

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?

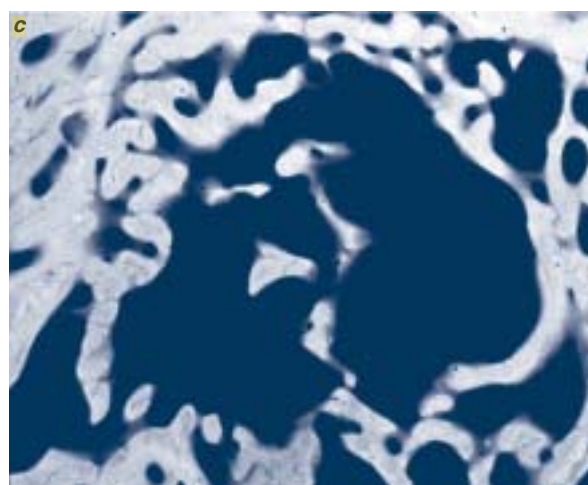
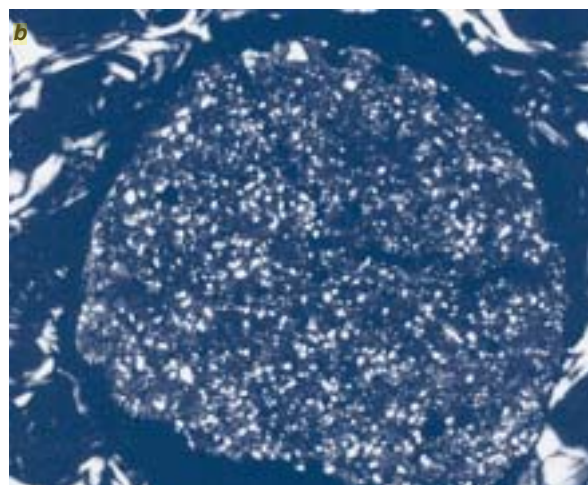
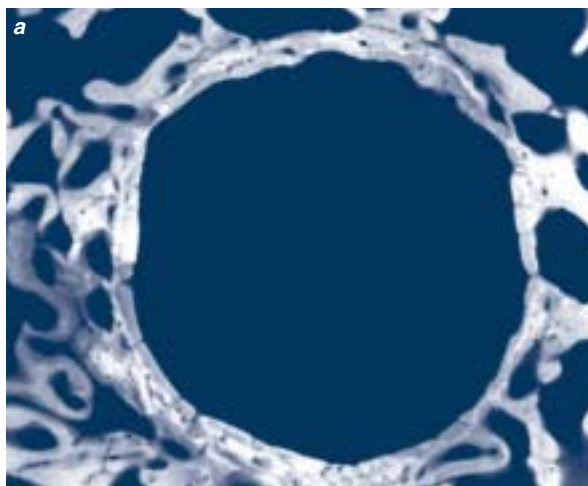
Association de bienfaiteurs

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?

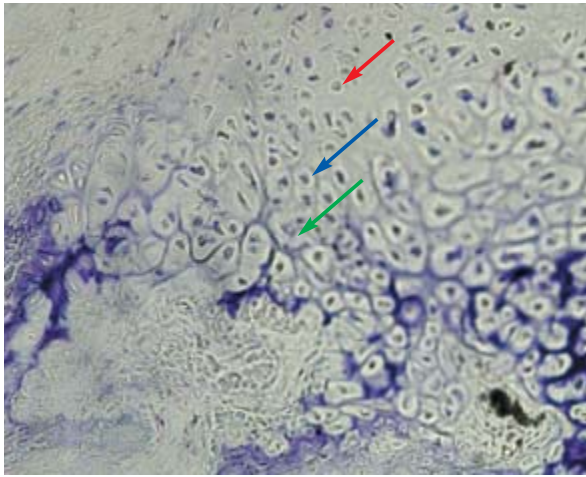
La matrice organique de l'os est constituée de protéines fibreuses, tel le collagène de type I, et de protéines non fibreuses, qui marquent les étapes de la minéralisation de l'os. Ces protéines non fibreuses, produites par les ostéoblastes, sont principalement des cytokines, tels l'ostéocalcine, l'ostéopontine, 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'énigm Maths 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.

