



**HAL**  
open science

**MODELE BIO-TRIBOLOGIQUE DES  
ARTICULATIONS. ROLE MECANIQUE ET  
PHYSICOCHIMIQUE DES ASSEMBLAGES  
MOLECULAIRES DU FLUIDE SYNOVIAL.**

Ana-Maria Trunfio

► **To cite this version:**

Ana-Maria Trunfio. MODELE BIO-TRIBOLOGIQUE DES ARTICULATIONS. ROLE MECANIQUE ET PHYSICOCHIMIQUE DES ASSEMBLAGES MOLECULAIRES DU FLUIDE SYNOVIAL.. Sciences du Vivant [q-bio]. INSA de Lyon, 2002. Français. NNT : . tel-00137339

**HAL Id: tel-00137339**

**<https://theses.hal.science/tel-00137339>**

Submitted on 19 Mar 2007

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

## Thèse

# Modèle bio-tribologique des articulations. Rôle mécanique et physicochimique des assemblages moléculaires du fluide synovial.

présentée devant  
L'Institut National des Sciences Appliquées de Lyon

pour obtenir  
le grade de docteur

Ecole doctorale : MEGA

Spécialité : Biomécanique

par

**Ana-Maria TRUNFIO SFARGHIU**

Bio-Ingénieur de l'Université de Iasi, Roumanie

Soutenue le 8 decembre 2006 devant la Commission d'examen

---

BERTHIER Yves	DR	INSA Lyon	Directeur de Thèse
CARRET Jean-Paul	Professeur	UCB Lyon	Examineur
CHARLAIX Elisabeth	Professeur	UCB Lyon	Examineur
KENNEDY Francis	Professeur	DC Hanover	Rapporteur
LAGARDE Michel	Professeur	INSA Lyon	Examineur
MEURISSE Marie-Hélène	MdC	INSA Lyon	Directeur de Thèse
PEREZ Eric	DR	ENS Paris	Rapporteur
TICHY John	Professeur	RPI New York	Examineur

---



SIGLE	ECOLE DOCTORALE	NOM ET COORDONNEES DU RESPONSABLE
	<b><u>CHIMIE DE LYON</u></b>  Responsable : M. Denis SINOÛ	M. Denis SINOÛ Université Claude Bernard Lyon 1 Lab Synthèse Asymétrique UMR UCB/CNRS 5622 Bât 308 2 <sup>ème</sup> étage 43 bd du 11 novembre 1918 69622 VILLEURBANNE Cedex Tél : 04.72.44.81.83 Fax : 04 78 89 89 14 <a href="mailto:sinou@univ-lyon1.fr">sinou@univ-lyon1.fr</a>
<b>E2MC</b>	<b><u>ECONOMIE, ESPACE ET MODELISATION DES COMPORTEMENTS</u></b>  Responsable : M. Alain BONNAFOUS	M. Alain BONNAFOUS Université Lyon 2 14 avenue Berthelot MRASH M. Alain BONNAFOUS Laboratoire d'Economie des Transports 69363 LYON Cedex 07 Tél : 04.78.69.72.76 <a href="mailto:Alain.bonnafous@ish-lyon.cnrs.fr">Alain.bonnafous@ish-lyon.cnrs.fr</a>
<b>E.E.A.</b>	<b><u>ELECTRONIQUE, ELECTROTECHNIQUE, AUTOMATIQUE</u></b>  M. Daniel BARBIER	M. Daniel BARBIER INSA DE LYON Laboratoire Physique de la Matière Bâtiment Blaise Pascal 69621 VILLEURBANNE Cedex Tél : 04.72.43.64.43 Fax 04 72 43 60 82 <a href="mailto:Daniel.Barbier@insa-lyon.fr">Daniel.Barbier@insa-lyon.fr</a>
<b>E2M2</b>	<b><u>EVOLUTION, ECOSYSTEME, MICROBIOLOGIE, MODELISATION</u></b> <a href="http://biomserv.univ-lyon1.fr/E2M2">http://biomserv.univ-lyon1.fr/E2M2</a>  M. Jean-Pierre FLANDROIS	M. Jean-Pierre FLANDROIS UMR 5558 Biométrie et Biologie Evolutive Equipe Dynamique des Populations Bactériennes Faculté de Médecine Lyon-Sud Laboratoire de Bactériologie BP 1269600 OULLINS Tél : 04.78.86.31.50 Fax 04 72 43 13 88 <a href="mailto:E2m2@biomserv.univ-lyon1.fr">E2m2@biomserv.univ-lyon1.fr</a>
<b>EDIIS</b>	<b><u>INFORMATIQUE ET INFORMATION POUR LA SOCIETE</u></b> <a href="http://www.insa-lyon.fr/ediis">http://www.insa-lyon.fr/ediis</a>  M. Lionel BRUNIE	M. Lionel BRUNIE INSA DE LYON EDIIS Bâtiment Blaise Pascal 69621 VILLEURBANNE Cedex Tél : 04.72.43.60.55 Fax 04 72 43 60 71 <a href="mailto:ediis@insa-lyon.fr">ediis@insa-lyon.fr</a>
<b>EDISS</b>	<b><u>INTERDISCIPLINAIRE SCIENCES-SANTE</u></b> <a href="http://www.ibcp.fr/ediss">http://www.ibcp.fr/ediss</a> M. Alain Jean COZZONE	M. Alain Jean COZZONE IBCP (UCBL1) 7 passage du Vercors 69367 LYON Cedex 07 Tél : 04.72.72.26.75 Fax : 04 72 72 26 01 <a href="mailto:cozzone@ibcp.fr">cozzone@ibcp.fr</a>
	<b><u>MATERIAUX DE LYON</u></b> <a href="http://www.ec-lyon.fr/sites/edml">http://www.ec-lyon.fr/sites/edml</a>  M. Jacques JOSEPH	M. Jacques JOSEPH Ecole Centrale de Lyon Bât F7 Lab. Sciences et Techniques des Matériaux et des Surfaces 36 Avenue Guy de Collongue BP 163 69131 ECULLY Cedex Tél : 04.72.18.62.51 Fax 04 72 18 60 90 <a href="mailto:Jacques.Joseph@ec-lyon.fr">Jacques.Joseph@ec-lyon.fr</a>
<b>ath IF</b>	<b><u>MATHEMATIQUES ET INFORMATIQUE FONDAMENTALE</u></b> <a href="http://www.ens-lyon.fr/MathIS">http://www.ens-lyon.fr/MathIS</a>  M. Franck WAGNER	M. Franck WAGNER Université Claude Bernard Lyon1 Institut Girard Desargues UMR 5028 MATHEMATIQUES Bâtiment Doyen Jean Braconnier Bureau 101 Bis, 1 <sup>er</sup> étage 69622 VILLEURBANNE Cedex Tél : 04.72.43.27.86 Fax : 04 72 43 16 87 <a href="mailto:wagner@desargues.univ-lyon1.fr">wagner@desargues.univ-lyon1.fr</a>
<b>MEGA</b>	<b><u>MECANIQUE, ENERGETIQUE, GENIE CIVIL, ACOUSTIQUE</u></b> <a href="http://www.lmfa.ec-lyon.fr/autres/MEGA/index.html">http://www.lmfa.ec-lyon.fr/autres/MEGA/index.html</a>  M. François SIDOROFF	M. François SIDOROFF Ecole Centrale de Lyon Lab. Tribologie et Dynamique des Systèmes Bât G8 36 avenue Guy de Collongue BP 163 69131 ECULLY Cedex Tél : 04.72.18.62.14 Fax : 04 72 18 65 37 <a href="mailto:Francois.Sidoroff@ec-lyon.fr">Francois.Sidoroff@ec-lyon.fr</a>

INSTITUT NATIONAL DES SCIENCES APPLIQUEES DE LYON





## Résumé

Le but de ce travail est l'analyse du rôle des assemblages moléculaires du fluide synovial dans le fonctionnement tribologique d'une articulation naturelle saine et prothésée. Pour cela un modèle ex vivo réaliste reproduisant les caractéristiques mécaniques et physicochimiques d'une articulation naturelle a été conçu et exploité. Ce modèle reconstitue ex vivo les propriétés mécaniques et physico-chimiques des cartilages articulaires en utilisant un matériau polymérique de type hydrogel.

Le modèle reconstitue aussi ex vivo les assemblages moléculaires du fluide synovial (multicouches lipidiques et vésicules du gel synovial) en utilisant des techniques de physique nanostructurale comme le dépôt lipidique par éclatement de vésicules et par la co-adsorption des micelles, la fabrication des liposomes et la microscopie de force atomique. L'évolution de ces assemblages moléculaires est visualisée in situ, au cours d'essais de frottement, par microscopie optique en fluorescence obtenue avec des marqueurs moléculaires.

Les résultats expérimentaux corrélés avec un modèle numérique des multicouches lipidiques (dynamique moléculaire) permettent de localiser où et comment s'effectue le glissement dans les assemblages moléculaires de la synovie ce qui contribue à expliquer l'origine des valeurs de frottement mesurées. Par exemple, si le glissement se localise dans le gel synovial le coefficient de frottement est de 0.15, alors qu'il n'est que de 0.0015 lorsqu'il se localise dans les multicouches lipidiques.

Sur le plan appliqué, d'autres résultats montrent que l'hydrogel, simulant le cartilage, favorise la formation et le maintien des multicouches lipidiques, ce qui n'est pas le cas avec l'acier et le polyéthylène des implants. Cela permet d'expliquer les différences de comportement tribologique dans les deux cas. Enfin, la mise en évidence d'une interdépendance entre les propriétés mécaniques et les propriétés physicochimiques de l'hydrogel a été exploitée pour comprendre des phénomènes mécaniques (variation du module d'élasticité, usure....) liées à l'évolution des pathologies.



*A mon mari, Romain, qui m'a motivée  
pour venir faire la thèse en France et qui  
m'a soutenue tout au long de cette  
période.*



## Remerciements

*La réussite appartient à tout le monde.  
C'est au travail d'équipe qu'en revient le mérite. [Franck Piccard]*

*Le travail d'équipe est essentiel. En cas  
d'erreur, ça permet d'accuser quelqu'un  
d'autre. [Bernard Menez]*

Ce travail a été réalisé au sein du Laboratoire de Mécanique des Contacts et des Solides (LaMCoS) de l'INSA Lyon. Je remercie Alain Combescure de m'y avoir accueillie.

J'exprime mes sincères remerciements à l'ensemble des examinateurs : à Jean-Paul Carret pour avoir présidé le jury, à Francis Kennedy et à Eric Perez qui ont accepté de rapporter ce travail, à Élisabeth Charlaix, John Thichy et Michel Lagarde pour l'intérêt qu'ils ont porté à cette thèse.

Je remercie tous ceux qui ont contribué à ma formation, qui m'ont fait confiance et m'ont poussée à élargir mes connaissances hors des frontières de mon pays. En ce sens je tiens à remercier particulièrement :

- Emil Budescu, Anca Mitulescu, François Lavaste, David Mitton grâce à qui j'ai réalisé mon premier contact avec la recherche française (ENSAM Paris),

- Dumitru Olaru, Claude Rumelhart et Hélène Follet qui m'ont soutenue et fait confiance dans mon projet d'échange Erasmus entre l'Université Technique de Iasi et l'INSA Lyon,

- Florin Topolniceanu, Gheorghe Iacob, Mircea Dan Bucevschi, Stelian Maier et Olivian Ciobanu qui ont eu une forte influence dans ma formation et qui m'ont donné la passion pour la recherche biomédicale.

Je remercie particulièrement Yves Berthier pour son soutien dans l'obtention de la bourse MENRT, la patience qu'il a eue face aux problèmes administratifs et tout son soutien tout au long de la thèse. De plus j'ai eu le privilège de bénéficier de son encadrement pour les travaux de ma thèse, encadrement très bien complété par Marie-Hélène Meurisse. Cet encadrement a été d'un environnement exceptionnel, d'une grande qualité scientifique dans une ambiance toujours agréable et stimulante.

De plus, ce fut un réel plaisir de travailler dans l'équipe TMI, dans laquelle j'ai bénéficié toujours d'une ambiance très sympathique aussi bien du côté scientifique que humain. Ce fut pour moi un véritable plaisir de travailler avec ces différentes personnes :

- Claire Vayssiere et Claude Godeau toujours souriants et prêts à me donner des conseils pratiques qui en termes expérimentaux m'ont servi beaucoup. Je m'excuse pour tous mes changements de plans expérimentaux qui ont donné d'avantage de travail à Claude qui a dû refaire beaucoup de pièces pour le dispositif expérimental. Ces changements ont continué même à la maison où mon mari, passionné par l'usinage, a dû, lui aussi, refaire des pièces,
- Les collègues de bureau : Devaux Nicolas, Fabienne Wiltord et Hervé Dormois qui au cours de la thèse m'ont très bien acceptée et ont contribué à l'atmosphère sympathique du travail,
- Nathalie Bouscharain, Philippe Vergne, Ivan Iordanoff, Descartes Sylvie, Marie-Christine Baietto, Nicolas Fillot, Aurélien Saulot, qui à côté de mes encadrants de thèse m'ont aidée à découvrir la tribologie, une discipline scientifique vaste et passionnante.

- Georges Roche et Maurice Bouvier pour toute leur aide technique et leur bonne humeur.

Ce fut pour moi aussi un grand plaisir de travailler dans mon deuxième laboratoire d'accueil LPMCN où j'ai découvert la nano physique et où j'ai eu la chance de réaliser toutes mes expériences en fluorescence et AFM. Je remercie particulièrement Jean-Paul Rieu sans lequel je n'aurais jamais eu la chance de connaître ces techniques. Un grand merci à : Cécile Cottin-Bizonne, Audrey Steinberger, Elisabeth Charlaix, Hélène Ayari, Catherine Barentin, Christophe Ybert, Michel Monchanin, pour leur gentillesse et toute l'aide qu'ils m'ont apportée au cours de ces manipulations. De plus je suis très heureuse de pouvoir continuer à travailler avec eux par la suite, dans le cadre de mon poste ½ ATER que je viens de débiter.

Je remercie aussi ceux qui m'ont donné des conseils et m'ont aidée à étudier et interpréter une bibliographie très vaste : Jean-Paul Carret, Laurence Cheze, Francois Graner, Daniel Hartmann, Jean-Francois Gérard, Alain Géloën, Claude Balny.

Je remercie aussi Guy Vitally de CORNEAL INDUSTRIE pour l'intérêt qu'il a porté à cette étude et l'envoi des lentilles HEMA qui ont constitué notre modèle du cartilage articulaire.

Je remercie aussi les étudiants en master et stages avec lesquels j'ai collaboré et qui m'ont permis de bien avancer le travail de la thèse tant du côté expérimentations in vivo que du côté modélisation moléculaire. Ce fut pour moi un véritable plaisir de travailler avec Simon Le Floc'h, David Richard, Julien Duhamel, Monica Cretan, Magda Corneci et Luciana Bostan. Sans le Docteur Xavier Rivière et toute son équipe du service de radiologie de Lyon Sud, dirigée par le Professeur Tran-Minh, les projets in vivo n'auraient pas vu le jour. C'est grâce à leur patience et à leur vif intérêt pour le sujet que des résultats sur la déformée du cartilage ont pu être obtenus. La patience et la coopération des patients qui ont accepté de participer à l'étude in vivo nous ont aussi été indispensables.

Je remercie aussi tous les collègues roumains qui m'ont permis de moins ressentir le manque de mon pays : Fam. Antaluca, Anca, Magda, Luciana, Monica, Alina, Iulia, Margareta, Andrei, Viorel.

Je tiens à remercier François Marcillo pour sa grande gentillesse et l'apport de matière première pour les essais sur le cartilage articulaire : poulet, canard et mouton.

Je tiens particulièrement à remercier ma belle famille qui m'a très bien accueillie et dans laquelle je me suis toujours très bien sentie.

Je tiens enfin à remercier ma famille de Roumanie qui m'a toujours soutenu, malgré la distance, et qui a bien contribué à débiter ma passion : côté « bio » pour ma mère et côté mécanique et physique pour mon père.

Merci encore à tous! Sans vous je n'aurais certainement pas eu la chance de pouvoir vivre cette expérience passionnante.

# SOMMAIRE

	Pag.
<b>INTRODUCTION</b>	<b>15</b>
<b>CHAPITRE A :</b>	
<b>ANALYSE DU TRIPLET TRIBOLOGIQUE ARTICULAIRE VIVANT</b>	<b>19</b>
A.1. Eléments du triplet tribologique articulaire	20
A.1.1. Mécanisme	21
A.1.1.1. Structure	22
A.1.1.2. Propriétés tribologiques	22
A.1.1.3. Caractéristiques retenues	23
A.1.2. Premiers corps	23
A.1.2.1 Structure	23
A.1.2.2. Propriétés	27
A.1.2.3. Caractéristiques retenues	29
A.1.3. Troisième corps	29
A.1.3.1. Composition	29
A.3.1.2. Propriétés rhéologiques	34
A.1.3.2. Proposition d'une structure de la synovie	34
A.1.3.3. Caractéristiques retenues pour le modèle articulaire ex vivo.	39
A.2. Interactions entre les éléments du triplet tribologique articulaire	40
A.2.1. Interactions provoquées par le mécanisme	40
A.2.2. Interactions provoquées par les premier corps	41
A.2.3. Interactions provoquées par troisième corps	42
A.2.4. Conclusion	42
A.3. Théories de la lubrification articulaire	43
A.3.1. Régime hydrodynamique par effet d'écrasement	43
A.3.2. Régime élastohydrodynamique par effet de « coin d'huile ».	44
A.3.3 « Weeping lubrication »	44
A.3.4. Régime hydrodynamique par effet de « coin d'huile ».	44



A.3.5. Régime mixte, lubrification « limite »	44
A.3. Conclusions	46
<b>CHAPITRE B :</b>	
<b>CONCEPTION ET VALIDATION D'UN MODELE TRIBOLOGIQUE EX VIVO D'ARTICULATION SAINE</b>	<b>47</b>
B.1. Sélection, caractérisation et réalisation des éléments du modèle tribologique	48
B.1.1. Modèle de cartilage articulaire	48
B.1.1.1. Choix du matériau modèle	48
B.1.1.2. Caractérisation du matériau modèle	49
B.1.1.3. Conclusion	52
B.1.2. Modèle de synovie	52
B.1.2.1. Bicouches lipidiques	53
B. 1.2.1.1. Techniques d'obtention des bicouches lipidiques	54
B. 1.2.1.2. Caractérisation de l'intégrité par microscopie optique en fluorescence	57
B. 1.2.1.3. Caractérisation mécanique par microscopie de force atomique	59
B.1.2.2. Poches de gel synovial	71
B. 1.2.3. Conclusion	73
B.1.3. Mécanisme articulaire modèle	73
B.1.3.1. Choix des paramètres mécaniques	73
B.1.3.2. Dispositif expérimental	74
B.2. Mise en œuvre et validation du modèle tribologique ex vivo	75
B.2.1. Paramètres du triplet tribologique	75
B.2.3. Mesure du frottement	76
B.2.4. Validation du mécanisme	77
B.2.2. Visualisation du troisième corps in situ	78
B.2.5. Influence des paramètres mécaniques et physico-chimiques des premiers corps	79
B.2.6. Influence des propriétés mécaniques des bicouches lipidiques	80
B.2.6.1. Mesures du frottement	80
B.2.6.2. Visualisation	81
B.2.6.3. Conclusions	84

B.3. Conclusions	85
<b>CHAPITRE C :</b>	
<b>EXPLOITATION DU MODELE : FONCTIONNEMENT DES ARTICULATIONS SAINES ET PROTHESEES</b>	<b>87</b>
C.1. Procédure expérimentale	88
C.2. Mesure et visualisation	89
C.2.1. Frottement	89
C.2.2. Visualisation	91
C.3. Interprétation	93
C.3.1. Articulation saine	93
C.3.2. Implant en acier	96
C.3.3. Implant en polyéthylène	99
C.3.4. Conclusion	102
C.4. Accommodation du glissement dans les assemblages moléculaires de la synovie	103
C.4.1. Accommodation du glissement dans les multicouches lipidiques	103
C.4.2. Accommodation du glissement dans le gel synovial	106
C.4.3. Conclusions	108
<b>CONCLUSION GENERALE</b>	<b>109</b>
<b>ANNEXES</b>	<b>113</b>
Annexe 1 : Traitement des maladies osteo-articulaires - orientations actuelles	113
Annexe 2 : Embryogenèse d'une articulation saine	114
Annexe 3 : Etude in vivo du mécanisme articulaire du genou	116
Annexe 4 : Propriétés du cartilage articulaire	125
Annexe 5 : Propriétés des interfaces lipidiques	134
Annexe 6 : Revue bibliographique des paramètres rhéologiques du fluide synovial	140
<b>BIBLIOGRAPHIE</b>	<b>143</b>



# Introduction

*La médecine est une science des pannes, celles de l'organisme humain... Mais si le médecin est un dépanneur - rien de plus, rien de moins - il est le dépanneur d'une machine dont il ne possède pas les plans.*

*[Lucien Israël]*

*Toute science a pour but la prévoyance.*  
*[Auguste Comte]*

## 1. Enjeu social

Les maladies ostéoarticulaires représentent environ 10% de l'ensemble des pathologies identifiées en France chaque année. Elles touchent toutes les catégories d'âge, avec une prédominance pour les personnes de plus de 65 ans, soit environ 60 % du total de malades.

