

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

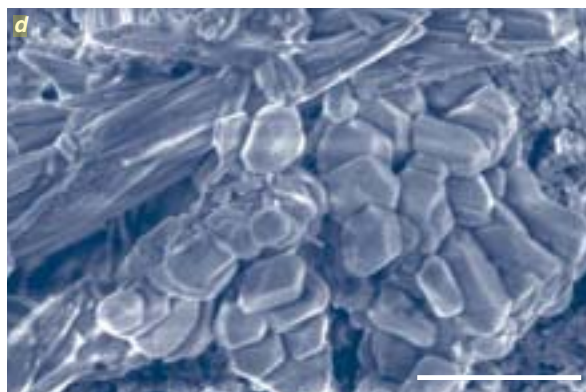
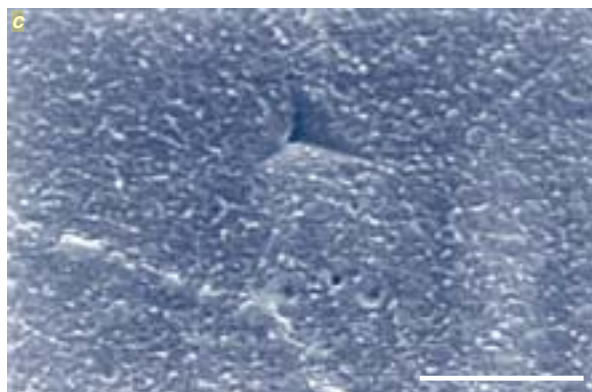
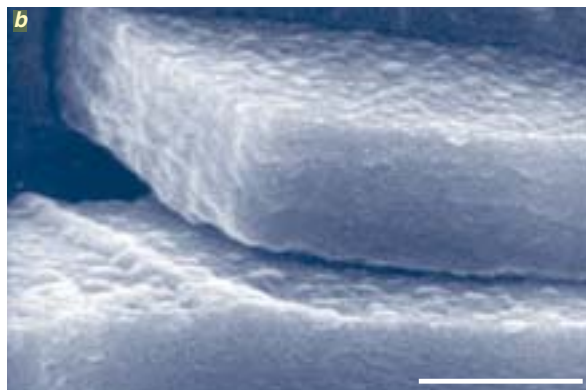
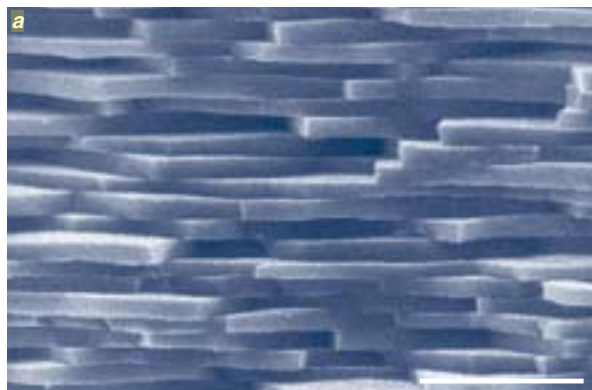
Mâchoires nacrées

