

**PROJET DE COOPERATION SCIENTIFIQUE ET TECHNOLOGIQUE
INTER-UNIVERSITAIRE**

**ENTRE L'UNIVERSITE DE NICE SOPHIA ANTIPOLIS
ET L'UNIVERSITE D'AIX-MARSEILLE**

ENTRE

- Le Laboratoire Motricité Humaine, Education, Sport, Santé (LAMHESS) de l'Université de Nice Sophia Antipolis, représenté Pr. Jeanick Brisswalter, Directeur

ET

- L'Institut des Sciences du Mouvement, Etienne-Jules Marey (UMR CNRS 7287) de l'Université d'Aix-Marseille, représenté par Pr. Eric Berton, Directeur

AVENANT SCIENTIFIQUE

**Thématique
« Os en croissance »**

1- Positionnement scientifique

Ce projet de coopération s'inscrit dans le cadre de l'étude de « l'os en croissance » développée par l'équipe de Patrick Chabrand (PU) qui dirige l'équipe scientifique « Groupe Interdisciplinaire en Biomécanique Ostéoarticulaire et Cardiovasculaire » au sein de l'institut des Sciences du Mouvement Etienne-Jules Marey, UMR CNRS 7287. La thématique « Os en croissance » de cette équipe a pour objectif de déterminer les caractéristiques mécaniques de l'os sain et en cours de régénération chez l'enfant afin de modéliser des patients virtuels bio-fidèles qui pourraient alors être utilisés pour orienter les choix en thérapeutique. La caractérisation de l'os en croissance est abordée d'une manière pluridisciplinaire (approche mécanique, approche biologique) au travers de différents modèles (ex : régénération de très gros volume osseux, distraction ostéogénique...). La collaboration entre le laboratoire « Motricité Humaine Education Santé » et l'UMR CNRS 7287 porte précisément sur le modèle de la distraction ostéogénique et consiste à étudier les effets des contraintes mécaniques sur l'évolution et la nature du cal au cours des différentes phases de la distraction ostéogénique de l'os long et les mécanismes moléculaires de mécanotransduction impliqués.

2- Objectifs

La distraction ostéogénique consiste en l'allongement osseux progressif du membre inférieur au moyen d'un fixateur externe. Il s'agit d'une technique chirurgicale destinée à corriger les inégalités de membres, les petites tailles ou encore les fractures compliquées avec perte de substance osseuse. Cette technique implique une ostéotomie à l'issue de laquelle l'activation progressive et répétée du fixateur externe permet de stimuler la formation osseuse

parallèlement au vecteur de distraction. Malgré les progrès réalisés, l'allongement progressif par fixateur externe reste à l'heure actuelle une procédure complexe qui nécessite un traitement long, responsable de nombreuses complications articulaires, osseuses et infectieuses. Le développement de nouveaux protocoles qui permettrait de diminuer le temps de traitement et de limiter les complications constitue donc un enjeu clinique important (Blondel et coll., 2009 ; Lampasi et coll., 2009).

De nombreuses études suggèrent que la formation de l'os pendant la phase de distraction active est directement régulé par les contraintes mécaniques subies par le cal (Morgan et coll., 2006 ; Amir et coll., 2009). Toutefois, les mécanismes par lesquels les contraintes mécaniques stimulent la formation de l'os ne sont pas encore élucidés. Dans ce contexte, nous proposons :

- 1- d'étudier l'implication de l'une des voies de mécanotransduction, dépendante des intégrines (récepteurs transmembranaires capables de transmettre les déformations de la matrice extracellulaire aux cellules), au cours du processus de distraction ostéogénique.
- 2- de caractériser l'évolution des propriétés mécaniques du cal au cours des différentes phases de la distraction ostéogénique et de les corrélérer avec les caractéristiques tissulaires.
- 3- d'étudier in vitro les effets des différents types de stimuli mécaniques sur les différents types cellulaires présentes dans le cal.