Dans ce contexte, et en tenant compte de l'allongement de la durée de vie et des exigences de qualité qui l'accompagnent, il n'est pas étonnant de constater l'intérêt croissant vers des recherches visant à améliorer les traitements des ces maladies.

Ces recherches ont conduit, dans les dernières décennies, au développement de nouvelles techniques de traitement, médicales, chirurgicales et prothétiques (voir annexe 1), induisant de nombreuses études sur des articulations pathologiques, et visant principalement à développer de nouveaux matériaux. Malgré ces efforts, la durée de vie in vivo de ces matériaux s'avère souvent très décevante par rapport aux extrapolations faites à partir de simulations ex-vivo. Cette discordance peut-être principalement imputée aux conditions d'essais tribologiques ex-vivo, insuffisamment réalistes vis-à-vis des particularités mécaniques et physico-chimiques du milieu biologique. De plus les propriétés du milieu biologique sont mal connues, car souvent mesurées dans des conditions éloignées de la réalité, à partir de prélèvements biologiques issus d'articulations pathologiques. C'est en particulier le cas de la synovie.

## 2. Enjeu et état de l'art scientifique

Les études visant à comprendre les phénomènes liés au fonctionnement des structures vivantes, comme l'articulation humaine, sont complexes, car elles nécessitent une vue d'ensemble sur les aspects mécaniques, physico-chimique et biologiques. Ces aspects ont généré une bibliographie très vaste dans laquelle on trouve souvent des interprétations très

différentes pour un même phénomène, qui néanmoins peuvent être toutes réalistes, mais chacune de son point de vue (biologie, physico-chimie ou mécanique). Les recherches actuelles tentent de rassembler tous ces points de vue pour comprendre le fonctionnement global. Mais, cela reste encore à l'échelle d'un seul élément articulaire, comme c'est le cas par exemple du cartilage [1].

L'étude des interactions entre les éléments articulaires n'a été initiée qu'il y a une vingtaine d'années, devant la faible efficacité des traitements des maladies ostéo-articulaires, et a pris de l'ampleur dans les dernières décennies. Sur le plan tribologique, de telles études sont une réelle avancée, car le fonctionnement d'une articulation, qu'elle soit humaine ou non, dépend autant des matériaux en contact que du système mécanique qui sollicite ce contact. En revanche, ces études ont majoritairement porté sur des cas pathologiques, donc en quelque sorte sur des anomalies de fonctionnement. Elles ont occulté l'analyse des conditions optimales de fonctionnement, c'est-à-dire celles d'une articulation saine et qui sont les conditions à rétablir.

Par conséquent, ce travail est orienté principalement vers la compréhension du fonctionnement tribologique d'une articulation saine et, comme application secondaire, nous examinons le cas pathologique des implants articulaires.

Une revue des travaux de recherche sur l'articulation saine montre que la portée des approches expérimentales *in vivo* est limitée par les difficultés d'expérimentation liées à la résolution insuffisante des moyens de mesure, qui ne permettent pas l'instrumentation tribologique du contact. Ces difficultés ont conduit à des études *ex vivo* utilisant des prélèvements biologiques (cartilage articulaire, synovie), dont la réalisation et la conservation affectent la représentativité des résultats.

D'autre part, les approches théoriques font appel à des modèles, dont certains attribuent à la synovie une fonction de lubrifiant, générant une portance de type élastohydrodynamique lors des phases du mouvement articulaire pour lesquelles les vitesses relatives des deux surfaces antagonistes sont suffisantes [2-6]. Toutefois, de tels modèles ne permettent pas d'interpréter les performances tribologiques des articulations dans la majeure partie des phases du mouvement pour lesquelles le régime de lubrification ne permet pas l'obtention de la portance par film lubrifiant, régime appelé régime « limite », [7-9].

C'est pourquoi un intérêt croissant s'est manifesté dans les dernières décennies pour l'identification et la caractérisation des interfaces biomoléculaires formées lors du fonctionnement tribologique des articulations saines ou prothésées. Ainsi, quatre composants biologiques de la synovie ont été identifiés comme déterminants dans les performances tribologiques des articulations, et certains travaux leur ont attribué des rôles découplés :

- l'albumine protégerait contre l'usure les surfaces métalliques des implants articulaires [10,11],
- l'acide hyaluronique tend à augmenter la viscosité de la synovie [12],
- la lubricine et les phospholipides s'accrochent sur la surface des cartilages sains et modifient les conditions tribologiques en régime limite [13,14].

Mais ces travaux ont négligé le rôle des interactions multiples entre les composants de la synovie et les corps en contact au cours du fonctionnement tribologique articulaire. Des recherches récentes ont suggéré le rôle tribologique essentiel de telles interactions:

- sous sollicitations tribologiques les albumines créent des réticulations avec l'acide hyaluronique ce qui modifie la rhéologie du fluide synovial [15].
- l'association d'acide hyaluronique avec des lipides peut créer des structures de poches ou tubes remplis d'acide hyaluronique, entourés de multicouches lipidiques [16]. De plus, il a été montré que de telles structures diminuent le caractère rhéofluidifiant des solutions aqueuses d'acide hyaluronique [17].
- la lubricine peut, par sa partie « vitonectine », fixer les couches lipidiques sur la surface du cartilage articulaire, et par sa partie « hemopexyne » les protéger contre l'oxydation et donc assurer leur durée de vie [18,19,20].

### 3. Objectif

Le contexte social et scientifique ainsi que l'état de l'art des recherches actuelles, ont contribué à définir les principaux objectifs de ce travail qui sont :

- de comprendre le rôle des assemblages moléculaires de la synovie sur les performances tribologiques remarquables des articulations naturelles,
- d'examiner les capacités potentielles de ces constituants à améliorer les performances tribologiques des implants articulaires.

### 4. Stratégie

Les moyens d'expérimentation in vivo étant insuffisants pour étudier le fonctionnement tribologique des assemblages moléculaires, nous avons été conduits à réaliser des expérimentations ex vivo.

Afin de garantir le réalisme des résultats, nous nous sommes attachés à reproduire ex vivo les spécificités tribologiques du fonctionnement d'une articulation naturelle. A cet effet, il a fallu prendre en compte les paramètres de l'ensemble du triplet tribologique articulaire, à savoir : les premiers corps en contact (cartilages articulaires), le troisième corps, c'est-à-dire le fluide synovial qui contient les assemblages moléculaires et sépare les premiers corps, et bien évidemment le mécanisme (l'ensemble moteur tendons, muscles, ligaments) qui impose les sollicitations locales.

Par conséquent ce travail a tout d'abord consisté à concevoir, puis réaliser, un triplet tribologique articulaire modèle, et à l'exploiter ex vivo dans le but de comprendre le rôle tribologique des assemblages moléculaires de la synovie. Ce travail est présenté en 3 chapitres.

**Le chapitre A** est consacré à la conception du modèle. Il présente une analyse tribologique conduisant à la sélection de paramètres mécaniques et physico-chimiques pertinents pour reconstituer ex vivo le triplet tribologique articulaire.

- Le paragraphe A.1 est consacré à l'identification et la sélection de paramètres mécaniques et physico-chimiques déterminants, liés respectivement au mécanisme

articulaire (ligaments, muscles...), aux premiers corps (cartilages), et au troisième corps (synovie), devant être reproduits ex vivo.

- Le paragraphe A.2 est consacré aux interactions entre les éléments du triplet tribologique, qui régulent le fonctionnement articulaire et doivent également être pris en compte dans une étude tribologique réaliste.
- Le paragraphe A.3 positionne notre étude par rapport aux modèles de lubrification articulaire proposés dans la bibliographie.

L'ensemble des paramètres mécaniques et physico-chimiques sélectionnés dans ce chapitre, ainsi que la structure de la synovie proposée sont utilisés dans le **chapitre B** pour définir un modèle expérimental ex vivo.

- Le paragraphe B.1 présente alors la reproduction ex-vivo des propriétés mécaniques et physicochimiques des cartilages articulaires en utilisant un matériau de type hydrogel HEMA. Ce paragraphe présente aussi l'interdépendance entre les propriétés mécaniques et physicochimiques du matériau HEMA. Interdépendance qui a été exploitée pour comprendre les phénomènes mécaniques liés à l'évolution des maladies articulaires.
- Le paragraphe B.2 présente la reconstitution ex vivo du fluide synovial avec ses assemblages moléculaires : les bicouches lipidiques et les vésicules de gel synovial, ainsi que la caractérisation mécanique en microscopie de force atomique des bicouches lipidiques.
- Le paragraphe B.3 est consacré à la validation tribologique du modèle articulaire ex vivo. Cette validation montre la nécessité d'un contrôle des paramètres physico-chimiques du milieu d'hydratation (pH, pression osmotique) et des bicouches lipidiques (oxydation, présence du calcium et de détergent) afin de réaliser une étude tribologique réaliste.

Quant au **chapitre C**, il présente l'étude du rôle tribologique des assemblages moléculaires de la synovie et analyse leurs capacités potentielles à améliorer les performances tribologiques des implants articulaires, qu'ils soient en polyéthylène ou en acier.

- Le paragraphe C.1 « exploite » le modèle ex vivo défini au chapitre B afin de permettre l'étude des assemblages moléculaires.
- Le paragraphe C.2. donne l'interprétation des données expérimentales afin de comprendre les modes d'accommodations de vitesses des assemblages moléculaires de la synovie. Il présente aussi les résultats d'une étude numérique de l'accommodation de vitesses dans les multicouches lipidiques. Cette étude est basée sur un modèle de dynamique moléculaire des écoulements granulaires adapté afin de reproduire les propriétés physico-chimiques des multicouches lipidiques telles que la structure chimique et les interactions électrostatiques.

## - CHAPITRE A -

### ANALYSE DU TRIPLET TRIBOLOGIQUE ARTICULAIRE VIVANT

*La nature est remplie d'une infinité de raisons dont l'expérience n'a jamais vu la trace.*

*[Léonard de Vinci]*

*Douter de tout ou tout croire sont deux solutions également commodes, qui l'une et l'autre nous dispensent de réfléchir.*

*[Henri Poincaré]*

Ce chapitre présente une analyse tribologique issue de données bibliographiques, interprétées au travers d'expertises multi échelles de prélèvements d'articulations de bœuf, de poulet et humaine. Son but est de cibler les caractéristiques, notamment tribologiques (mécaniques et physico-chimiques), déterminantes que doit respecter un modèle articulaire ex vivo réaliste. Ce ciblage doit être réalisé avec prudence à cause des spécificités à la fois biologiques et tribologiques du fonctionnement articulaire in vivo. Sur le plan biologique, les expérimentations réalisées sur des tissus vivants montrent des résultats très dépendants des propriétés de l'environnement physico-chimique dans lequel les essais sont réalisés. Sur le plan tribologique, le comportement d'un contact, qu'il soit vivant ou non, dépend autant des propriétés du système mécanique qui le contient que des propriétés des matériaux en contact. Par conséquent, une étude tribologique doit prendre en compte l'ensemble du triplet tribologique [21] qui se compose : du **mécanisme** qui impose les sollicitations locales, des **premiers corps** qui bordent le contact et du **troisième corps** qui sépare les premiers corps. Par conséquent, nous présentons dans cette partie une analyse des propriétés mécaniques, physico-chimiques et biologiques du contact articulaire ayant une incidence sur les caractéristiques tribologiques (frottement, usure). Cette analyse est structurée autour des éléments du triplet tribologique et de leurs interactions.

Pour que ce chapitre soit lisible aussi bien par les médecins que par les mécaniciens il contient des éléments qui pourront être considérés comme triviaux par les uns mais nécessaires pour les autres. Quoiqu'il en soit, l'objectif est de rassembler les connaissances des différents groupes de chercheurs qui étudient le fonctionnement articulaire.



## A.1. Éléments du triplet tribologique articulaire

La figure A.1 illustre les éléments du triplet tribologique à partir d'une coupe anatomique d'une articulation : les cartilages articulaires et la synovie ou "fluide synovial", constituent respectivement les deux *premiers corps* et le *troisième corps*. Le système musculo-ligamentaire joue le rôle de mécanisme.

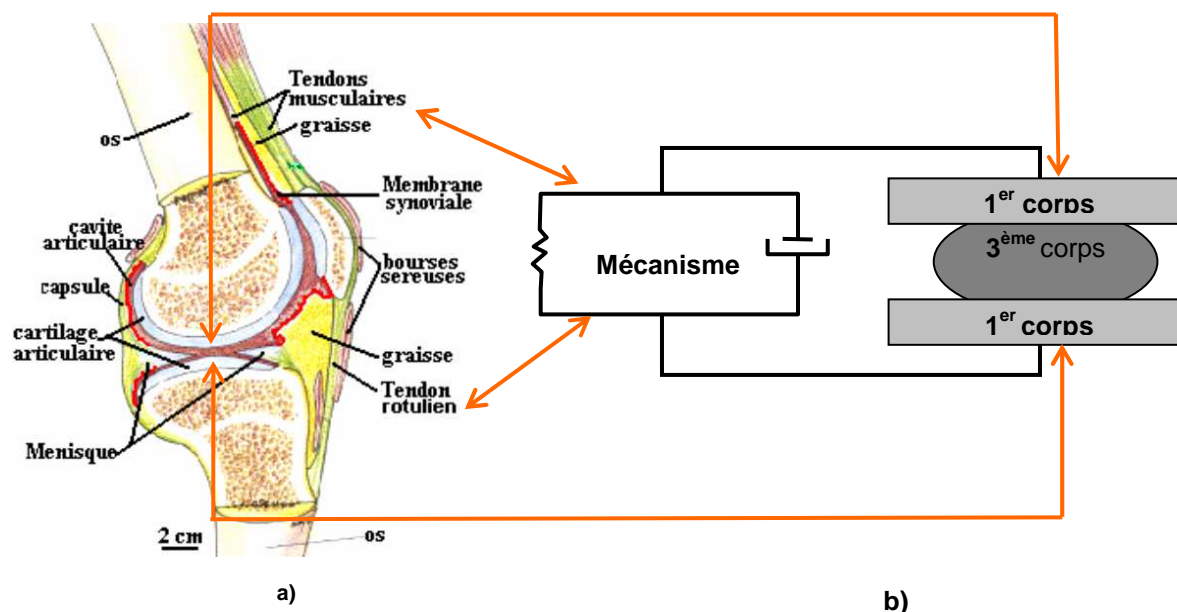


Fig. A.1. Articulation du genou : a) coupe anatomique, b) triplet tribologique articulaire

Avant de détailler la structure et les propriétés de chaque élément du triplet tribologique il faut mentionner que l'articulation est une structure vivante qui est conçue au cours du développement embryonnaire. Cette étape embryonnaire, présentée dans l'annexe 2, est importante pour comprendre les performances tribologique du contact articulaire. En effet, c'est au cours de cette étape que les structures articulaires sont créées de manière à :

- minimiser les pressions du contact articulaire par la création de géométries conformes des premiers corps. Ces géométries sont issues de la fissuration interne d'un seul élément initial cartilagineux [22,23],
- amortir au mieux les « chocs mécaniques » dans le volume du cartilage qui ayant 80% en volume d'eau fonctionne comme un « coussin hydrostatique » (cf. A.2.1.1) dont l'efficacité dépend de l'épaisseur du cartilage. Cette épaisseur est contrôlée dès l'étape embryonnaire par le processus biologique « d'ossification endocondrale » (cf. Annexe 2). Ce processus transforme le tissu cartilagineux en tissu osseux en fonction de la différence de pression entre la pression interne au cartilage et la pression dans les capillaires sanguins situés dans l'os sous jacent au cartilage. La régulation biologique de l'épaisseur s'effectue en fonction des sollicitations externes, c'est pourquoi les zones plus chargées sont plus épaisses que les zones moins chargées. [24]

### A.1.1. Mécanisme

Le mécanisme met en mouvement les premiers corps du contact articulaire par l'intermédiaire du système neuromusculaire et du système ligamentaire. Le système neuromusculaire est le générateur du mouvement tandis que le système ligamentaire crée les « liaisons flexibles » entre les premiers corps qui limitent et stabilisent les mouvements articulaires, en imposant les « degrés de liberté cinématiques ».

#### A.1.1.1. Structure

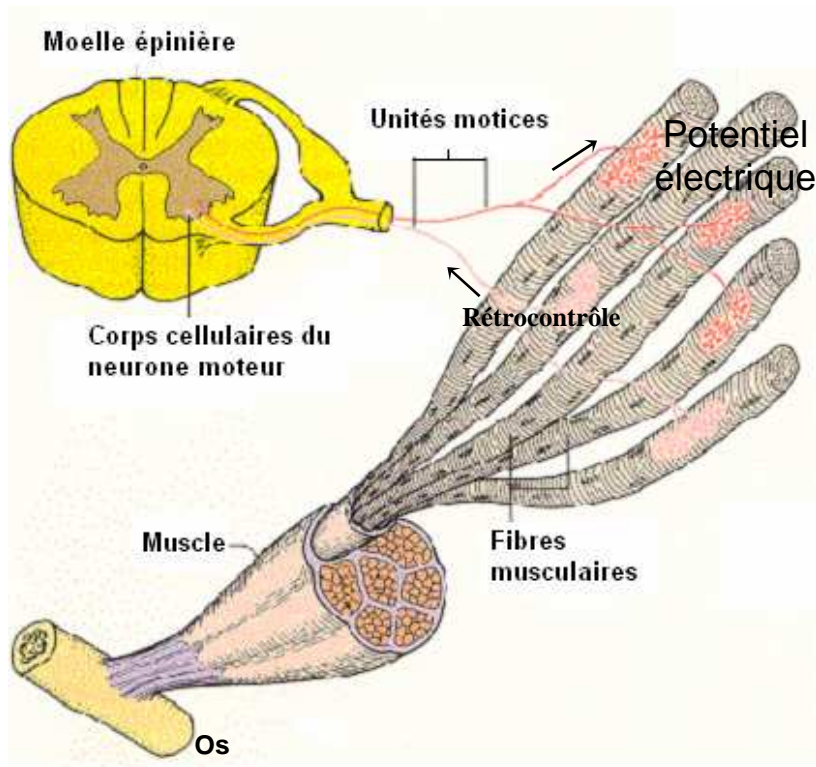
Le *système neuromusculaire* est formé par des unités motrices (fig. A.2) qui comportent une partie électrique de commande, couplée à une partie mécanique de fonction.