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-

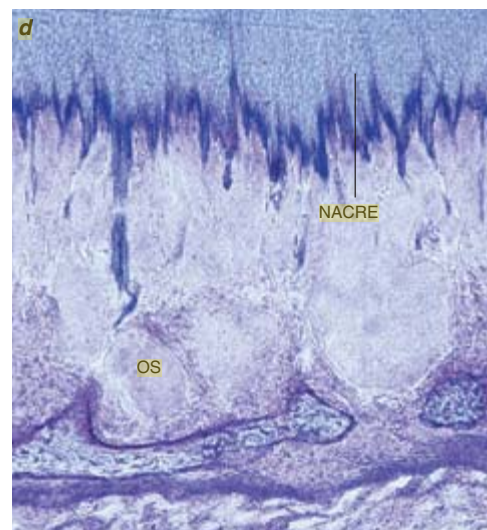
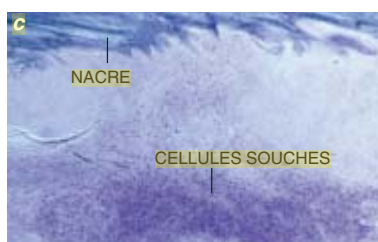
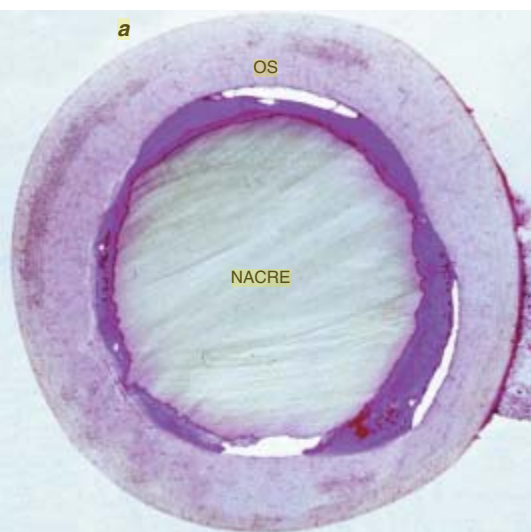
tion de la quantité d'ARN messagers codant des protéines essentielles de la matrice osseuse, tels le collagène de type I, l'ostéocalcine et l'ostéopontine. On observe à la surface de l'implant de nacre et dans l'environnement immédiat, une accumulation des éléments constitutifs de l'os, tels les ions 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'ostéogenèse, 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?

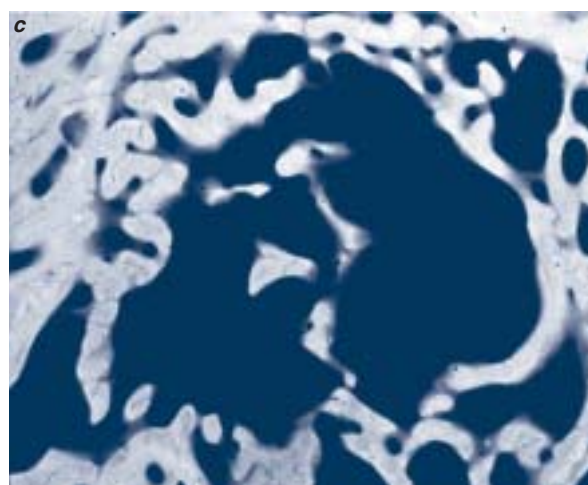
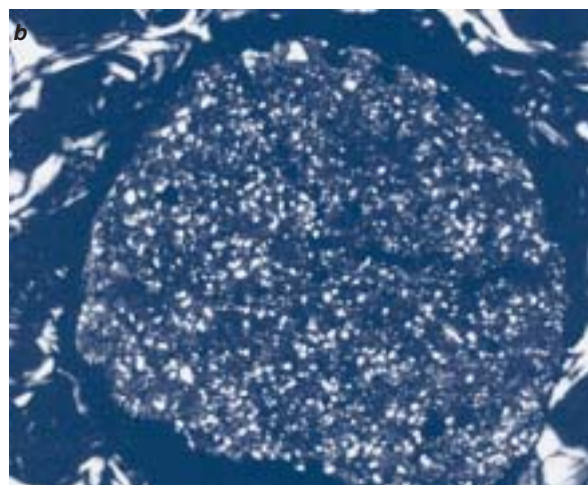
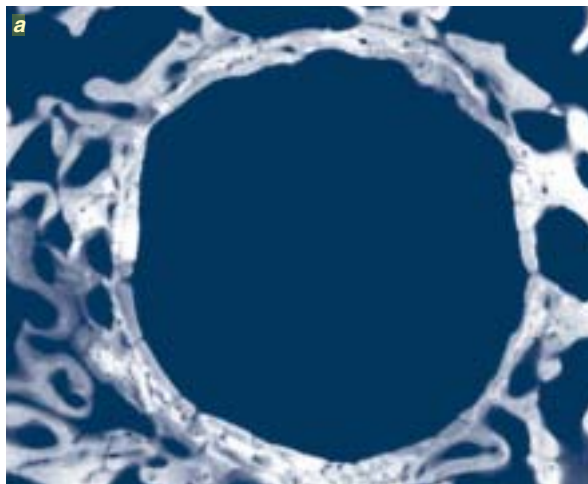
Association de bienfaiteurs

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.