Amir, L. R.; Everts, V., and Bronckers, A. L. Bone regeneration during distraction osteogenesis. *Odontology*. 2009 Jul; 97(2):63-75.

Blondel, B.; Launay, F.; Glard, Y.; Jacopin, S.; Jouve, J. L., and Bollini, G. Limb lengthening and deformity correction in children using hexapodal external fixation: preliminary results for 36 cases. *Orthop Traumatol Surg Res*. 2009 Oct; 95(6):425-30. Notes: GENERAL NOTE:.nlm:Original DateCompleted: 20100201

Lampasi, M.; Launay, F.; Jouve, J. L., and Bollini, G. Femoral lengthening over elastic stable intramedullary nailing in children using the monolateral external fixator. *Chir Organi Mov*. 2009 Sep; 93(2):57-64.

Morgan, E. F.; Longaker, M. T., and Carter, D. R. Relationships between tissue dilatation and differentiation in distraction osteogenesis. *Matrix Biol*. 2006 Mar; 25(2):94-103.

3- Mise en œuvre

Différentes études chez l'animal ont décrit, d'un point de vue histologique, les modifications tissulaires associées à la synthèse osseuse au cours du processus de distraction ostéogénique (Yasui et coll., 1997 ; Sato et coll., 1998). Toutefois, les mécanismes par lesquels les sollicitations mécaniques stimulent les différents types de cellules du cal et donc, à terme, la formation de l'os ne sont pas encore élucidés. Quelques travaux réalisés dans un modèle animal de distraction mandibulaire suggèrent qu'une mécanotransduction médiée par des récepteurs de type « intégrines » est impliquée dans la synthèse osseuse induite par la distraction (Tong et coll., 2002 ; Rhee et coll., 2005 ; Rhee et coll., 2006). A ce jour, aucune étude ne s'est intéressée à l'implication de voies de mécanotransduction dépendantes des intégrines au cours de la distraction active d'un os long. Dans ce contexte, nous faisons l'hypothèse qu'une activation des intégrines est directement impliquée dans les processus cellulaires (différenciation, prolifération, synthèse de matrice extracellulaire) responsables de l'ostéogénèse. Pour cela, nous proposons d'étudier, au cours des différentes phases de distraction, la relation entre l'expression de protéines associées à l'activation des voies de transduction dépendantes des intégrines, les

types de population cellulaire présentes dans le cal, et l'expression de molécules témoignant du processus de synthèse osseuse.

Dans cette étude, plusieurs colorations classiques (hématoxiline & éosine, trichrome de Goldner, von Kossa, Safranin O/fast green) sont envisagées pour mettre en évidence la minéralisation du tissu, les populations de cellule et la nature du tissu (os/cartilage) formé. Par ailleurs, l'étude histologique sera complétée par une étude immunohistochimique et histoenzymatique. Différents types de marqueurs sont envisagés afin de mettre en évidence les types cellulaires présentes dans le cal, l'implication des voies de transduction médiée par les intégrines et la formation d'os. Cette étude implique d'être conduite chez l'animal.

- Pour caractériser l'évolution des propriétés mécaniques du cal au cours des différentes phases de la distraction ostéogénique et de les corrélérer avec les caractéristiques tissulaires, les échantillons prélevés sur des animaux sacrifiés à différentes dates, seront analysés par scanner, méthode ultrasonore, micro-indentation et traction-compression. Les essais seront réalisés sur les échantillons de tissus régénérés en comparaison avec l'autre patte saine.

- Pour étudier in vitro les effets des différents types de stimuli mécaniques sur les différents types cellulaires présentes dans le cal, un modèle de bioréacteur pourra être utilisé pour fournir les données d'entrée du modèle de comportement cellulaire développé par l'équipe.