La partie électrique est constituée par la fibre nerveuse qui transmet à la fibre musculaire des décharges électriques (influx nerveux) provenant du système nerveux central. Ces décharges sont générées par la volonté de faire un mouvement, d'où leur appellation de « décharges électriques volontaires ».

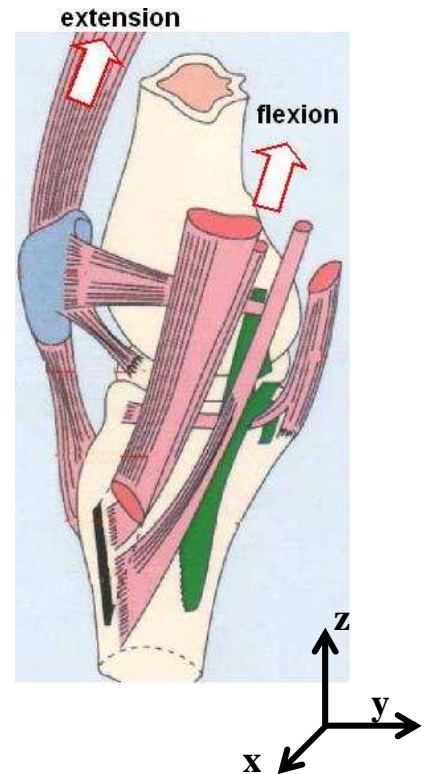
La partie mécanique est représentée par la fibre musculaire, qui fonctionne comme un actuateur piézo-électrique en modifiant sa longueur en fonction de l'amplitude de la décharge électrique transmise. Les fibres musculaires sont assemblées entre elles pour former des muscles qui relient les extrémités osseuses articulaires entre elles.

Le muscle est considéré comme un élément actif du mécanisme articulaire, car sous l'effet d'une commande électrique (système nerveux) il produit un raccourcissement qui génère un effort qui met en mouvement les articulations. Des études [25] ont montré la proportionnalité directe entre l'effort musculaire, le raccourcissement et l'aire de la section transversale du muscle. Il existe donc des bases de données des efforts musculaires maximaux développés par chaque muscle. L'ensemble des muscles qui s'insère sur les éléments osseux d'une articulation génère des couples de rotation autour du centre articulaire. Ces couples permettent trois types de mouvements, autour de chaque axe du repère anatomique tridimensionnel (fig. A.3) :  $x$  = flexion / extension,  $y$  = rotation interne / rotation externe,  $z$  = adduction/abduction. Par exemple, la figure A.3 schématise pour l'articulation du genou, le couple musculaire qui permet le mouvement de flexion / extension.

Le *système ligamentaire* est considéré par les biologistes comme un système passif car il ne génère pas de mouvement, mais il est essentiel pour le bon fonctionnement articulaire car il limite et stabilise les mouvements, tout en informant le système nerveux central de la position articulaire. Cette information est générée grâce aux récepteurs nerveux (organes de Golgi) qui sont situés dans les ligaments à proximité de leur insertion dans l'os. Ces récepteurs sont capables de générer des décharges électriques dont l'amplitude est proportionnelle à la déformation ligamentaire. Ces décharges électriques sont transmises au système nerveux central qui analyse les données provenant de tous les ligaments d'une articulation, et qui en fonction de cette analyse module les « décharges électriques volontaires » et donc l'action musculaire. Des récepteurs nerveux similaires sont aussi placés dans l'ensemble de l'articulation, c'est-à-dire dans les muscles, le contact os - cartilage, la capsule articulaire .... Ils ont tous pour rôle de moduler l'intensité de la « décharge électrique volontaire » transmise au muscle. Cette modulation, appelée aussi rétrocontrôle (feed-back), diminue l'intensité des décharges électriques induites par des chargements brutaux et assure ainsi une sensation de confort.



**Fig. A.2.** Mécanisme – échelle microscopique – unité neuromusculaire (neuromotrice)



**Fig. A.3.** Mécanisme – échelle macroscopique

#### A.1.1.2. Propriétés tribologiques

Bien que la structure macroscopique du mécanisme et les sollicitations globales puissent être très différentes d'une articulation à l'autre, les compensations biologiques telles que la conformité géométrique des surfaces articulaires et le rétrocontrôle nerveux font que les conditions locales de fonctionnement tribologique sont pratiquement les mêmes pour toutes les articulations.

Pour remonter à ces conditions locales, la bibliographie présente des études de dynamique articulaire permettant de connaître les valeurs des sollicitations globales [26-29] imposées par le mécanisme articulaire au cours de la marche normale. Ces données globales sont utilisées dans des modèles analytiques (cinématique ou éléments finis) pour remonter aux paramètres locaux du mécanisme articulaire : pression de contact et vitesses relatives des surfaces articulaires [29-33]. Mais, les résultats de la bibliographie obtenus avec ces modèles sont dispersés, car ils ne prennent pas en compte les caractéristiques mécaniques complexes des cartilages articulaires (effets premiers corps) et les effets dus à la présence d'un film lubrifiant (effets troisième corps).

Par conséquent, pour sélectionner des valeurs réalistes des paramètres locaux du contact articulaire, une étude *in vivo* a été réalisée en collaboration avec le Laboratoire de Biomécanique et Modélisation Humaine de l'Université Lyon I et l'hôpital Lyon Sud. Cette étude, détaillée dans l'annexe 3, utilise deux méthodes :

- la dynamique inverse pour calculer les efforts musculaires et d'impact transmis à l'articulation au cours de la marche,
- l'imagerie médicale (arthroscanner X) en quasi statique pour mesurer les déformées des cartilages et les aires de contact *in vivo*.

Cette étude nous a permis de retenir des pressions de contact articulaire comprises entre  $10^5$  et  $10^6$  Pa et des vitesses relatives comprises entre 0 et  $8 \cdot 10^{-2}$  m/s.

### A.1.1.3. Caractéristiques retenues

Ce qui précède montre que la réalité biologique du mécanisme articulaire est complexe, mais, les conditions tribologiques locales sont les mêmes pour toutes les articulations porteuses. Par conséquent nous avons retenu pour notre modèle articulaire ex vivo uniquement ces conditions tribologiques. Il s'agit d'une **pression de contact** comprise entre  **$10^5$  et  $10^6$  Pa**, qui est la gamme de pression déduite des travaux de l'annexe 3 pour l'articulation du genou lors de la marche normale (environ 5 km/h).

En ce qui concerne les **vitesses** retenues pour le modèle articulaire ex vivo, elles sont comprises entre  **$10^{-4}$  et  $10^{-3}$  m/s**. Ces faibles valeurs permettront :

- une bonne visualisation du contact modèle articulaire ex vivo en microscopie optique,
- de se focaliser sur des conditions de sollicitations telles que les effets de portance hydrodynamique soient négligeables, de sorte que le régime de lubrification sera de type limite, ce qui exacerbera le rôle des interfaces (cf. A.3.5).

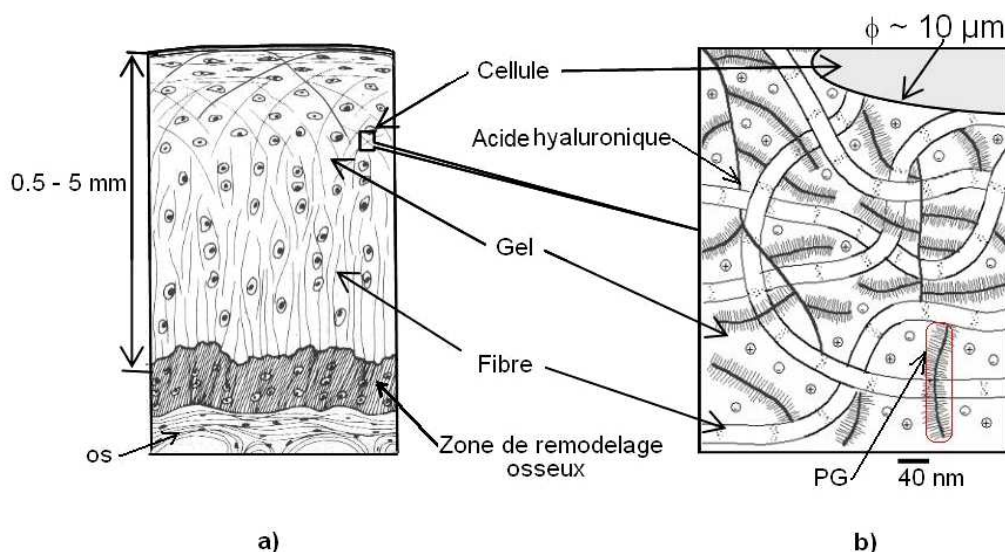
### A.1.2. Premiers corps

Les premiers corps sont les cartilages articulaires qui recouvrent les extrémités osseuses. Leur macro géométrie et leur épaisseur sont spécifiques à chaque articulation.

Le cartilage est un tissu *non vasculaire*, dont la nutrition s'effectue par diffusion du fluide synovial. Le cartilage n'a pas de terminaisons nerveuses (tissu *non neural*) et donc, il ne produit pas d'information liée à la douleur. La douleur n'apparaît donc que lorsque les lésions du cartilage atteignent l'os, c'est-à-dire à un stade avancé de la maladie, d'où la difficulté du traitement. De plus, comme le cartilage ne contient pas de vaisseau lymphatique (tissu *non lymphatique*) il a une très faible résistance aux maladies (*faible immunité*).

#### A.1.2.1 Structure

Les cartilages articulaires ont une structure complexe [1,34-35] (fig. A.4.) qui se compose principalement d'un gel dans lequel sont incluses des fibres et des cellules.

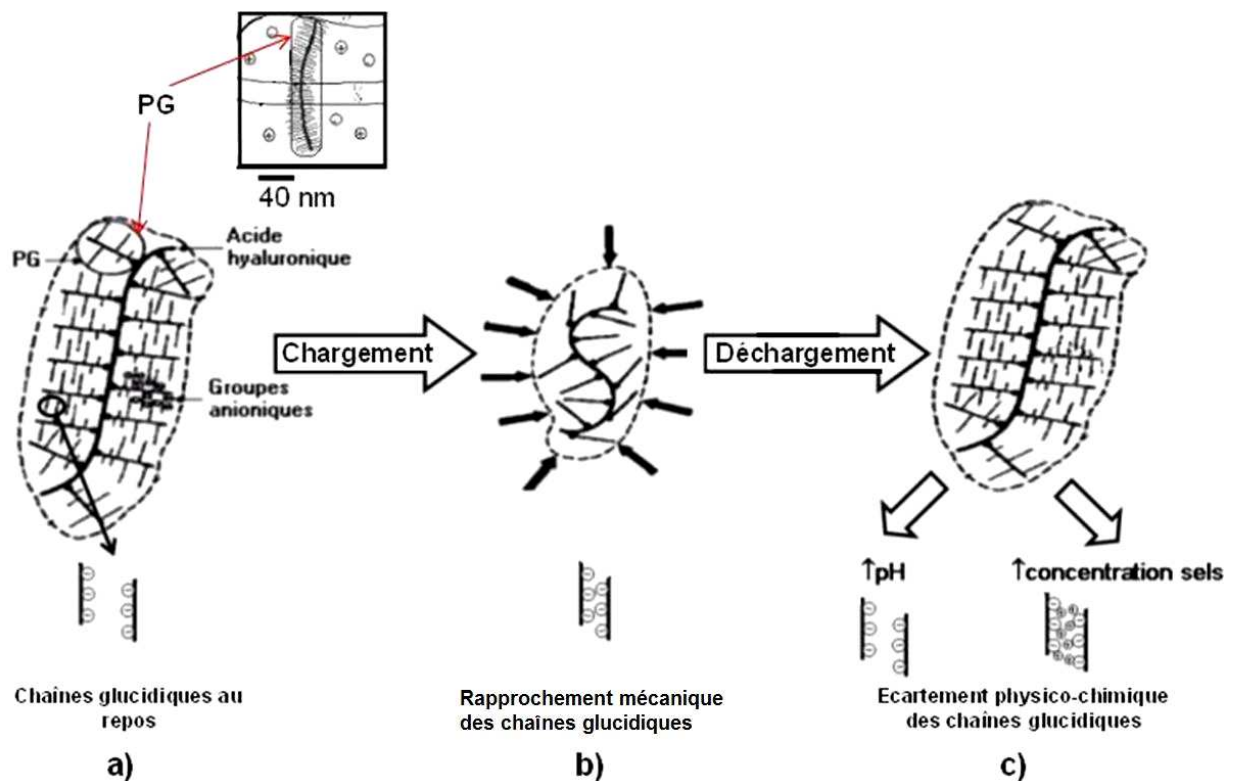


**Fig. A.4.** Structure du cartilage articulaire a) vue en coupe microscopique b) vue moléculaire

## Le gel

Le gel est constitué par une arborescence de chaînes glucidiques chargées négativement par leurs groupes  $\text{SO}_3^-$  et  $\text{COO}^-$  et appelée proteoglycane (PG). Plusieurs PG, fixés sur une molécule d'acide hyaluronique, s'entrelacent avec les fibres et forment un assemblage de PG (fig. A.4b).

La répulsion électrique des charges négatives des assemblages de PG provoque l'écartement des chaînes glucidiques (fig. A.5a). Des mesures en microscopie de force atomique [36] montrent que cet écartement peut atteindre 200 nm. La grande valeur de cet écartement permet une rétention importante d'eau et d'ions positifs (calcium, sodium...), 80% en volume. Lors du chargement mécanique, la déformation élastique du cartilage diminue l'écartement des chaînes glucidiques des PG, ce qui induit l'expulsion d'eau et d'ions positifs hors du cartilage. La quantité d'eau expulsée du cartilage est limitée par la répulsion électrique des chaînes glucidiques qui s'oppose à la diminution excessive de l'écartement de ces chaînes (fig. A.5b). Cette limitation de l'écartement permet au cartilage de retenir une quantité importante d'eau, même lorsqu'il est comprimé, ce qui lui permet de continuer à remplir sa fonction d'amortisseur. Lors du déchargement, l'eau et les ions positifs qui ont été expulsés sont réintroduits dans le cartilage par une action physico-chimique qui dépend du pH et de la pression osmotique (fig. A.5c).



**Fig. A.5.** Couplage entre effet mécanique et physico-chimique dans le gel du cartilage artériel. a) effet physique (répulsion électrique) qui génère l'écartement des chaînes glucidiques des assemblages de PG b) effet mécanique qui rapproche les chaînes glucidiques et expulse l'eau et les ions positifs du cartilage c) effet physico-chimique qui réintroduit l'eau et les ions positifs dans le cartilage

Dans la bibliographie, cette circulation d'eau et d'ions dans et hors du cartilage a été corrélée avec la circulation d'un fluide dans un milieu poro-élastique [37, 38]. C'est la principale raison pour laquelle le cartilage a été considéré comme une structure poreuse. Dans



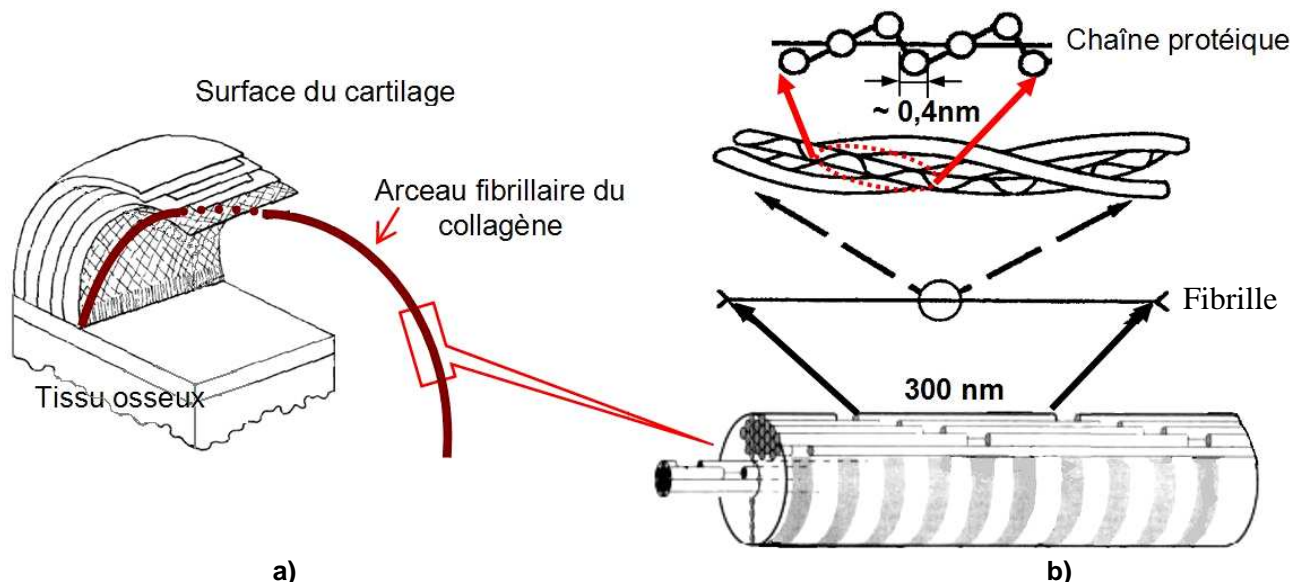
cette logique, sa porosité a été corrélée avec le volume d'eau (80%) tandis que le diamètre des pores a été corrélé avec l'écartement de chaînes glucidiques, ce qui a conduit à des modèles et des interprétations particulières qui seront présentés dans le paragraphe A.2. Certains auteurs restreignent même le rôle des pores à celui d'une fonction nutritive du cartilage [39].

