'outils biologiques performants ; elles ouvrent un large champ de recherche sur les mécanismes régissant les biominéralisations. Les succès obtenus en régénération osseuse à l'aide de la nacre et la connaissance des molécules responsables de cette activité sont les premiers pas vers la mise au point de biomatériaux efficaces et novateurs en chirurgie réparatrice osseuse.

Évelyne LOPEZ, Sophie BERLAND et Sandrine BORZEIX mènent leurs recherches au Laboratoire de physiologie générale et comparée, associé au CNRS, au Muséum national d'histoire naturelle.

M. LAMGHARI, P. ANTONIETTI, S. BERLAND, A. LAURENT et E. LOPEZ, *Arthrodesis of lumbar spine transverse processes using nacre in rabbit*, in *Journal of Bone and Mineral Research*, vol. 16 (12), pp. 2232-2237, 2001.

L. PEREIRA MOURIÈS, M.J. ALMEIDA, C. MILET, S. BERLAND et E. LOPEZ, *Bioactivity of nacre water-soluble organic matrix from the bivalve mollusk Pinctada maxima in three mammalian cell types: fibroblasts, bone marrow stromal cells and osteoblasts*, in *Comparative Biochemistry and Physiology, Part B* 132, pp. 217-229, 2002.

C'est du billard!

DENNIS SHASHA

**«Bien viser pour bien ricocher»,
telle est la devise d'Eddie Felson.**

Dans une suite de *L'arnaqueur* et de *La couleur de l'argent*, Eddie Felson, alias Paul Newman, est de retour. Il est cette fois-ci aux prises avec Massachusetts Lanky, le fils de Minnesota Fats, le joueur humilié dans le premier épisode. Le désir de vengeance est héréditaire et son rejeton, versé dans les mathématiques, est bien décidé à laver l'affront qui entache l'honneur de la famille. Aussi, lors d'un tournoi, il propose à Eddie quelque variante de leur jeu préféré, le billard américain.

Selon les nouvelles règles, la table a trois mètres de longueur et un mètre de largeur. Elle n'est percée que de quatre trous, un à chaque coin. Par ailleurs, elle est un sommet de perfection, car lorsqu'une boule heurte une bande, l'angle de réflexion est exactement égal à l'angle d'incidence. Enfin, la table est orientée de façon à ce que la largeur soit dans l'axe Nord-Sud et la longueur dans l'axe Est-Ouest. La position de chaque boule est repérée par ses coordonnées (x ; y) dans un repère dont l'origine est le coin Sud-Ouest de la table.

Eddie doit envoyer une boule, placée au point (2 ; 0), dans le trou du coin Sud-Ouest — au point (0 ; 0) —, mais une autre boule, qu'il doit éviter, empêche un tir direct. La solution la plus simple est de faire rebondir la boule une fois sur la bande opposée (voir la figure a). Pour cela, il suffit de frapper la boule vers le Nord-Ouest selon une trajectoire de pente égale à -1 : la boule heurte la bande au point (1 ; 1) et rejoint le trou. Il est aussi facile d'envoyer la boule dans le trou après trois rebonds (voir la figure b) : la boule suit une trajectoire de pente égale à -2 et passe successivement par les points (1,5 ; 1), (1 ; 0) et (0,5 ; 1).

Toutefois, Massachusetts Lanky veut défier Eddie Felson : il lui propose d'atteindre le trou après exactement six rebonds, et il est tellement sûr de son fait qu'il veut parier une forte somme qu'Eddie n'y parviendra pas. Selon quelle pente Eddie doit-il envoyer sa boule pour mettre en échec le fils de son ancien rival ?

La solution de l'énigme sera donnée le mois prochain, et sera bientôt disponible sur le site Internet : www.pourlascience.com

Solution du problème d'énigmaphys du numéro 299

Quand la probabilité de décupler le capital investi de chaque société est p , la probabilité Q_k qu'exactly k sociétés réussissent parmi n sociétés est égale à :

$$C_n^k p^k (1-p)^{(n-k)} \text{ où } C_n^k \text{ est égal à } \frac{n!}{(n-k)!k!}$$

Aussi, la probabilité qu'au moins k sociétés réussissent est égale à $Q_k + Q_{k+1} + \dots + Q_{(n-1)} + Q_n$. Quand n est égal à 10 et k à 7, Q_7 est égal à 0,1298337 ; Q_8 est égal à 0,2758967 ; Q_9 est égal à 0,3474254 ; Q_{10} est égal à 0,1968744. La probabilité d'au moins sept succès est la somme de ces quatre probabilités, 0,9500302.

Dès lors, investissez dans 10 sociétés à raison de 1,43 million d'euros pour chacune, vos clients ont plus de 95 pour cent de chances de récupérer $7 \times 14,3$, soit 100,1 millions d'euros. Vous avez mis en réserve 2,7 millions d'euros.