Rhee, S. T. and Buchman, S. R. Colocalization of c-Src (pp60src) and bone morphogenetic protein 2/4 expression during mandibular distraction osteogenesis: in vivo evidence of their role within an integrin-mediated mechanotransduction pathway. *Ann Plast Surg.* 2005 Aug; 55(2):207-15.

Rhee, S. T.; El-Bassiony, L., and Buchman, S. R. Extracellular signal-related kinase and bone morphogenetic protein expression during distraction osteogenesis of the mandible: in vivo evidence of a mechanotransduction mechanism for differentiation and osteogenesis by mesenchymal precursor cells. *Plast Reconstr Surg.* 2006 Jun; 117(7):2243-9.

Sato, M.; Yasui, N.; Nakase, T.; Kawahata, H.; Sugimoto, M.; Hirota, S.; Kitamura, Y.; Nomura, S., and Ochi, T. Expression of bone matrix proteins mRNA during distraction osteogenesis. *J Bone Miner Res.* 1998 Aug; 13(8):1221-31.

Tong, L.; Buchman, S. R.; Ignelzi, M. A. Jr; Rhee, S., and Goldstein, S. A. Focal adhesion kinase expression during mandibular distraction osteogenesis: evidence for mechanotransduction. *Plast Reconstr Surg.* 2003 Jan; 111(1):211-22; discussion 223-4.

Yasui, N.; Sato, M.; Ochi, T.; Kimura, T.; Kawahata, H.; Kitamura, Y., and Nomura, S. Three modes of ossification during distraction osteogenesis in the rat. *J Bone Joint Surg Br.* 1997 Sep; 79(5):824-30.

4- Chronologie

Dans un premier temps, des pré-expérimentations vont permettre de déterminer le choix du modèle de distraction. Les modèles animaux de distraction ostéogénique au niveau du membre inférieur sont réalisés dans plusieurs espèces notamment chez le lapin et chez le rat. Toutefois, le modèle du rat s'avère le plus utilisé lorsqu'il s'agit d'étudier les mécanismes cellulaires et moléculaires qui sous-tendent le processus d'ostéogénèse. La confrontation de notre revue

bibliographique avec celle des cliniciens permettra de déterminer le choix du modèle de distraction.

Concernant l'étude histologique et celle de l'implication de la voie de transduction dépendante des intégrines, il s'agit, en premier lieu, de mettre au point les techniques de traitement des échantillons osseux (choix des méthodes de fixation, d'inclusion, de coloration et de marquage immunologique). Les techniques retenues seront alors appliquées aux échantillons d'intérêt.

Concernant les études biomécaniques il s'agit de développer un modèle permettant de caractériser l'architecture et les propriétés matérielles du régénérat afin d'en déterminer la qualité et les propriétés à rupture.

5- Moyens

Ce projet réunit des compétences complémentaires apportées par des cliniciens (Equipe GIBOC, UMR 7287, Université d'Aix-Marseille), des biomécaniciens (Equipe GIBOC, UMR 7287, Université d'Aix-Marseille) et des physiologistes (Sandrine Roffino, MCU, Laboratoire « Motricité Humaine Education Santé », Université de Nice Sophia Antipolis). Des enseignants-chercheurs de l'UFR de Pharmacie de l'Université d'Aix-Marseille collaborent également à ce projet.

Les pré-expérimentations seront financées par des crédits propres des laboratoires. Dès l'obtention de premiers résultats significatifs, les différents établissements impliqués dans le projet présenteront conjointement des demandes de fonds aux organismes de financement.

6- Durée

Ce présent avenant est signé pour une durée d'un an, renouvelable.

Fait en 4 exemplaires, le 24 avril 2012

Pr. Frédérique VIDAL
Présidente de l'Université
Nice Sophia Antipolis



Pr. Yvon BERLAND
Président de l'Université d'Aix-Marseille

Pr. Jeanick BRISSWALTER
Directeur du LAMHESS

Pr. Eric BERTON
Directeur de l'ISM