Quoiqu'il en soit il est possible de conclure que le gel confère au cartilage ses principales caractéristiques physico-chimiques qui sont :

- **la pression osmotique** qui est produite par le déséquilibre de concentrations ioniques entre la synovie et le cartilage. Elle régule la quantité d'eau présente dans le cartilage. Cette pression a été estimée à 0.15 MPa. [40-44]
- **le potentiel électrocinétique** qui est généré par la présence de charges électriques négatives fixées sur les chaînes glucidiques qui induisent au niveau macroscopique une différence de potentiel électrique. Cette différence de potentiel a été estimée à 0.03V pour une épaisseur de 1 mm de cartilage soumise à une différence de pression hydrostatique de 0.05 MPa [40-44],

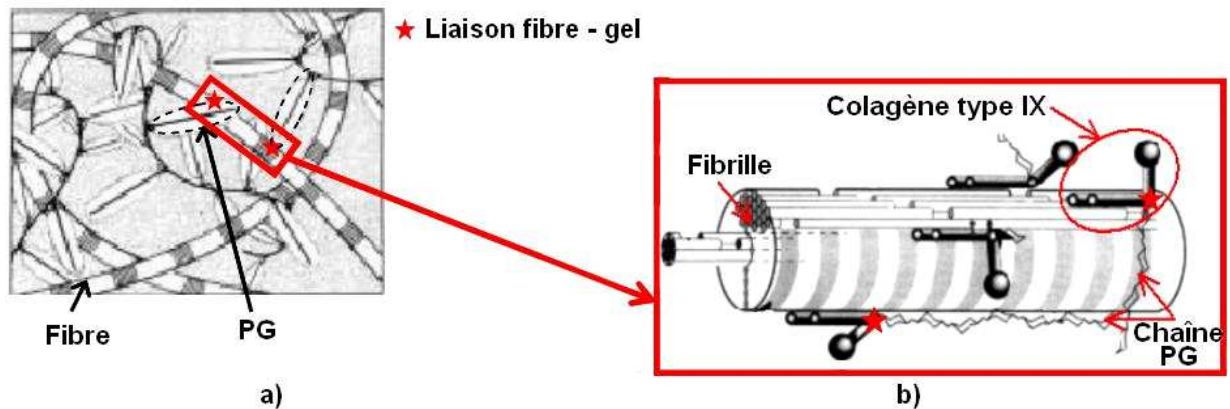
### Les fibres

Le gel est renforcé par des fibres qui sont en fait des arceaux fibrillaires contenus dans des surfaces parallèles à la surface articulaire (fig A.6a) [45,46]. La formation d'un arceau fibrillaire commence par la synthèse des chaînes protéiques dans les cellules, puis leur assemblage par des réactions physico-chimiques à l'extérieur de la cellule. Le résultat de cet assemblage donne dans une première étape des fibrilles de 0,5 nm de diamètre et 300 nm de longueur, formées de chaînes protéiques de collagène « type II et XI » (fig. A.6b). Dans la deuxième étape, ces fibrilles sont assemblées pour former des fibres en forme d'arceau qui s'insèrent dans le tissu osseux sous-jacent (fig. A.6a). Un arceau fibrillaire complet est obtenu en plusieurs mois.



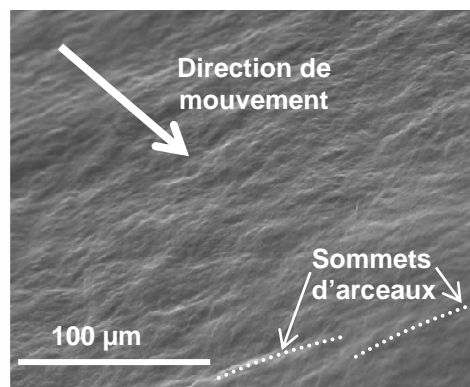
**Fig. A.6.** Structure fibrillaire du cartilage articulaire a) réseau d'arceaux de fibres b) assemblage des chaînes protéiques pour former une fibre

Ces arceaux sont liés au gel par des liaisons chimiques covalentes réalisées par l'intermédiaire d'une molécule de collagène « type IX » [47] (fig. A.7).



**Fig. A.7.** Accrochage fibre - gel a) structure moléculaire du cartilage b) liaisons chimiques par l'intermédiaire du collagène « type IX » entre le gel (chaîne PG) et les fibres

Les sommets des arceaux situés juste sous la surface du cartilage créent des rugosités, perpendiculaires à la direction du mouvement (fig A.8). Selon [48] ces rugosités de quelques micromètres d'amplitude et de quelques dizaines de micromètres de longueur d'onde favoriseraient le glissement en permettant la relaxation d'ondes de déformations induites lors du mouvement du fait de la viscoélasticité du cartilage.



**Fig. A.8.** Surface du cartilage articulaire vue en microscopie électronique à balayage

En conclusion, la structure en arceaux des fibres renforce le gel, ce qui donne la résistance mécanique du cartilage. De plus, la raideur de cette structure fibrillaire (module d'Young  $\sim 50$  MPa) s'oppose aux forces de répulsion électrique qui produisent l'ouverture des pores, ce qui limite leur diamètre à quelques dizaines de nanomètres, à comparer aux 200 nm induits par les répulsions électriques. Par conséquent, c'est la structure fibrillaire qui régule le volume d'eau contenu dans le cartilage à 80% en volume.

### ***Les cellules***

Les cellules du cartilage, appelées chondrocytes, sont des structures sphériques d'environ  $10 \mu\text{m}$  de diamètre, qui constituent le composant vivant du cartilage articulaire.

Les chondrocytes apportent les propriétés biologiques qui contrôlent les quantités de fibres et de gel de cartilage articulaire. Ce contrôle est réalisé au cours de réactions métaboliques de courte durée (de qq. heures à quelques jours), qui engendrent la synthèse (anabolisme) ou la destruction (catabolisme) des molécules. Même si le chondrocyte ne peut

pas régénérer le tissu cartilagineux par division cellulaire (comme c'est le cas d'autres tissus), il possède une activité métabolique intense capable de régénérer les composants de la matrice du cartilage (gel et fibres).

Le chondrocyte est inséré dans la matrice fibre / gel par l'intermédiaire d'un espace dit péri-cellulaire. Cet espace contient des molécules d'attache de cellules ou d'attache de membranes (adhésifs moléculaires) qui relient la cellule à la matrice fibre / gel. Cet espace possède un pH plus acide (pH 6) que le pH de la matrice fibre / gel (pH 7,4). Cet espace est déterminant pour l'activité biologique des chondrocytes car l'étirement des molécules d'attache ou les changements de pH, induits par l'application cyclique d'efforts sur le cartilage, entraîne des répercussions sur la forme et la rigidité des chondrocytes. Cela produit une activation génétique qui génère la synthèse des molécules (activation métabolique) [49-51]. Il y a donc un lien direct entre les conditions mécaniques et physico-chimiques régnant autour des chondrocytes et leurs propriétés biologiques. Un dysfonctionnement de ce lien génère des maladies articulaires.

Par ailleurs, des réactions biologiques de longue durée (quelques mois) tendent à minéraliser ou déminéraliser la structure « fibre – gel » modifiant ainsi la rigidité du cartilage articulaire. Ce « remodelage osseux » [24] est généré par un déséquilibre de pression entre les capillaires sanguins osseux et la pression interne au cartilage. Si le cartilage est peu sollicité mécaniquement, sa pression interne diminue par rapport à la pression des capillaires sanguins de l'os, ce qui génère une invasion sanguine dans le cartilage, qui active les cellules pour minéraliser la structure fibre – gel et transformer le tissu cartilagineux en tissu osseux. Ce processus biologique est actif tout au long de la vie alors que le processus « d'ossification endocondrale », décrit précédemment n'est actif que pendant la période de croissance.

#### **A.1.2.2. Propriétés**

Le comportement mécanique global du cartilage articulaire résulte donc des interactions entre les propriétés mécaniques, physico-chimiques et biologiques imposées par sa structure « gel - fibre – cellule », qui sont schématisées sur la figure A.9.

Le gel confère les propriétés physico-chimiques par lesquelles le cartilage articulaire est capable d'attirer et de retenir l'eau et les ions positifs.

Les fibres règlent la teneur en eau du cartilage articulaire et lui apportent sa résistance mécanique.

Les cellules confèrent les propriétés biologiques par lesquelles le cartilage articulaire maintient un équilibre quantitatif entre ses composants : fibres, gel et substances minérales.

Ces propriétés ont fait l'objet de nombreuses expérimentations [1, 34, 40 - 44, 52] qui sont détaillées dans l'annexe 4, et qui nous ont permis de cibler les plages de valeurs des trois principaux paramètres qui caractérisent le comportement mécanique global du cartilage articulaire :

- **Module d'élasticité global** (0.5 - 1 MPa) mesuré lors d'essais de compression après stabilisation de la migration d'eau et d'ions dans la matrice cartilagineuse,
- **Coefficient de Poisson**. Le cartilage est un matériau composé d'une phase solide et d'une phase fluide. Ces deux phases, étudiées séparément, sont considérées comme



incompressibles ce qui implique des coefficients de Poisson proches de 0.5. En revanche, la migration de la phase fluide hors du cartilage lors des sollicitations mécaniques réduit le coefficient de Poisson à seulement 0.2. Cependant, cette valeur dépend de la perméabilité du cartilage, qui peut être modifiée par les assemblages moléculaires de la synovie, comme le montre le paragraphe A.3.2.

- **Perméabilité.** Les valeurs de perméabilité mesurées sont comprises entre  $10^{-16}$   $m^4/N.s$  et  $10^{-15}$   $m^4/N.s$ , pour une épaisseur de 1mm de cartilage soumise à une différence de pression hydrostatique de 2 MPa. Cette perméabilité paraît faible pour un matériau comme le cartilage, qui possède 80% d'eau. Ceci peut s'expliquer par le fait que cette perméabilité est donnée par des effets physico chimiques (osmotique et électrique) et non simplement par des effets mécaniques (poro-élasticité) (cf. A.1.2.1).

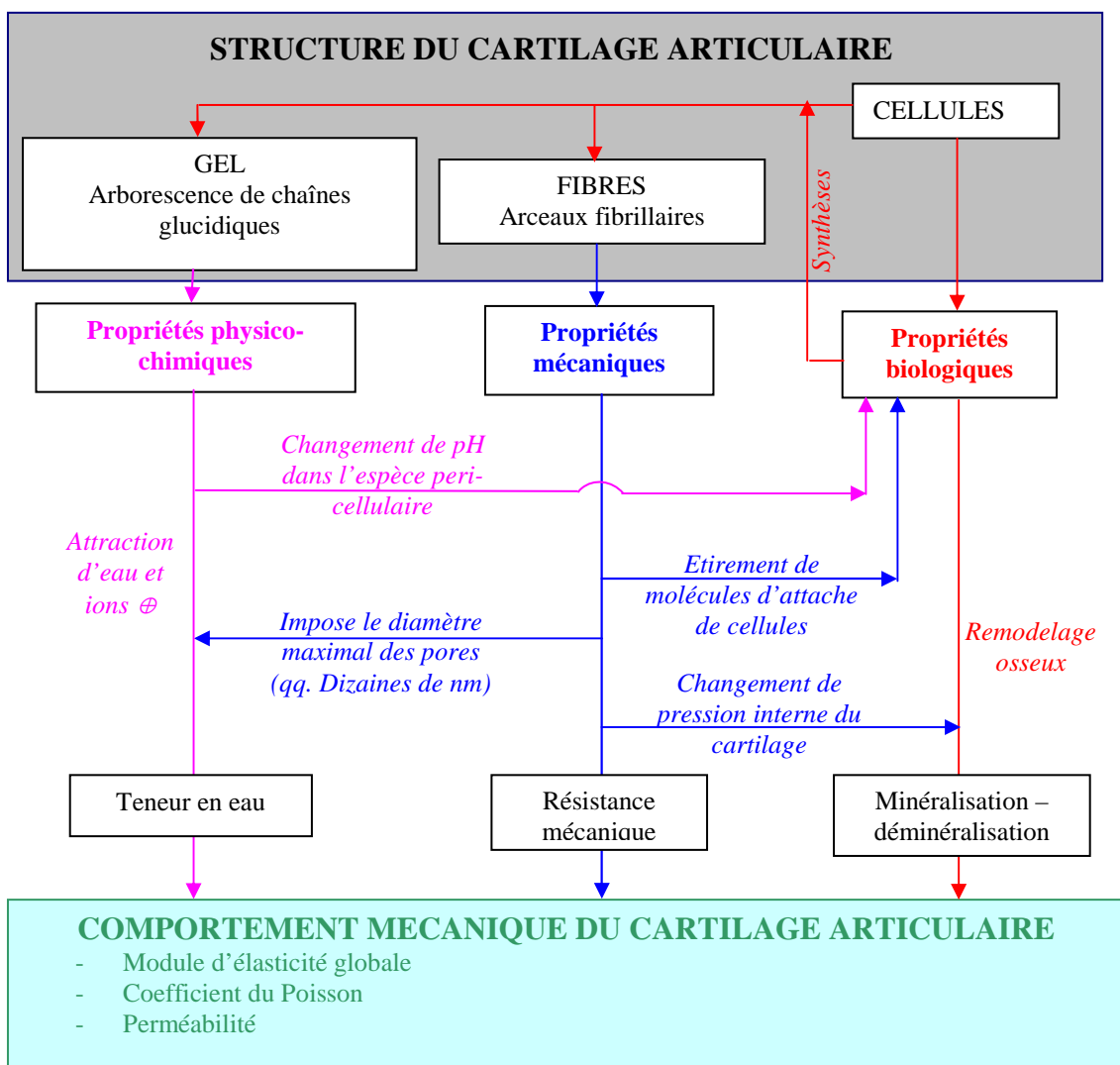


Fig. A.9. Relations entre la structure et les propriétés du cartilage articulaire

### A.1.2.3. Caractéristiques retenues

Les résultats précédents nous ont permis de cibler trois paramètres importants à reproduire pour constituer un modèle articulaire réaliste :

- module d'élasticité global, 0.5 – 1 MPa,
- coefficient de Poisson, 0.2 – 0.4,
- perméabilité d'origine physico-chimique,  $10^{-16}$  -  $10^{-15}$  m<sup>4</sup>/N.s.

Ces trois paramètres seront obtenus avec un matériau synthétique de type hydrogel hydroxy-ethyl-méthacrylate (HEMA), choisi et caractérisé dans le chapitre B.

### A.1.3. Troisième corps

Le 3<sup>ème</sup> corps du contact articulaire est un liquide incolore, transparent et visqueux qui ressemble au blanc d'œuf [53]. Il est appelé fluide synovial ou plus simplement synovie.

Le volume du liquide synovial présent normalement dans une articulation saine est faible. Il est de l'ordre de 0,5 à 4 ml selon la taille de l'articulation. Par conséquent, c'est seulement lorsque ce volume augmente lors de maladies articulaires, qu'il est possible d'extraire du liquide synovial d'une articulation et de l'analyser. C'est pourquoi la majorité des études rhéologiques du fluide synovial utilisent un fluide synovial pathologique ou des substituts, qui sont des solutions aqueuses d'acide hyaluronique. Cette situation explique les difficultés pour obtenir des valeurs réalistes des paramètres rhéologiques du fluide synovial sain.

De plus, à notre connaissance, la bibliographie ne présente pas de structure complète du fluide synovial. Le plus souvent il est considéré comme une solution homogène à l'échelle micrométrique dont seule la composition moléculaire est connue. L'analyse de cette composition, présentée dans le paragraphe qui suit, tend cependant à montrer que le fluide synovial est une solution hétérogène à l'échelle micrométrique. Comme l'estimation des épaisseurs de film de synovie est du même ordre de grandeur (cf. A.2.4) que ces hétérogénéités il est donc nécessaire de connaître la structure de la synovie. Cette structure a été déduite ici à partir de sa composition chimique et de constats expérimentaux.

#### A.1.3.1. Composition

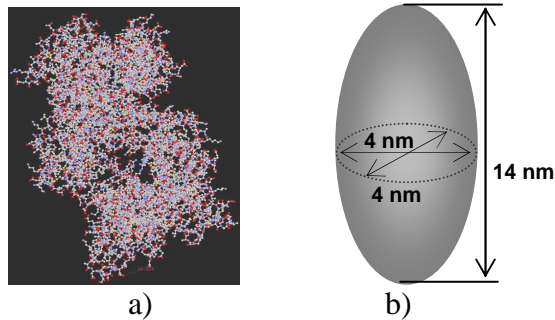
Le fluide synovial se compose de sérum physiologique « additivé » des composants moléculaires suivants :

- protéines sériques, de poids moléculaire 67 kDa, c'est-à-dire  $1.1 \times 10^{-19}$  g (environ 20 g/l)
- acide hyaluronique, de poids moléculaire 5000 kDa (environ 3 g/l)
- lipides, de poids moléculaire 0.75 kDa (environ 3 g/l)
- lubricine, de poids moléculaire 227 kDa (~ 0.02 g/l).

Les influences de ces composants moléculaires sur les propriétés mécaniques, physico-chimiques et biologiques de la synovie sont présentées dans ce qui suit.

## Protéines sériques

Les protéines sériques sont des macromolécules ellipsoïdales d'un volume d'environ  $4 \times 4 \times 14 \text{ nm}^3$  (fig.A.10) [54]. Leurs rôles principaux dans les organismes vivants sont de véhiculer des substances nutritives ou immunitaires (rôle biologique) et d'équilibrer les pressions osmotiques extracellulaires et intracellulaires (rôle physico chimique), donc de maintenir en vie les cellules et les tissus. Les albumines contribuent aussi à l'augmentation de la viscosité de la synovie en formant des réticulations entre les chaînes moléculaires de l'acide hyaluronique (rôle mécanique) (cf. § 3.2.1).

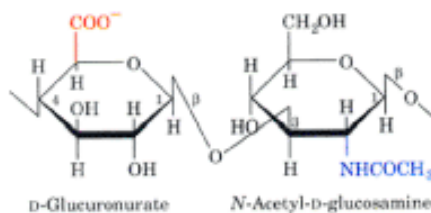


**Fig. A.10.** Albumine sérique a) structure 3D d'une molécule d'albumine obtenue par diffraction de rayons X, Protein Data Bank [55], fichier 1BMO.pdb, b) ellipsoïde schématisant une molécule d'albumine

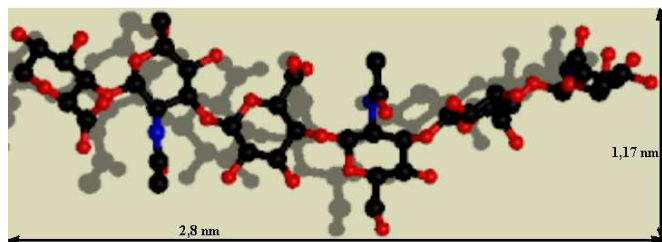
## Acide hyaluronique

L'acide hyaluronique [56] (AH) est une molécule glucidique de la catégorie des glycosaminoglycanes (GAG). L'acide hyaluronique présent dans la synovie a une structure polymérique composée de 12500 unités de disaccharides formées par l'union d'acide glucuronique (GCU) et de N-acétylglucosamine (NAG) (fig. A.11, A.12). Il présente les caractéristiques structurales suivantes :

- une structure bi-hélicoïdale à l'état solide,
- un poids moléculaire d'environ 5 millions de Daltons ( $1\text{Da} = 1,66018 \times 10^{-24} \text{ g}$ ). Ce grand poids moléculaire lui interdit de pénétrer dans le cartilage articulaire,
- un rayon giratoire moléculaire d'environ 70 nm et une longueur de chaîne moléculaire étirée de 12  $\mu\text{m}$ .



**Fig. A.11.** Unités de disaccharides dans la molécule d'acide hyaluronique (GCU-NAG)



**Fig. A.12.** Dimensions d'une unité 3D d'acide hyaluronique :  $(\text{GCU-NAG})_3$  (Protein Data Bank [55], fichier 1hya.pdb)

La molécule d'acide hyaluronique est très hydrophile puisqu'elle peut relier directement 50000 molécules d'eau, soit 4 molécules d'eau par unité disaccharidique, cela donne à la synovie une viscosité importante (quelques Pa.s) et son état de gel [56-61]. Pour cela l'acide

hyaluronique est considéré comme le composant responsable des propriétés rhéologiques du liquide synovial.

