

## Construction in Vitro du Tissus Osseux

### 1) Gel aux propriétés modifiées :

L'idée du peptide autoassemblant de *Mata et al*, est une idée très proche du modèle naturel. Le peptide doit toutefois être modifié pour en parfaire la structure :

Il faut utiliser : Proline + Hydroxyproline + Glycine à la place de l'Aspartate + Leucine, sans oublier la phosphosérine (Fig 6).

- Une chose importante avec la phosphosérine est qu'elle rentre très bien dans la structure de l'hydroxyapatite. Probablement la raison pour laquelle l'interaction *in vivo* du peptide avec l'hydroxyapatite ressemble de très près à celle du collagène dans l'os naturel.
- La proline et l'hydroxyproline sont dotés de chaînes latérales favorisant l'encombrement stérique et la formation d'hélice, ce qui n'est tellement le cas pour la leucine combinée à l'aspartate ou même la leucine combinée à la lysine dans un autre de leurs modèles qui fonctionne moins bien.
- L'utilisation des mêmes motifs tout le long de la chaîne pourrait très bien régler le problème de la longueur du peptide, car tout ou la quasi-totalité des polymères retrouvés dans la nature doivent leur longueur à la succession du même motif répétitif. La courte chaîne obtenue par *Mata et al* est probablement due à l'énergie libre à l'intérieur de la chaîne de résidus neutres et chargés.

Il faut aussi régler le problème de son épaisseur. Pour cela, à défaut de synthétiser une triple hélice, on pourrait facilement synthétiser une double hélice par un processus chimique : L'idée est simple : une boucle initiatrice, comme celles rencontrées dans l'ARN de transfert. L'idée est de synthétiser un diacide symétrique à 2 extrémités COO<sup>-</sup>, sens de propagation d'une chaîne peptidique ; Et on initie la formation du dipeptide. On s'attend alors à ce que les deux chaînes s'entrelacent pour former une double hélice.

### 2) Hybridation à l'hydroxyapatite

De nombreuses techniques d'assemblage sont possibles (Venkatesan et Kim, 2010) ; il faudrait donc les essayer les une après les autres pour évaluer la plus efficace. Toutefois, la méthode de solvatisation suivi du séchage sous vide pourrait être la meilleure étant donné que la présence d'eau intrinsèque au gel. Il s'agit de mixer les dipeptides à une quantité saturante d'hydroxyapatite, le tout immergé dans de l'eau. Pendant la solvatisation par l'eau, l'hydroxyapatite s'agglutinera sur le dipeptide, chassant les molécules d'eau autour d'eux, pour une meilleure enthalpie libre (Leeuw, 2010). Après le séchage sous vide, le complexe résiduel sera isotonique, propice à toute activité cellulaire. Toutefois, il est connu et aussi connu pour cristalliser l'hydroxyapatite, ce qui ne sera pas un problème (Mata et al, 2010).

Il est possible de renforcer la structure de l'hydroxyapatite avant l'hybridation. En effet, la pression élastique des cristaux de carbonate apatites naturels dans l'os sont autour de 40 Gpa, tandis que ceux rencontrés en milieu géologiques ou synthétiques sont autour de 120 Gpa (Beniash, 2011). Ceci est dû au fait qu'ils sont monosubstitués par le fluor ou le chlore. L'incorporation de ces halogènes semble donc renforcer sa structure ; À titre d'information, le fluor prévient les caries dentaires, raison pour laquelle il est incorporé dans les pâtes et l'eau à boire (Leeu, 2010).

Le gel sera donc préparé, et des protéines adhésives y seront ajoutées.

### 3) Culture cellulaire

L'idée d'introduire des cultures cellulaires dans le gel sera effectuée pour faciliter l'intégration de l'os artificiel à la signalisation de l'organisme (ex : fixation de muscles) ; Pour cela, Il faut effectuer une greffe de cellules osseuses (ostéoblastes et ostéoclastes) provenant du patient en question, avec l'introduction d'hormones, de facteurs de croissance cités plus haut, pour les amener à se dupliquer en grande quantité et de VEGF pour stimuler leur vascularisation.

### 4) Le Support 3D:

Ce sera un support en verre 3D à l'intérieur duquel le gel sera coulé. L'imagerie médicale du patient simulera la structure osseuse défectueuse qui a besoin d'être changée. Le verre sera donc manufacturé selon les dimensions de l'os avec un petit trou pour pouvoir y couler le gel. Une fois le gel est dur, le verre est brisé et on récupère l'os dans sa structure 3D.