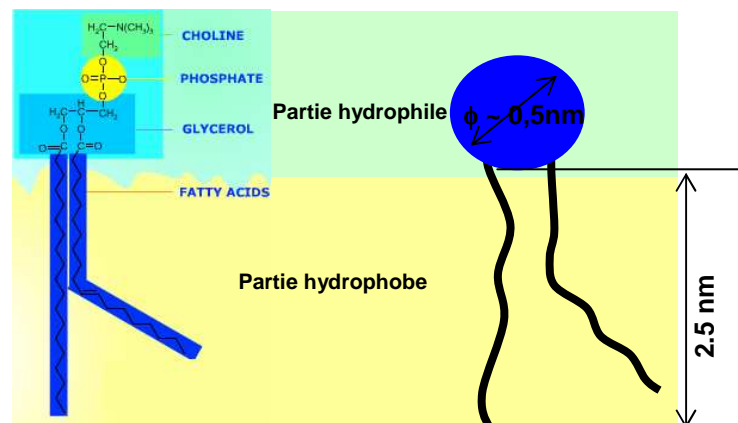
Dans les cas pathologiques, la baisse de la concentration ou du poids moléculaire d'acide hyaluronique implique l'augmentation des phénomènes inflammatoires et l'aggravation de l'usure du cartilage. Ce constat a conduit au développement [62, 63] de solutions d'acide hyaluronique qui sont injectées dans les articulations pathologiques pour diminuer l'usure des cartilages. Ces solutions restent peu efficaces car l'acide hyaluronique n'est pas le seul composant qui impose les performances tribologiques d'une articulation.

En conclusion, l'acide hyaluronique est un composant important de la tribologie articulaire car il impose la valeur élevée de la viscosité de la synovie, mais il n'est pas le seul à contribuer aux performances tribologiques d'une articulation saine.

### Les lipides

Les lipides de la synovie sont des phospholipides, amphiphiles, dont la structure se compose de deux parties (fig. A.13) :

- Une queue hydrophobe composée des deux chaînes d'acides gras. Dans la synovie les acides gras formant ces queues sont pour 43 % saturés\* et 57% non saturés†. La présence des acides gras non saturés fait que ces lipides ne résistent pas à un milieu oxydant. Ce problème de résistance sera abordé par la suite.
- Une tête hydrophile composée de trois éléments qui sont un glycérol, un phosphate et un groupe spécifique à chaque type de phospholipide. Dans la synovie, ce groupe génère trois types de phospholipides qui sont pour 41% en masse des phosphatidylcholines, pour 27% des phosphatidyléthanolamines et 32% de sphingomyelines. Tous ces groupes confèrent aux lipides articulaires une neutralité électrique qui en influence les propriétés physico-chimiques.



**Fig. A.13.** Structure d'une molécule phospholipidique (Protein Data Bank, fichier dppc.pdb [51])

Cette structure chimique des lipides entraîne une miscibilité quasiment nulle dans le sérum physiologique, d'où la formation d'une émulsion. Ainsi, avec une concentration de 3g/l qui est très au-delà de la concentration micellaire critique‡ qui est d'environ  $10^{-6}$ g/l [64], les

\* Un acide gras est saturé quand toutes ses liaisons entre les atomes de carbones sont des liaisons simples

† Un acide gras est non saturé quand il a au minimum une liaisons doubles entre les atomes de carbones

‡ La concentration micellaire critique (CMC) est la concentration minimale à laquelle les molécules de tensioactifs qui se trouvent dans une solution sont capables de s'assembler entre eux en agrégats thermodynamiquement stables. La structure de ces agrégats est liée aux paramètres géométriques et à la charge des molécules tensioactives.

phospholipides se regroupent en agrégats en mettant en contact leurs parties hydrophobes [65]. La formation de tels agrégats isole les chaînes hydrophobes des molécules d'eau ce qui minimise l'énergie libre<sup>§</sup> de la synovie.

La structure de ces agrégats dépend :

- de la dimension relative de la partie hydrophobe par rapport à la partie hydrophile,
- des propriétés physico-chimiques de la solution (concentration en sels, pH, température, *etc.*) [66].

Par conséquent, dans l'articulation saine, cette structure peut être de type multicouches planes (fig A.14) ou sphériques (vésicules) (fig A.15). Les travaux de Schwarz et Hills [67] montrent l'existence d'un empilement de 3 à 7 bicouches lipidiques sur la surface du cartilage articulaire. Ces empilements comportent des bicouches lipidiques (~5nm d'épaisseur) entre lesquelles sont emprisonnées des couches de sérum physiologique d'une épaisseur de 6 à 10 nm.

Si ces multicouches lipidiques restent dans un milieu hydrophile, la structure des empilements est conservée. Mais si les multicouches lipidiques entrent en contact avec de l'air, elles se restructurent en formant des monocouches hydrophobes (cf. figure A.14b). Cela explique le caractère hydrophobe de la surface du cartilage articulaire maintenu dans l'air [68]. Ce caractère provient de la transformation des bicouches lipidiques qui se trouvent sur cette surface, en monocouches lipidiques. C'est pourquoi l'angle de mouillabilité de 100° mesuré pour le cartilage maintenu à l'air est comparable à l'angle de mouillabilité de 95° obtenu pour une monocouche lipidique (DPPC) [69].

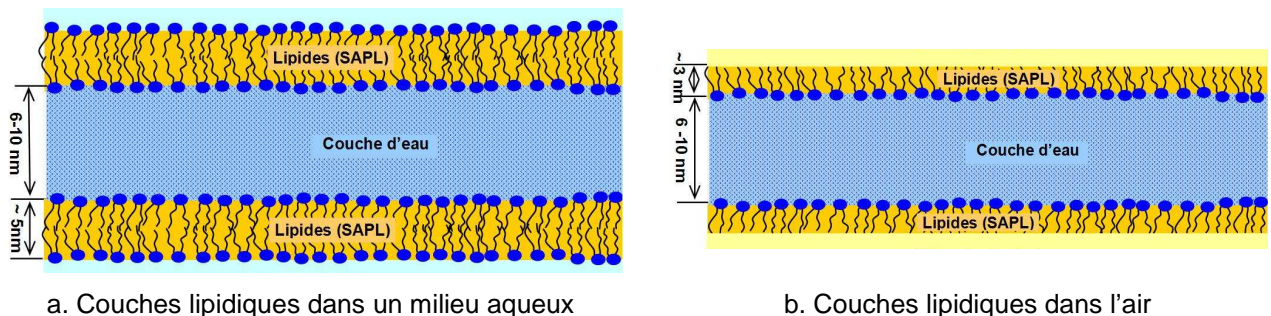


Fig. A.14. Couches lipidiques planes

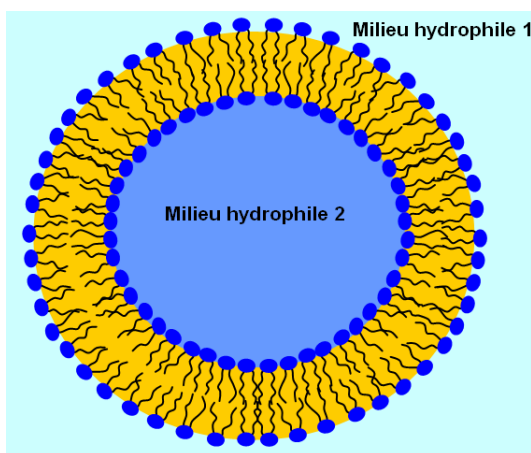


Fig. A.15. Vésicules lipidiques

<sup>§</sup> L'énergie libre (F) est une fonction qui définit l'état d'équilibre (fonction d'état) d'un système chimique évoluant à température et volume constants. Elle est similaire à la fonction enthalpie libre (G) qui s'applique aux systèmes chimiques évoluant à température et pression constantes.

De plus, comme l'air est un milieu oxydant pour les lipides ayant des doubles liaisons sur la partie hydrophobe (lipides non saturés), l'oxydation transforme la double liaison en un cycle oxirane par fixation d'un atome d'oxygène. Ce cycle peut réagir avec une molécule d'eau pour former un diol qui sera hydrophile et donc qui transformera la partie hydrophobe des lipides en une partie hydrophile (fig A.16), qui sera dissoute dans le volume de la synovie [70]. Par conséquent, par oxydation, la couche lipidique est solubilisée dans le milieu aqueux de la synovie, d'où sa destruction et son inefficacité tribologique lors des essais ex vivo classiques.

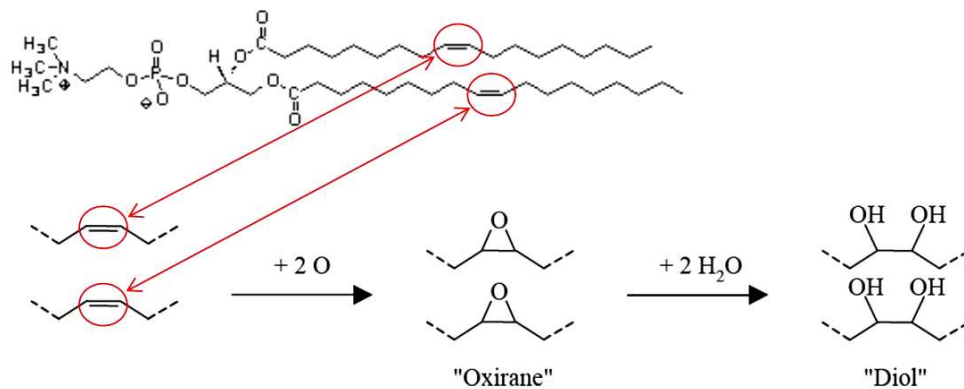


Fig. A.16. Oxydation des lipides non saturés.

D'autre part, les propriétés intrinsèques des bicouches lipidiques, telles que la perméabilité, la rigidité et la rhéologie, sont dépendantes de la physico-chimie du milieu dans lequel elles se trouvent (cf. annexe 5). Par exemple :

- Les températures, les pressions hydrostatiques élevées et les pressions osmotiques faibles favorisent la formation de la **phase fluide** de la bicouche [119-122]. Cette phase est caractérisée par une grande mobilité des molécules lipidiques de la bicouche. Ces molécules changent continuellement de place entre elles sans que l'intégrité de la bicouche soit détruite. Cette phase est caractéristique des lipides ayant des queues non saturées.
- Les températures, les pressions hydrostatiques faibles et les pressions osmotiques élevées favorisent la formation de la **phase solide** de la bicouche [119-122]. Cette phase est caractérisée par une mobilité presque nulle des molécules lipidiques à l'intérieur de la bicouche. Cette phase est caractéristique des lipides ayant des queues saturées.

Ces changements faciles de structures et de propriétés des multicouches lipidiques font qu'il est difficile d'obtenir des valeurs réalistes des paramètres physico-chimiques de la surface « frottante » du cartilage.

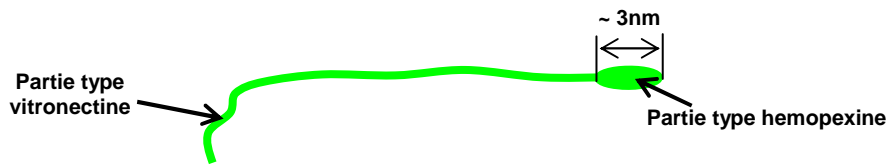
Les résultats précédents montrent que l'étude des bicouches lipidiques articulaires doit être faite dans un milieu hydrophile et antioxydant, afin d'en préserver la structure. Ce milieu doit être aussi contrôlé en température, en pression hydrostatique et osmotique.

### *La lubricine*

La lubricine est une molécule glycoprotéique présente sur les surfaces du cartilage articulaire et de la membrane synoviale. Sa structure chimique est composée d'environ 50%



en masse de vitronectine, de 40% d'hémopexine. Les 10% restants sont des parties protéiques de liaisons (fig. A.17) [18].



**Fig. A.17.** Structure d'une molécule de lubricine

La partie vitronectine confère à la lubricine le rôle d'adhésif moléculaire, capable de se lier aussi bien aux fibres de collagène, qu'au gel du cartilage et aux couches lipidiques de la synovie [19].

La partie hémopexine quant à elle, confère à la lubricine le rôle d'antioxydant pour les molécules lipidiques [20] et assure donc l'intégrité des couches lipidiques présentes dans la synovie.

L'analyse de la composition de la synovie qui précède, montre le rôle des lipides qui, étant non miscibles, s'isolent des autres composants en formant des auto-assemblages. Ces auto-assemblages génèrent des hétérogénéités qui peuvent influencer les propriétés rhéologiques de la synovie.

#### **A.3.1.2. Propriétés rhéologiques**

La plupart des travaux rhéologiques consacrés à la synovie la considèrent comme un milieu continu et révèlent un comportement rhéofluidifiant. C'est-à-dire qu'en fonction du taux de cisaillement, les valeurs de sa viscosité varient de plusieurs ordres de grandeur : de quelques dizaines de Pa.s à quelques centièmes de Pa.s [53].

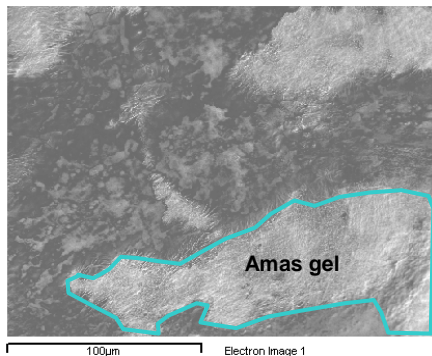
De plus, la difficulté à disposer d'un volume suffisant de synovie saine pour la tester, ajoutée à sa structure complexe ainsi qu'aux variations de ses propriétés en fonction du milieu d'essais, font que les véritables valeurs des paramètres rhéologiques de la synovie sont difficiles à extraire des données bibliographiques et en expliquent la dispersion (cf. annexe 6). Par conséquent, les « véritables » propriétés de la synovie ne peuvent être obtenues qu'à partir d'essais qui reproduisent non seulement sa composition, mais aussi sa structure moléculaire. Cette structure résulte des interactions physico-chimiques entre ses quatre composants présentés auparavant. Dans cet esprit, le paragraphe suivant analyse ces interactions, qui nous ont amenés à proposer une structure de la synovie.

#### **A.1.3.2. Proposition d'une structure de la synovie**

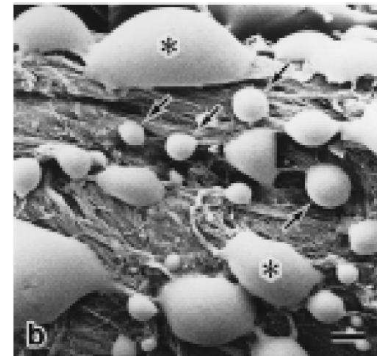
##### ***Analyse des interactions entre les composants moléculaires de la synovie***

Des observations en microscopie électronique, réalisées au cours de ce travail, ont permis d'identifier des amas de gel sur la surface de cartilages articulaires de poulet non nettoyée (fig. A.18). Des expérimentations sur des articulations de rat [71] ont montré la présence de vésicules de quelques micromètres de diamètre dans le fluide synovial ainsi que sur la surface du cartilage articulaire (fig. A.19). L'observation de ces amas et vésicules

suggère une répartition discontinue de la synovie dans le contact articulaire. Cette répartition discontinue peut trouver son origine dans la composition de la synovie, qui fait apparaître deux structures : une structure de gel (synovial) et une structure multicouche. Pour valider cette hypothèse, analysons la formation de ces deux structures et leur co-existence.

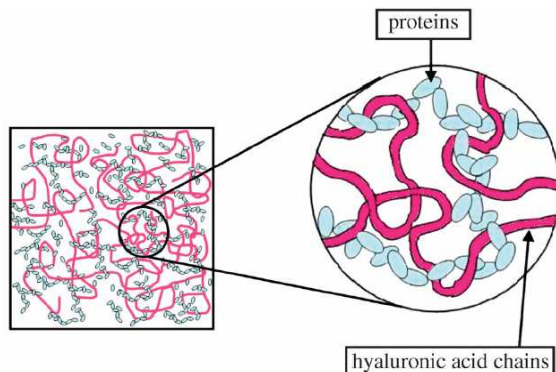


**Fig. A.18.** Présence d'amas de synovie (gel) sur la surface non nettoyée du cartilage articulaire (MEB)



**Fig. A.19.** Vésicules de quelques micromètres de diamètre dans le fluide synovial [67]

La **structure de gel** est créée par la dissolution de molécules d'acide hyaluronique et d'albumine dans le sérum physiologique. Cette structure est renforcée par des réticulations entre les chaînes moléculaires d'acide hyaluronique et les molécules d'albumine (fig. 20). Des études rhéologiques récentes [15] montrent que ces réticulations augmentent la viscosité du gel et son caractère élastique.

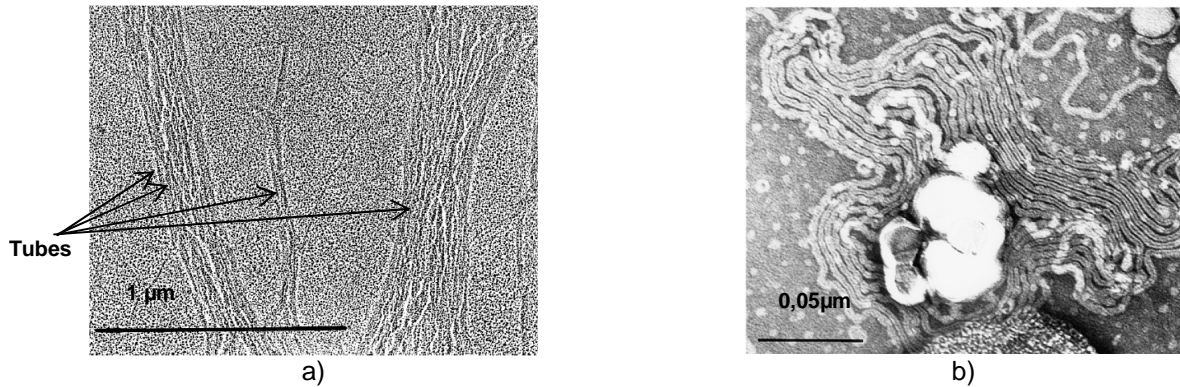


**Fig. A.20.** Réseau polymérique formé par réticulation des molécules d'acide hyaluronique et protéines présentes (albumines) dans le fluide synovial. [15]

La **structure multicouche** est liée à l'auto-association des lipides dans le sérum physiologique. Cette structure en multicouche est non miscible avec le gel d'acide hyaluronique et d'albumine (voir paragraphe A.1.3.1.).

La **co-existence** dans l'espace articulaire de ces deux structures les contraint à former des auto-assemblages moléculaires. La formation de ces auto-assemblages a été étudiée par Pascali-Ronchetti Ivonne et all. [16]. Ils montrent que le rajout d'acide hyaluronique dans une suspension aqueuse de vésicules lipidiques, de concentration équivalente à la concentration de la synovie, génère la formation d'auto-assemblages dont la structure dépend du poids moléculaire de l'acide hyaluronique. Par exemple, si le poids moléculaire de l'acide hyaluronique est proche de celui de la synovie, les auto-assemblages ont une structure tubulaire de quelques  $\mu\text{m}$  de longueur et d'environ  $0,1 \mu\text{m}$  de diamètre (fig. A.21a). Ces tubes sont formés de multicouches lipidiques comportant jusqu'à 12 empilements de bicouches. Ils sont remplis d'acide hyaluronique (fig. A.21b).





**Fig. A.21.** Images en microscopie électronique des structures tubulaires formées par la mise en contact d'une suspension de vésicules lipidiques dans de l'eau et d'une poudre d'acide hyaluronique d'un poids moléculaire égal à celui de la synovie a) visualisation longitudinale des tubes b) section transversale d'un tube

D'autres études [17] ont montrés que la formation de tels auto-,assemblages diminue le caractère rhéo-fluidifiant des solutions « acide hyaluronique (HA) – lipides (DPPC) ».

Retenons de ces études que pour reproduire la bonne rhéologie de la synovie qui est une solution d'acide hyaluronique, d'albumine et de lipides, il faut reconstituer les auto-assemblages moléculaires. Pour cela, le paragraphe qui suit définit, à partir de constats physico-chimiques, une structure physico-chimique de la synovie, qui sera ensuite validée au plan biologique puis tribologique.

### ***Proposition d'une structure physico-chimique de la synovie***

La structure proposée s'appuie sur des résultats et arguments expérimentaux interprétés dans la logique de la minimisation de l'énergie libre de la synovie, qui est considérée comme une solution moléculaire hétérogène confinée dans un volume donné : le volume articulaire. Ces résultats et arguments sont présentés et interprétés dans l'ordre qui nous a permis de proposer la structure.

- I. Des multicouches "planes" sont présentes sur les surfaces de cartilage articulaire [67, 68], et sont formées de 3 à 7 strates de bicouches lipidiques séparées par des couches de sérum physiologique. Comme la concentration lipidique de la synovie est environ 10 fois supérieure à celle nécessaire pour couvrir toutes les surfaces articulaires de 7 bicouches lipidiques, on peut en déduire qu'une grande quantité de multicouches lipidiques est donc présente dans le volume de la synovie
- II. Des vésicules, de quelques micromètres de diamètre, ont été détectées sur la surface du cartilage articulaire et dans la synovie de rat [71]. Par conséquent, les lipides formeraient dans le volume de la synovie des multicouches sphériques (ou vésicules) dont le diamètre pourrait être de quelques micromètres, comme cela a été constaté.
- III. Les structures tubulaires composées d'une partie centrale formée d'acide hyaluronique enveloppée par des multicouches lipidiques ont été mises en évidence dans des solutions de composition semblable à celle de la synovie. Ces structures sont stables dans une atmosphère sans oxygène (sous azote) [16,17]. Ces constats suggèrent que le gel synovial pourrait être enveloppé dans les vésicules lipidiques, les structures ainsi formées étant stables dans la synovie saine. Cette stabilité (existence) étant assurée par l'action antioxydante de la lubricine (cf. § A.3.1.1.). Reste donc à savoir si tout le gel

synovial est contenu ou non dans des membranes lipidiques (tubes et vésicules), c'est-à-dire s'il existe ou non du gel synovial à l'état libre.

IV. L'incorporation de polyélectrolytes dans des vésicules lipidiques a été observée [72-74], selon le processus suivant : les lipides formant la membrane d'une vésicule migrent jusqu'à englober les sphères de polyélectrolytes se trouvant à proximité. Ce sont des liaisons de type électrostatiques et/ou stériques entre lipides qui permettent cet allongement tout en conservant l'intégrité de la membrane de la vésicule, comme si la vésicule phagocytait les sphères.

D'autre part, l'acide hyaluronique est un polyélectrolyte [75] qui peut se trouver sous deux états, soit enfermé dans des membranes lipidiques soit libre. Il est vraisemblable que les vésicules « phagocytent » le gel libre. Ceci est d'autant plus facile que la concentration lipidique de la synovie est élevée.

V. D'autres études [65, 66] montrent les capacités d'étirement (jusqu'à la rupture) et de fusion des vésicules lipidiques soumises à différentes conditions mécaniques. Ainsi, si une vésicule lipidique subit une contrainte mécanique (traction ou compression) importante, sa membrane lipidique s'étirera jusqu'à ce qu'elle se divise en plusieurs vésicules, plus petites. Ces vésicules peuvent ensuite fusionner en reformant la vésicule initiale dès que la sollicitation s'annule et que leurs membranes lipidiques sont en contact. Dans le cas de la synovie, les vésicules sont formées de plusieurs bicouches lipidiques séparées par de l'eau. Par conséquent, lorsque ces vésicules sont en contact, seules leurs bicouches périphériques fusionnent en conservant l'intégrité de l'intérieur des vésicules.

Partant de ces résultats et arguments expérimentaux, la structure de la synovie que nous proposons est constituée de poches (tubes ou vésicules) formées de multicouches lipidiques qui sont remplies de gel synovial, lui-même constitué d'acide hyaluronique et d'albumine (fig. A.22). Les bicouches lipidiques externes de ces poches fusionnent entre elles pour remplir complètement le volume compris d'une part entre les poches et d'autre part entre les poches et les cartilages. Par conséquent, tout le volume articulaire est rempli, et les multicouches lipidiques forment les interfaces, entre les poches d'une part et d'autre part entre les poches et les cartilages. La stabilité structurale de ce « troisième corps » est assurée par la lubriline qui :

- grâce à son rôle antioxydant permet la conservation des multicouches lipidiques,
- grâce à son rôle adhésif réalise l'accrochage des multicouches sur la surface des premiers corps (cartilages) ou sur le gel synovial qui constitue l'intérieur des poches.

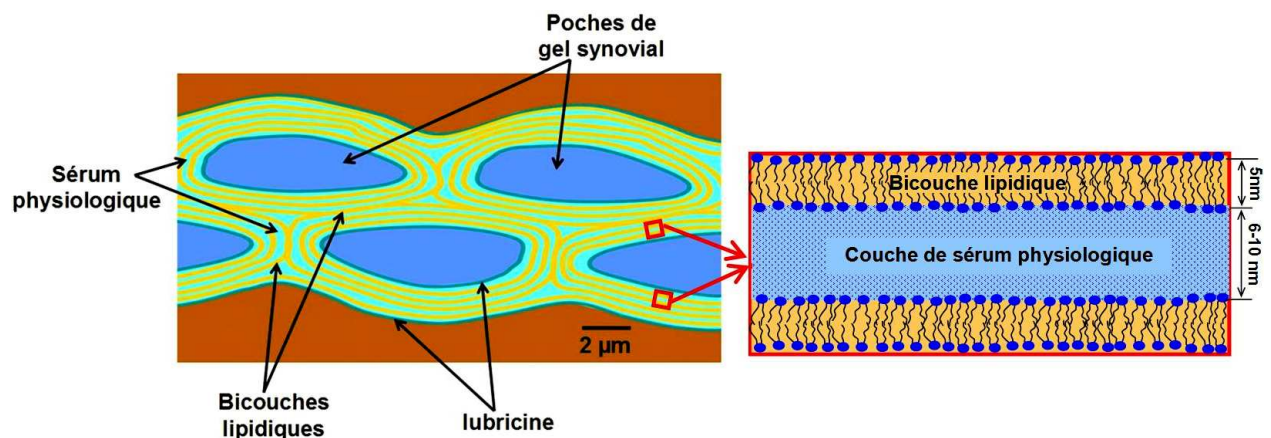
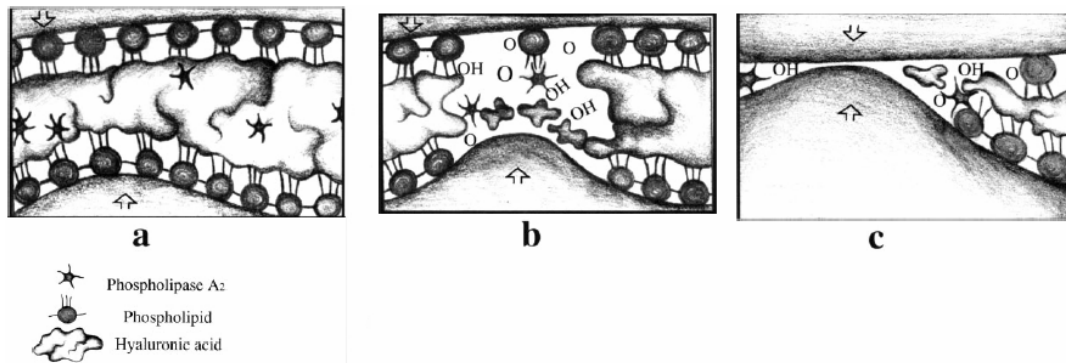


Fig. A.22. Structure proposée pour la synovie

### « Validation » biologique de la structure physico-chimique

Des études biologiques [76,77] ont montré que dans les cas pathologiques, la présence de radicaux libres peut activer l'enzyme phospholipase (PLA2) (fig. A.24a) qui produit la rupture des queues lipidiques et donc la destruction de la couche lipidique. Ce phénomène a été corrélé avec une baisse de viscosité de la synovie et l'usure des cartilages articulaires. Cette corrélation est elle aussi en accord avec la structure physico-chimique de la synovie proposée, en raison de l'enchaînement des phénomènes suivants :

- la destruction des couches lipidiques entraînera la destruction des poches du gel synovial (fig A.24b),
- les molécules d'acide hyaluronique n'étant plus protégées vont être étirées suivant la direction du cisaillement et dépolymérisées,
- cet étirement et dépolymérisation réduit la viscosité jusqu'à permettre le contact direct entre les rugosités du cartilage ce qui amorcera la dégradation « mécanique » du cartilage (fig. A.24c).



**Fig. A.24.** Dysfonctionnement biologique – dysfonctionnement tribologique [72]

L'existence des poches de gel est donc essentielle pour le bon fonctionnement d'une articulation saine.

### « Validation » tribologique de la structure physico-chimique

La structure de la synovie présentée ci-dessus prend en compte le rôle physico-chimique des couches lipidiques articulaires. Pour que cette structure soit validée sur le plan tribologique elle doit aussi résister aux sollicitations mécaniques. Or, jusque-là, le rôle des couches lipidiques était ignoré par les études tribologiques articulaires, car la tenue mécanique de ces bicouches (pression, cisaillement) était mise en doute. Dans les faits, les techniques de caractérisation de surfaces, telles que la microscopie de force atomique (AFM), montrent (cf. chapitre B), qu'une bicouche lipidique peut résister à une compression de quelques dizaines de MPa alors que la pression moyenne dans une articulation lors de la marche normale n'est que de quelques MPa. Par conséquent l'existence mécanique des bicouches lipidiques dans une articulation est tout à fait crédible. De plus, nos essais tribologiques, présentés dans le chapitre B, ont montré que les bicouches lipidiques résistent aussi au cisaillement.

D'autre part, les couches lipidiques sont des structures qui s'adaptent très facilement aux changements de propriétés mécaniques et physico-chimiques de leur environnement. Cette adaptabilité pourra se faire par :

- un changement de phase solide / fluide (cf. annexe 5) qui a pour conséquence un changement de la rigidité et de la perméabilité des couches lipidiques,
- des phénomènes de division et fusion des vésicules, comme ceux présentés ci-dessus (cf. résultats – arguments V- Proposition de la structure physico-chimique).

Cette adaptabilité des couches lipidiques pourra générer leur imperméabilité à l'eau sous l'effet d'un fort chargement mécanique articulaire. Dans ces conditions, l'eau est conservée dans le cartilage articulaire et dans les poches du gel synovial. Ainsi :

- la teneur en eau du cartilage ne varie pas en fonction du chargement, donc le coefficient de Poisson reste proche de 0.5 (cf. § A.1.2.1.2), et l'amortissement du cartilage est augmenté,
- la conformation des molécules d'acide hyaluronique dans les poches de gel synovial sera conservée. Par conséquent, les molécules d'acide hyaluronique ne s'étireront pas suivant la direction de cisaillement ce qui fait que la viscosité restera constante. Les poches de gel empêchent donc l'effet rhéofluidifiant (cf. § A.1.3.1.2.).

En conclusion, les données physico-chimiques ainsi que les constats et les interprétations biologiques et mécaniques accréditent l'idée que la structure de la synovie proposée est réaliste sur le plan tribologique. De plus, cette structure va dans le sens de l'intuition de Charnley, pionnier de l'implantation de prothèses articulaires, qui dès 1959 [78] pensait que la synovie formait des amas, voire des rouleaux qui favorisaient le régime de lubrification limite articulaire. La structure proposée permet aussi d'expliquer la dispersion des mesures de viscosité de la synovie, qui serait due à la non formation ou à la destruction des couches lipidiques sur les parois des outils des rhéomètres classiques.

### **A.1.3.3. Caractéristiques retenues pour le modèle articulaire ex vivo.**

Pour reconstituer ex vivo la synovie il faut donc respecter sa composition : 20g/l d'albumine, 3g/l d'acide hyaluronique et 3g/l de lipides tout en reproduisant sa structure moléculaire. Pour cela il faut reproduire les deux assemblages moléculaires suivants :

- les multicouches lipidiques (empilement des bicouches lipidiques et couches d'eau),
- le gel synovial (solution d'acide hyaluronique et albumine dans du sérum physiologique) incorporé dans des poches formées par les multicouches lipidiques.

Le paragraphe A.1 nous a permis de cibler les caractéristiques que doit reproduire ex vivo un modèle articulaire réaliste. Si le fonctionnement tribologique d'une articulation dépend de ces caractéristiques, il est aussi déterminé par les interactions entre les éléments du triplet tribologique. Par conséquent, le paragraphe qui suit présente ces interactions in vivo. Enfin, c'est l'analyse de ces interactions et une synthèse bibliographique sur les régimes de lubrification, qui nous a permis de choisir la méthodologie pour réaliser notre modèle articulaire ex vivo.

## A.2. Interactions entre les éléments du triplet tribologique articulaire

Ce qui précède a montré que la variation d'une - et a fortiori de plusieurs - propriétés mécaniques et/ou physico-chimiques de l'un des éléments engendrait des variations des propriétés des autres éléments du triplet tribologique. Ces interactions, fréquentes en tribologie, sont particulièrement nombreuses et significatives dans le cas d'une articulation vivante, pour laquelle le mécanisme va jusqu'à faire intervenir le système nerveux. Celui-ci peut, par exemple pour réduire la douleur, commander un changement de position relative des premiers corps, qui à son tour modifiera par exemple la cinématique locale... Sans aller jusque là, la figure B.25 visualise ces interactions. Notons que le troisième corps a été scindé en deux : une partie volumique, assimilée au gel synovial, et une partie « interface » assimilée aux multicouches lipidiques de la structure de la synovie présentée auparavant.

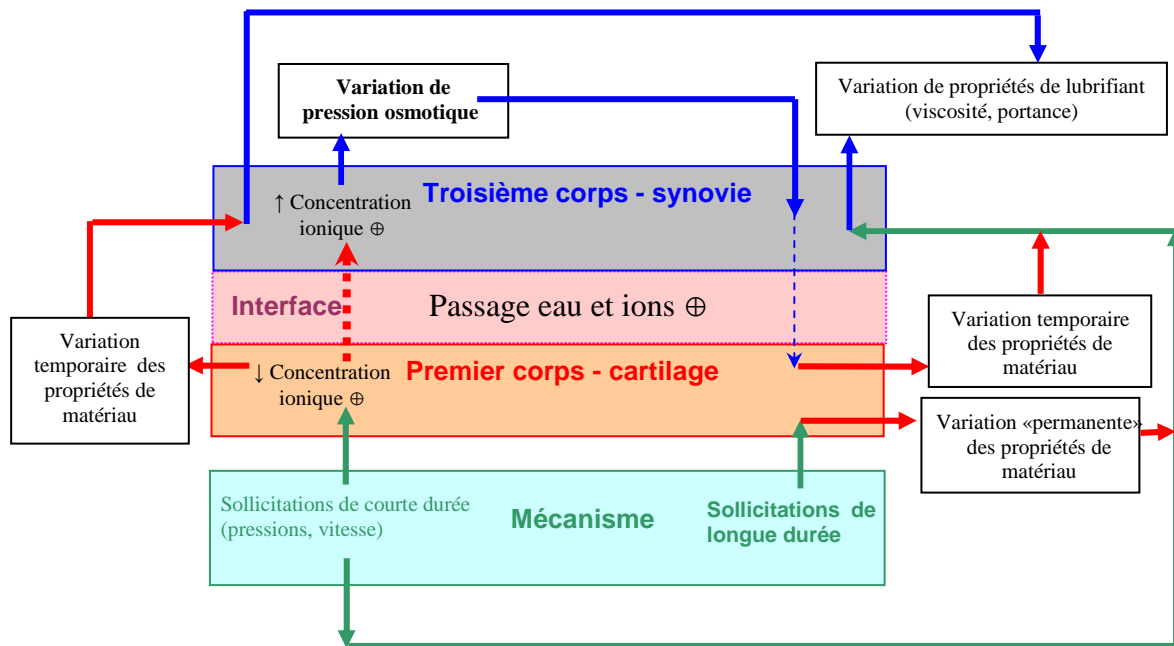


Fig. A.25. Interactions entre les éléments du triplet tribologique articulaire

Par la suite, sont présentées les interactions en insistant sur l'élément du triplet qui les provoque, afin de choisir le nombre minimal d'interactions à reproduire dans un modèle articulaire réaliste sur le plan tribologique.

### A.2.1. Interactions provoquées par le mécanisme

Nous considérons ici les conséquences des sollicitations mécaniques sur le contact articulaire, à court terme, c'est-à-dire de quelques secondes à quelques heures, et long terme, c'est-à-dire de quelques jours à quelques mois, qui sont les deux échelles de temps significatives.

**A court terme**, l'application d'une pression de contact et d'une vitesse relative entre les cartilages articulaires peut modifier :

- les propriétés mécaniques des premiers corps par modification de la teneur en eau des cartilages articulaires (cf. A.1.2.2). Il s'agit d'interactions Mécanisme / 1<sup>o</sup> corps,
- les propriétés rhéologiques du troisième corps. Ainsi, la vitesse de glissement influence la configuration des grosses molécules d'acide hyaluronique qui peuvent s'étirer dans le plan de cisaillement engendrant ainsi une baisse de la viscosité de la synovie (effet rhéofluidifiant) (cf. A.1.3.2 et annexe 6). Il s'agit d'interactions Mécanisme / 3<sup>o</sup> corps.

Cependant, ces données ne tiennent pas compte de la structure de la synovie proposée, qui montre l'existence des assemblages moléculaires (poches de gel et multicouches lipidiques), qui peuvent modifier ces deux interactions. En effet, au cours des sollicitations mécaniques articulaires, la présence des multicouches lipidiques fait que l'eau est conservée à la fois dans les cartilages et dans les poches synoviales. Par conséquent, la teneur en eau des cartilages ne serait pas modifiée et les molécules d'acide hyaluronique ne pourraient pas être étirées. En revanche, les sollicitations mécaniques permettent aux poches de gel de se diviser et de combler les rugosités des cartilages articulaires et donc de minimiser les pressions de contact articulaire.

Les conséquences **à long terme** de sollicitations mécaniques répétées portent sur :

- la géométrie articulaire en période embryogénique. Comme cela a déjà été écrit, lorsque l'articulation n'est encore qu'une masse compacte de tissu cartilagineux, elle se fissure sous l'effet d'efforts mécaniques générés par les mouvements de l'embryon. Ces fissures s'élargissent pour ensuite former les surfaces et la cavité articulaire. Ainsi sont générées des surfaces articulaires macroscopiquement très conformes qui contribuent à la minimisation des pressions au niveau de l'ensemble du contact, c'est-à-dire à l'échelle du centimètre. Cette minimisation de pressions est complémentaire à celle induite par les poches lipidiques synoviales qui s'effectue à l'échelle locale, c'est-à-dire du micromètre. Il s'agit ici d'interactions Mécanisme / 1<sup>er</sup> corps.
- les propriétés des premiers corps. En effet, les zones de cartilage articulaire qui ne sont pas sollicitées mécaniquement pendant quelques mois, se rigidifient du fait du processus biologique de remodelage osseux. Il s'agit d'interactions Mécanisme / 1<sup>er</sup> corps.

## **A.2.2. Interactions provoquées par les premier corps**

La porosité du cartilage et ses propriétés élastiques et physico-chimiques permettent la migration d'eau et d'ions entre le cartilage et la synovie (cf. § A.2.1). Cette migration est induite par les sollicitations mécaniques cycliques auxquelles est soumise l'articulation [79-86]. Il s'agit d'une interaction 1<sup>o</sup> corps / 3<sup>o</sup> corps qui découle d'une action Mécanisme / 1<sup>er</sup> corps.

Précisons cependant que la structure de la synovie proposée implique que la migration d'eau entre le cartilage et la synovie dépend non seulement des effets poro-élastiques et osmotiques relatifs au volume du cartilage (cf. § A.1.2.1), mais aussi aux propriétés de l'interface « cartilage-synovie ». En effet, l'adsorption des couches lipidiques sur la surface

du cartilage influence fortement la circulation et la teneur en eau et ions du volume du cartilage.

### **A.2.3. Interactions provoquées par le troisième corps**

Le volume de troisième corps (fluide synovial) contenu dans la cavité articulaire est imposé par deux processus biologiques contrôlés par la membrane synoviale [87,88], l'un de synthèse, l'autre de résorption.

La synthèse du fluide synovial est liée :

- à la synthèse des molécules d'acide hyaluronique par les cellules de la membrane synoviale. La durée de synthèse d'une molécule est d'environ trois mois, ce qui par conséquent n'a pas d'effets tribologiques immédiats,
- au passage rapide (c'est-à-dire quelques secondes) de petites molécules (eau et nutriments) des capillaires sanguins de la membrane synoviale vers la cavité articulaire à chaque chargement articulaire. L'action musculaire favorise ce passage par une compression de la membrane synoviale qui génère une différence entre la pression sanguine de la membrane synoviale et la pression dans la cavité articulaire.

Quant à la résorption du fluide synovial elle consiste au passage des « petites » molécules de la cavité articulaire vers la membrane synoviale. Les « petites » molécules étant les molécules d'eau, les déchets nutritionnels, les particules d'usure du cartilage et les particules qui résultent de la détérioration des molécules d'acide hyaluronique. Les « grosses » molécules, qui elles restent dans le fluide synovial, sont celles d'acide hyaluronique. Ce passage a lieu à chaque déchargement articulaire lorsque la décompression articulaire génère une différence de pression entre la pression sanguine de la membrane synoviale et la pression dans la cavité articulaire.

Des perturbations pathologiques des mécanismes de synthèse et de résorption du fluide synovial peuvent modifier la concentration moléculaire et ionique du fluide synovial. Cette modification de concentration augmente la différence de pression osmotique entre le cartilage et la synovie ce qui génère une migration anormale d'eau et d'ions positifs entre le cartilage et le fluide synovial et induit un changement des propriétés mécaniques du cartilage. Dans la même logique, une dépolymérisation pathologique [89] de l'acide hyaluronique produit une baisse de viscosité, d'où une baisse de portance du fluide synovial. Il s'agit dans ces cas d'interactions 3° corps / 1° corps.

### **A.2.4. Conclusion**

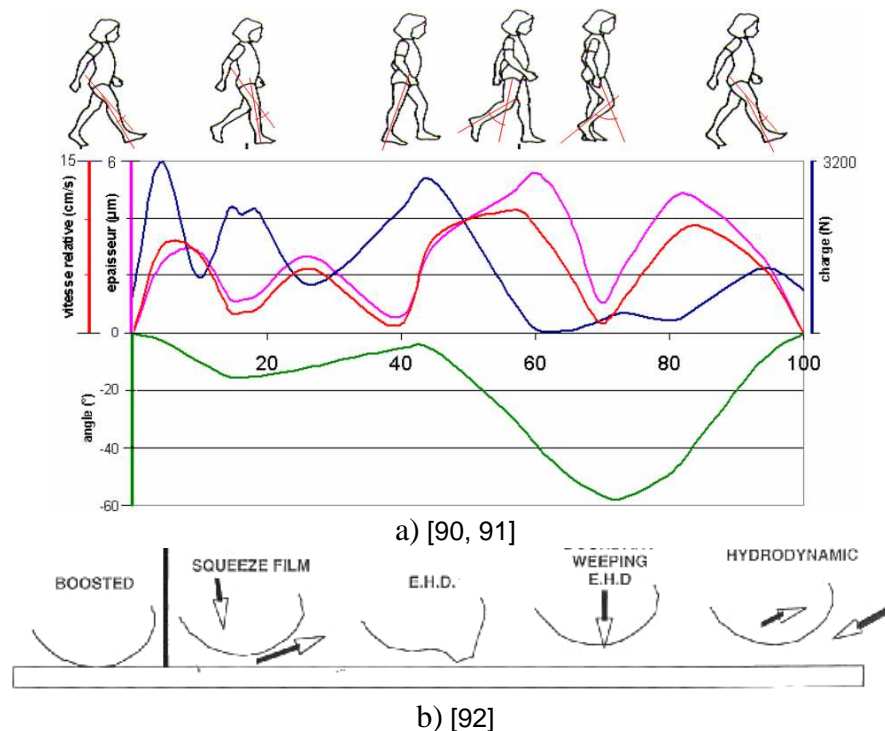
Si ces interactions sont générées par un ou plusieurs changements de propriétés des volumes des premiers corps et du troisième corps, elles mettent toutes en jeu l'interface lipidique (bicouches lipidiques), telle qu'elle a été définie dans la présentation de la structure de la synovie. Par conséquent, la conception du modèle ex vivo se focalisera, entre autres, sur la reproduction de ces bicouches.

### A.3. Théories de la lubrification articulaire

Dans une approche mécanique, donc sans vraiment se soucier des interactions et des interfaces lipidiques, différents modèles théoriques ont été proposés pour simuler et interpréter le rôle tribologique du fluide synovial. Basés sur la théorie hydrodynamique (ou élasto-hydrodynamique), ces modèles ont été adaptés pour simuler au mieux les conditions les plus vraisemblables de fonctionnement de l'articulation lors de chacune des phases de la marche, tout en prenant en compte les propriétés mécaniques des cartilages.

Ces modèles théoriques sont basés sur une équation de type Reynolds décrivant l'écoulement du 3<sup>ème</sup> corps, éventuellement couplée à un modèle mécanique de déformation des premiers corps, et permettent, d'estimer l'épaisseur du film synovial, et la répartition de la pression pour une loi de viscosité donnée.

La figure A.26a présente les variations d'épaisseur du film de synovie, calculées grâce à un modèle élastohydrodynamique à partir de données expérimentales concernant la cinématique (vitesses, angle de flexion articulaire) et la dynamique (charge appliquée) globale d'une articulation du genou lors de la marche. L'ordre de grandeur des épaisseurs calculées et les conditions de contact correspondantes (charge, vitesses, angle de contact articulaire) ont conduit à associer les différentes phases du cycle de marche à quatre types de régimes de lubrification (fig. A.26b).



**Fig. A.26.** Corrélation entre les différentes phases de la marche, les conditions de cinématique et dynamique globale (a) et les régimes de lubrification (b)

#### A.3.1. Régime hydrodynamique par effet d'écrasement : « Squeeze film », « Boosted lubrication »



La première phase du cycle de marche correspond au moment où le contact articulaire est soumis à une forte charge, avec des vitesses tangentielles très faibles. La théorie prédit alors une portance hydrodynamique significative, liée à un effet de type « squeeze film » (Dowson [93], Pascovici [94]). Cet effet d'écrasement pourrait être amplifié (« boosted lubrication ») par une augmentation de la viscosité du fluide synovial : la porosité du cartilage jouant le rôle de filtre provoquerait la fuite de la phase aqueuse, ce qui tendrait à augmenter progressivement la concentration du liquide synovial en grosses molécules d'acide hyaluronique (cf. A1.3.1), jusqu'à ce qu'elles se structurent en gel (Walker [95]). La viscosité élevée de ce gel permettrait de maintenir, par effet d'écrasement, une épaisseur de film élevée, de l'ordre du micromètre à la fin de cette première phase (Hlavacek [96,97]).

### **A.3.2. Régime élastohydrodynamique par effet de « coin d'huile ».**

La deuxième phase du cycle de marche correspond à des vitesses tangentielles plus élevées, susceptibles de générer une portance hydrodynamique par effet de type « coin d'huile ». La déformation des cartilages est significative, et bénéfique vis-à-vis de l'épaisseur de film, qui reste néanmoins très faible (quelques dixièmes de micromètres) (Dowson [91, 98]). Par contre, l'effet piezovisqueux, responsable d'une augmentation très importante de la viscosité dans les contacts « usuels » fonctionnant en régime élastohydrodynamique, ne concerne apparemment pas le fluide synovial.

### **A.3.3 « Weeping lubrication »**

La troisième phase de la marche correspond au moment où la charge commence à être transférée sur l'articulation de l'autre membre. Charge et vitesse sont faibles. Certains auteurs ont avancé l'hypothèse d'un mécanisme d'alimentation du film par un effet d'exsudation du cartilage lié à sa nature poroélastique (cf. paragraphe A.1.2.1) (McCuntchen [99], Soltz and Ateshian [100]). Dans la littérature cet effet est dénommé « weeping lubrication ». Néanmoins, à notre connaissance, les effets de génération de portance par cet effet d'exsudation n'ont jamais été évalués.

### **A.3.4. Régime hydrodynamique par effet de « coin d'huile ».**

La quatrième phase de la marche correspond au moment où la charge est presque nulle et les vitesses tangentielles importantes. Dans ce cas, la déformation des cartilages est non significative. La portance hydrodynamique par effets de « coin d'huile » induit une épaisseur de film élevée (quelques micromètres) (Dowson [101]).

### **A.3.5. Régime mixte, lubrification « limite »**

Les modèles de lubrification présentés ci-dessus ne tiennent pas compte de la rugosité importante des cartilages articulaires (1 – 6  $\mu\text{m}$ ) qui peut influencer fortement les conditions hydrodynamiques. Pour prendre en compte cette rugosité, d'autres auteurs [82, 102] ont supposé un régime de type mixte, avec une pression hydrostatique dans les creux des rugosités où les molécules d'acide hyaluronique sont piégées. En conditions sévères par contre (c'est-à-dire pression élevée et faibles vitesses relatives), il ne peut pas se former entre les pics de rugosités un film continu assurant l'accommodation des vitesses. Celle-ci a lieu à l'échelle moléculaire, au niveau des interfaces, et on qualifie généralement cette situation de « lubrification limite ». Les termes de lubrification limite regroupent ainsi des situations très variées, qui ne peuvent être analysées à la lumière d'une théorie commune, et nécessitent donc

une analyse tribologique complète au cas par cas, afin d'identifier les phénomènes déterminants à l'échelle moléculaire.

Dans le cadre de la lubrification articulaire, il est donc essentiel d'identifier les constituants de la synovie qui pourraient jouer le rôle de lubrifiant « limite », étape difficile du travail car les expertises doivent être faites à l'échelle moléculaire, et tenir compte des changements de propriétés des tissus vivants en fonction du milieu d'expertise. Plusieurs études ont cherché à identifier des constituants de la synovie qui pourraient être actifs en régime limite. Ainsi, en 1972 Swann [103, 104] identifia sur les surfaces cartilagineuses une molécule d'électrolyte, de type prothéoglycane, ce qui ouvrit la porte des recherches sur la lubrification limite articulaire. Quelques essais tribologiques réalisés avec des prélèvements de ce constituant moléculaire de la synovie en 1981 [105,106] ont révélé des valeurs de coefficients de frottement faibles. Ceci a conduit à attribuer des propriétés lubrifiantes à ce constituant, d'où son appellation de « lubricine ». Ensuite, en 1984 Hills BA et Butler BD [107] découvrirent que les prélèvements de synovie contenant de la « lubricine » contenaient également une autre molécule, de type phospholipide, qui du fait de ses propriétés tensioactives a été appelée « surface active phospholipid » (SAPL). Depuis quelques années, c'est cette molécule qui tend à supplanter la « lubricine » dans les interprétations du régime limite de lubrification articulaire [108, 109, 14]. Dans ce contexte, et malgré l'évolution des techniques de caractérisation physico-chimique et l'intérêt croissant pour ce domaine, il est clair que l'influence tribologique des molécules adsorbées sur les surfaces cartilagineuses est encore insuffisamment comprise.

Par ailleurs, l'idée générale bien admise selon laquelle la très faible usure des articulations saines ne peut être due qu'à un faible frottement articulaire, vient d'être remise en cause par Benz M. et all. [110] qui ont mesuré des coefficients de frottement élevés (0.1 – 0.3) lors d'études de simulation rhéologique de la synovie à l'échelle moléculaire en utilisant des polyélectrolytes (AH) couplés à une couche de tensioactif (SAPL).

De plus, tous les régimes de lubrification présentés ci-dessus ne tiennent pas compte de la structure particulière de la synovie, telle qu'elle est présentée dans le paragraphe A.1.3.2. Cette structure est susceptible d'entraîner un mode d'accommodation des vitesses particulier généré par la présence de structures de viscosités très différentes, et qui devrait être pris en compte dans les modèles théoriques de lubrification articulaire.

C'est pourquoi l'un des principaux objectifs de cette thèse est d'identifier ce mode d'accommodation de vitesse en étudiant la synovie dans son milieu mécanique et physico-chimique, en reproduisant sa structure moléculaire et ses interactions avec les autres éléments du triplet tribologique articulaire.

Nous présentons dans le chapitre C cette étude réalisée ex vivo, à l'aide d'un dispositif expérimental qui reproduit les trois composants du triplet tribologique articulaire. La reproduction du mécanisme est simplifiée (cf. A.1.1.3). En revanche, les propriétés volumiques, ainsi que les propriétés de surface et des interfaces moléculaires des premiers corps et du troisième corps sont respectées.

## A.4. CONCLUSIONS

La majorité des études réalisées jusque là s'est contentée d'étudier séparément chaque élément articulaire, ce qui est insuffisant pour comprendre le fonctionnement tribologique d'une articulation. En effet, l'analyse du fonctionnement articulaire sain réalisée dans ce chapitre, montre que les composants articulaires doivent être étudiés ensemble car les interactions et les interfaces entre ces composants sont déterminantes dans le fonctionnement tribologique de l'ensemble articulaire.

De plus, la bibliographie montre que les études tribologiques ignorent le rôle des assemblages moléculaires de la synovie, les considérant non résistants aux sollicitations tribologiques. L'analyse de ces assemblages nous ont permis de montrer qu'ils étaient capables de résister à ces sollicitations en formant une structure discontinue à l'échelle micrométrique. Cette structure composée de poches de gel synovial séparées par des multicouches lipidiques pourra au moins :

- favoriser une distribution uniforme de la pression du contact articulaire,
- maintenir une viscosité élevée de la synovie en empêchant l'effet rhéofluidifiant du gel synovial.

Par conséquent, un modèle réaliste pour l'étude tribologique ex vivo du fonctionnement articulaire doit prendre en compte cette structure discontinue de la synovie. De plus, l'étude doit être réalisée en reproduisant aussi les autres éléments du triplet tribologique articulaire : le mécanisme et les premiers corps. Les caractéristiques retenues pour notre modèle articulaire ex vivo sont donc :

- les propriétés globales des cartilages articulaires (module d'élasticité global 0.5 – 1 MPa, coefficient de Poisson 0.2 – 0.4, perméabilité de nature physico-chimique  $10^{-16}$  -  $10^{-15}$  m<sup>4</sup>/N.s),
- la composition et surtout la structure discontinue de la synovie, « poches de gel synovial / multicouche lipidiques »,
- une pression de contact de quelques dixièmes de MPa et des vitesses relatives de quelques mm/s. Ces valeurs permettent de se focaliser sur des conditions telles que les effets de portance hydrodynamique soient négligeables, de sorte que le régime de lubrification soit de type limite, exacerbant ainsi le rôle des interfaces.

Le chapitre B présente la réalisation et la validation d'un modèle expérimental qui reproduit ex vivo ces conditions mécaniques, physico-chimiques et structurales, en utilisant des matériaux synthétiques afin de s'affranchir des problèmes de conservation liés aux matériaux vivants.

Ces matériaux synthétiques permettent une simulation réaliste du comportement tribologique du cartilage articulaire en termes d'accommodation de vitesses et de niveaux de frottement. En revanche, aucun matériau synthétique ne reproduit les compensations biologiques, tels que la synthèse des macromolécules et le remodelage osseux, ce qui rend non réaliste la simulation de l'usure du cartilage en utilisant ces matériaux.

## - CHAPITRE B -

### CONCEPTION ET VALIDATION D'UN MODELE TRIBOLOGIQUE EX VIVO D'ARTICULATION SAINNE

*Avec de la méthode et de la logique on  
peut arriver à tout aussi bien qu'à rien.  
[Pierre Dac]*

*La méthode, c'est le chemin, une fois  
qu'on l'a parcouru.  
[Marcel Granet]*

L'objectif de ce deuxième chapitre est de réaliser et valider ex vivo un modèle articulaire réaliste. Pour cela il a fallu reproduire ex vivo les spécificités tribologiques du fonctionnement articulaire. A cet effet, il est nécessaire de prendre en compte les paramètres de l'ensemble du triplet tribologique articulaire, définis dans le chapitre antérieur :

- *Premiers corps* : les propriétés globales des cartilages articulaires (module d'élasticité global 0.5 – 1 MPa, coefficient Poisson 0.2 – 0.4, perméabilité d'origine physico-chimique  $10^{-16}$  -  $10^{-15}$  m<sup>4</sup>/N.s),
- *Troisième corps* : la composition et surtout la structure discontinue de la synovie « poches de gel / multicouches lipidiques »,
- *Mécanisme* : les sollicitations permettent de se focaliser sur des conditions de sollicitations telles que les effets de portance hydrodynamique soient négligeables, de sorte que le régime de lubrification est de type limite, exacerbant ainsi le rôle des interfaces. Cela est réalisé par une pression de contact de quelques dixièmes de MPa, et une vitesse relatives de quelques mm/s.

Par conséquent, ce chapitre présente d'abord l'obtention ex vivo d'un triplet tribologique modèle articulaire (paragraphe B.1) puis la validation en termes mécaniques, physico-chimiques et tribologiques du triplet (paragraphe B.2). Cette validation montre l'importance d'un contrôle des paramètres physicochimiques du milieu d'essai et des paramètres d'obtention des multicouches lipidiques articulaires, afin d'aboutir à un étude tribologique réaliste d'une articulation saine.

## B.1. Sélection, caractérisation et réalisation des éléments du modèle tribologique

Ce paragraphe montre comment les paramètres mécaniques et physico-chimiques du triplet tribologique articulaire sont reproduits ex vivo dans un modèle tribologique. Le modèle défini dans ce chapitre comporte un modèle de cartilage (premiers corps), un modèle de synovie (troisième corps) et un mécanisme modèle, qui seront détaillés par la suite.

### B.1.1. Modèle de cartilage articulaire

#### B.1.1.1. Choix du matériau modèle

Les manipulations de prélèvement de cartilage affectent la structure complexe du cartilage, et notamment détruisent la membrane collagénique présente à sa surface. En outre, il perd ses propriétés vivantes quand il est soumis à des essais tribologiques de longue durée, ce qui nous a emmenés à rechercher parmi les matériaux non vivants un substitut de cartilage articulaire, qui respecte le mieux possible ses propriétés mécaniques et physico-chimiques. Nous nous sommes ainsi tournés vers des matériaux polymériques très hydrophiles de type hydrogels, car le cartilage comprend environ 80% d'eau en volume. Ces matériaux sont ceux qui permettent la réparation des lésions cartilagineuses: polyalcool vinylique (PAV), hydroxyéthyle méthacrylate (HEMA) etc. [111-116]. Parmi ceux-ci, notre choix s'est porté sur l'hydrogel HEMA utilisé pour les lentilles cornéennes. La structure de l'hydrogel HEMA ainsi que ses propriétés mécaniques sont très proches de celles du cartilage:

- L'hydrogel HEMA présente de grosses chaînes polymériques méthacrylate réticulées par des petites chaînes hydroxy-éthyle (figure B.1), qui sont hydrophiles du fait de leurs charges négatives  $\text{HO}^-$ . Cette structure est comparable à celle du cartilage, qui présente des fibres de collagène réticulées par les assemblages PG (aggrecan, dans figure B.2), qui sont hydrophiles grâce à leurs charges négatives  $\text{SO}_3^-$  et  $\text{COO}^-$ ,
- On peut constater sur le tableau B.1 la similitude entre les propriétés mécaniques de l'hydrogel HEMA et le cartilage articulaire.

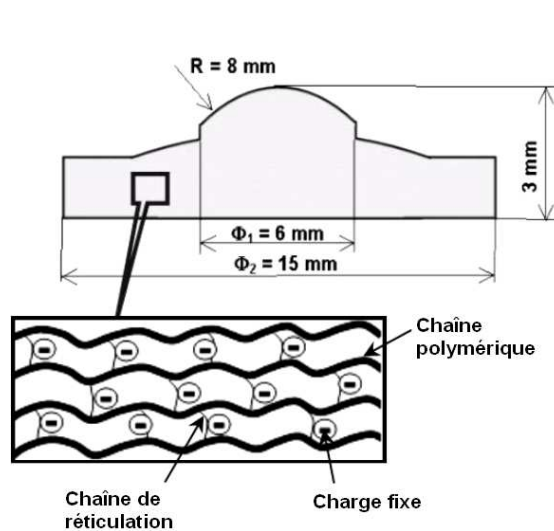


Fig. B.1. Modèle de cartilage articulaire (hydrogel HEMA)

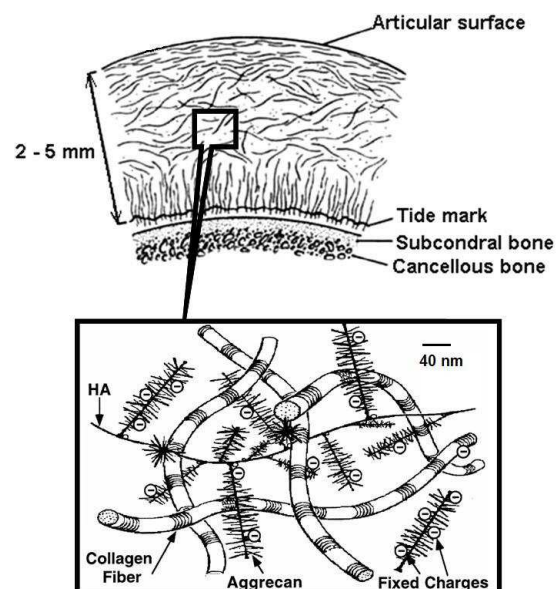


Fig. B.2. Schéma du cartilage articulaire [34]

Propriétés	Hydrogel HEMA [117]	Cartilage [1]
Module d'élasticité en compression (MPa)	0.2 – 0.9	0.5 - 1
Perméabilité ( $m^4/N.s$ ) pour une épaisseur de 1 mm de matériau soumise à une différence de pression hydrostatique de 2 MPa	$\sim 10^{-16}$	$10^{-16} - 10^{-15}$

**Tableau B.1.** Propriétés de l'hydrogel HEMA et du cartilage

L'hydrogel HEMA utilisé comme modèle de cartilage dans cette étude a été issu des ébauches de lentilles cornéennes en HEMA semi-rigides, dont la macro géométrie présente une partie bombée (cf. figure B.1.) qui permettra de localiser la zone de contact au cours des essais de frottement.

Comme plusieurs études montrent que les propriétés mécaniques des hydrogels sont très dépendantes des propriétés physico-chimiques du milieu dans lequel ces hydrogels sont hydratés (pression osmotique, pH) [118] et comme les valeurs issues de la bibliographie, présentées dans le tableau 1, donnent peu d'informations sur ces paramètres, nous avons étudié l'influence des paramètres physicochimiques sur les propriétés mécaniques du modèle HEMA.

#### **B.1.1.2. Caractérisation du matériau modèle**

Pour étudier la dépendance entre les propriétés mécaniques des lentilles HEMA, utilisées comme modèle du cartilage, et les paramètres physicochimiques du milieu d'hydratation, trois types de solutions d'hydratation ont été utilisés :

- sérum physiologique, solution aqueuse à 150 mM NaCl, pH  $\sim 7$ . Il est considéré comme le milieu d'hydratation d'une articulation saine.
- eau déminéralisée, 0mM, pH  $\sim 7$ . C'est un milieu qui a le même pH que le milieu biologique mais il a une pression osmotique nulle. Il pourra simuler le milieu d'hydratation d'une articulation arthrosique. L'arthrose étant la maladie qui produit une usure du cartilage articulaire entraînant la destruction de ses arceaux fibrillaires. Sans l'intégralité de ces arceaux le cartilage va augmenter sa concentration en eau et donc, diminuer sa pression osmotique (cf. § A.1.2),
- solution tampon à 150 mM  $K_3PO_4$ , pH  $\sim 3$  (82622 Fluka). C'est un milieu qui a la même pression osmotique que le milieu biologique, mais il a un pH acide. Il pourra simuler le milieu d'hydratation d'une articulation arthritique. L'arthrite étant la maladie qui produit une inflammation articulaire qui entraîne une baisse significative du pH de la synovie.

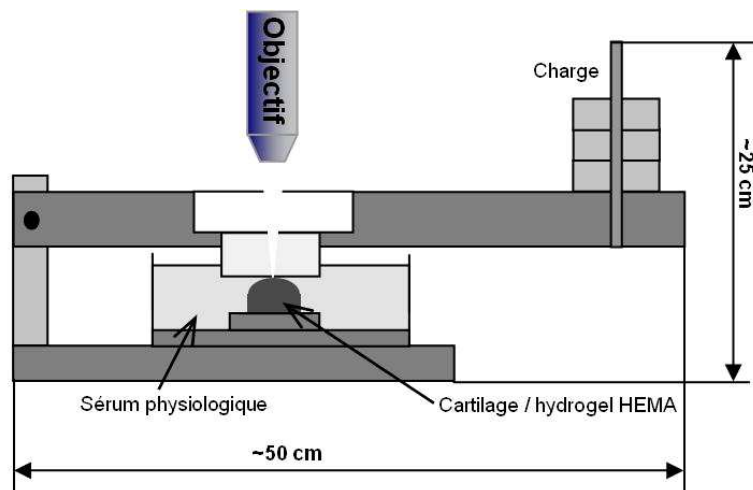
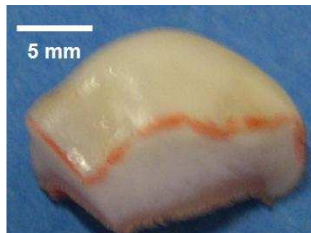
Des essais de compression de la lentille HEMA et de prélèvements du cartilage articulaire ont donc été réalisés pour les trois hydratations.

Le choix des prélèvements de cartilage (animal, âge...) est basé sur des études qui montrent que les propriétés mécaniques et physico chimiques des cartilages articulaires sont dépendantes de leur structure (cf. A.1.2.3 et [34 ,24 ,50]). Cette structure est le résultat d'un équilibre entre les sollicitations mécaniques externes générées par les mouvements articulaires (pression du contact articulaire, par exemple) et les sollicitations internes développées dans les tissus pour compenser les sollicitations externes (cf. § A.1.2). Cet équilibre de pressions ne varie pas significativement avec le type d'animal mais il varie avec l'âge. Cela est facilement visible sur les mesures d'épaisseur de cartilage articulaire qui diminue avec l'âge.

Pour cette étude, le choix s'est porté sur les prélèvements de cartilage articulaire de genou de poulet, cartilage facile à prélever et qui présente des épaisseurs maximales de 4 – 5 mm, valeurs qui correspondent à l'épaisseur maximale du cartilage du genou humain des personnes ayant 20 - 30 ans.

Les cartilages frais de condyles fémoraux de poulet (fig. B.3) ont été prélevés le jour même de l'expérience. Ces prélèvements sont réalisés sur des membres inférieurs de poulet qui ont moins d'une semaine depuis l'abattage et qui ont été auparavant conservés au réfrigérateur en conservant la poche synoviale. Après le prélèvement, les cartilages sont maintenus hydratés dans une solution de sérum physiologique. Un dispositif expérimental (fig. B.4) permet la compression des prélèvements de cartilage ainsi que des lentilles HEMA à travers une plaque en verre qui permet la visualisation du contact. Ce dispositif permet de mesurer :

- la déformée du cartilage ou de la lentille HEMA en fonction de la charge normale. Cette mesure permet de calculer la valeur de la déformation en divisant la déformée par l'épaisseur du matériau testé (3 mm pour les lentilles HEMA et une valeur comprise entre 4 et 5 mm pour chaque échantillon de cartilage testé),
- l'aire de contact à l'aide des images acquises par une caméra vidéo. Cette mesure permet de calculer la valeur de la pression de contact en divisant la charge appliquée par l'aire mesurée.



**Fig.B.3.** Prélèvement de cartilage de poulet

**Fig.B.4.** Dispositif pour la compression du cartilage ou de l'hydrogel HEMA

Des essais de compression ont été réalisés par l'application incrémentale de la charge par pas de 1 N toutes les 30 minutes. Ces essais ont été répétés 10 fois pour chacun des quatre types des matériaux testées : HEMA hydraté en eau, HEMA hydraté en sérum physiologique, HEMA hydraté en solution tampon pH 3, cartilage maintenu hydraté dans du sérum physiologique. La figure B.5 montre les courbes de compressions obtenues avec la moyenne des valeurs de la déformation et de la pression.

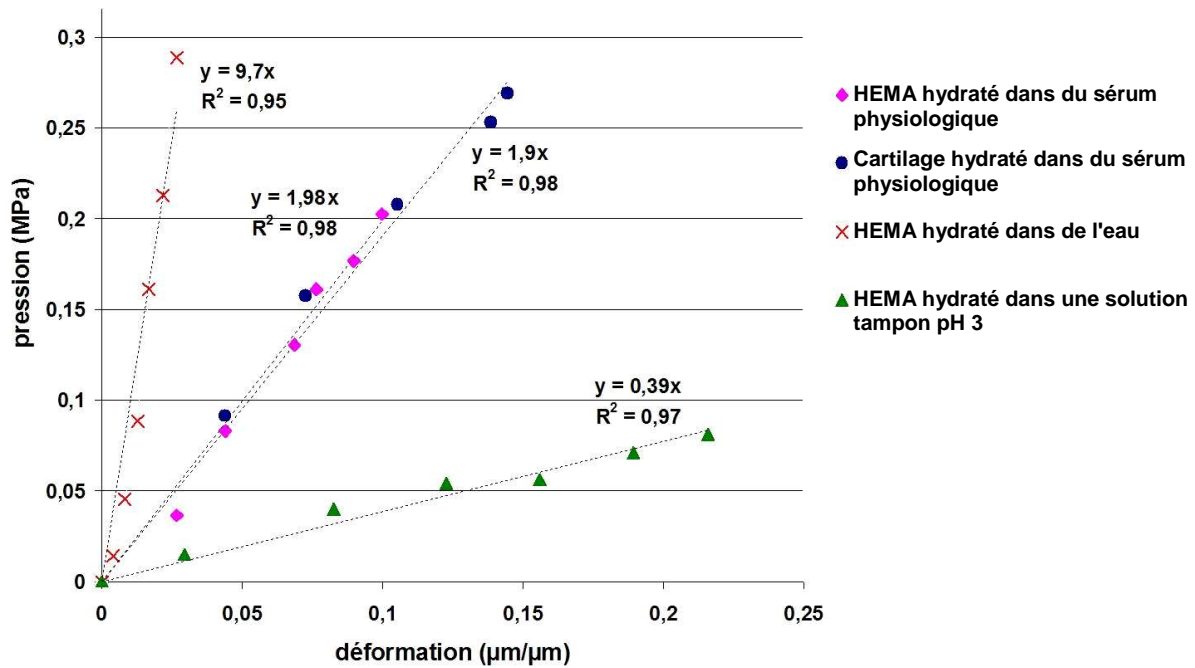


Fig. B.5. Courbes de compression d'une lentille HEMA et de cartilage avec différentes hydratations.

Dans ces conditions, les courbes de compression (fig.B.5.) montrent :

- un comportement mécanique semblable entre l'hydrogel HEMA et le cartilage du poulet, les deux étant hydratés dans le sérum physiologique.
- l'augmentation du module d'élasticité avec l'augmentation de la concentration molaire de la solution d'hydratation, donc également avec l'augmentation de la pression osmotique,
- l'augmentation du module d'élasticité avec la baisse du pH de la solution d'hydratation.

La valeur moyenne du module d'Young obtenu :

- pour les lentilles HEMA hydraté dans de l'eau est de  $0.4 \pm 0.1$  MPa,
- pour les lentilles HEMA hydraté dans du sérum physiologique est de  $1.98 \pm 0.25$  MPa,
- pour les lentilles HEMA hydraté dans une solution tampon pH 3 est de  $9.7 \pm 0.1$  MPa
- pour les cartilages articulaires de poulet maintenues dans du sérum physiologique est  $1,9 \pm 0,5$  MPa.

Ces résultats montrent que le comportement mécanique du cartilage articulaire sain est équivalent à celui des lentilles HEMA hydratées dans le sérum physiologique. Par contre, ces résultats suggèrent que le comportement mécanique du cartilage articulaire est modifié dans des pathologies articulaires qui modifient la physico-chimie du milieu d'hydratation. Ainsi le cartilage articulaire arthrosique pourra être simulé par des lentilles HEMA hydratées dans de l'eau, tandis que le cartilage arthritique pourra être simulé par des lentilles HEMA hydratées dans une solution tampon de pH 3.



### B.1.1.3. Conclusion

Les premiers corps utilisés comme modèles des différents types de cartilage articulaire (sain ou pathologique) sont des ébauches des mêmes lentilles cornéennes en HEMA hydratées 48h dans différentes solutions. A savoir :

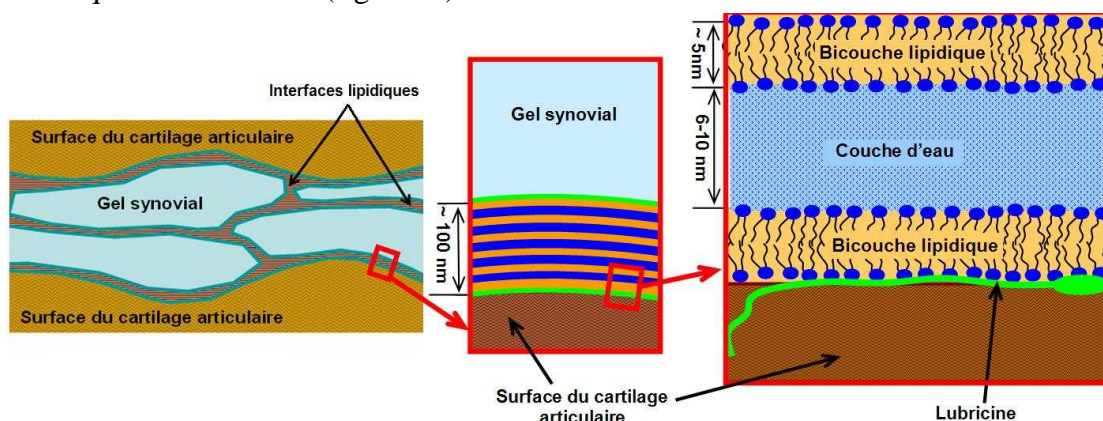
- dans du sérum physiologique pour le cartilage sain,
- dans de la solution tampon pH 3, pour le cartilage arthritique,
- dans de l'eau déminéralisée pour le cartilage arthrosique.

La rugosité de la surface frottante de la lentille HEMA est très faible (quelques nanomètres RMS) par rapport à la rugosité du cartilage naturel (quelques micromètres RMS). Cette différence de rugosité a pu être exploitée pour tester le comportement tribologique des bicouches lipidiques de très faible épaisseur (environ 5 nm) adsorbées sur les surfaces frottantes du modèle du cartilage, ce qui aurait été impossible avec un premier corps de rugosité plus importante.

Comme deuxième corps modèle, on a utilisé une plaque plane en verre borosilicate qui permet la visualisation du contact au cours du frottement. La surface frottante de ces plaques en verre a aussi une très faible rugosité (rugosité pic à pic de maximum 1nm) pour permettre l'étude découplée des bicouches lipidiques.

### B.1.2. Le modèle de synovie

Le modèle de synovie est basé sur la structure définie dans le chapitre A de ce travail. Cette structure montre que le fluide synovial forme des poches de quelques micromètres de diamètre constituées de multicouches lipidiques, constituées par l'empilement de bicouches lipidiques et de couches d'eau (fig. B.6b). Ces poches sont remplies d'un gel constitué d'acide hyaluronique et d'albumine (fig. B.6a).



**Fig. B.6.** Structure discontinue du 3<sup>ème</sup> corps (synovie) a) poches lipidiques de gel synovial b) interface lipidique entre le cartilage et le gel synovial : multicouche lipidique

Au cours de ce travail, les bicouches et les poches lipidiques ont été obtenues et caractérisées mécaniquement en adaptant des techniques récentes de physique nanostructurale décrites ci-dessous.

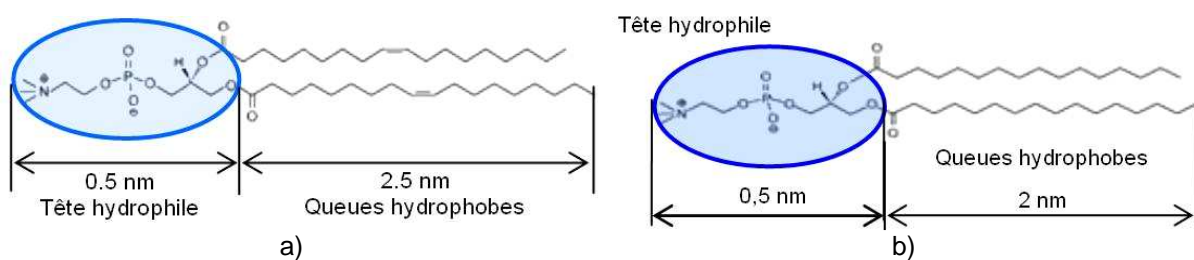
### B.1.2.1. Bicouches lipidiques

Les bicouches lipidiques sont des structures dont les propriétés intrinsèques (perméabilité, rigidité, rhéologie des molécules à l'intérieur de la bicouche ...) changent en fonction des propriétés mécaniques et physicochimiques du milieu dans lequel elles se trouvent (température, pression osmotique, pression hydrostatique ...) [119-122]. Ainsi :

- les températures, les pressions hydrostatiques élevées et les pressions osmotiques faibles favorisent la formation de la **phase fluide** des bicouches lipidiques. Cette phase est caractérisée par une grande mobilité des molécules lipidiques à l'intérieur de la bicouche. Ces molécules changent continuellement de place entre elles sans détruire l'intégrité de la bicouche,
- les températures, les pressions hydrostatiques faibles et les pressions osmotiques élevées favorisent la formation de la **phase solide**. Cette phase est caractérisée par une mobilité presque nulle des molécules lipidiques à l'intérieur de la bicouche.

Pour simuler cette variation de phase des bicouches lipidiques, deux types de lipides ont été sélectionnés :

- lipides de type DOPC (réf. 850355P Avanti Polar Lipids), qui forment à température ambiante des bicouches en phase fluide à cause de la double liaison sur les chaînes acyles qui empêchent une association compacte et ordonnée des lipides (fig. B.7a),
- lipides de type DPPC (réf. 850375P Avanti Polar Lipids) qui forment à température ambiante des bicouches en phase solide avec des chaînes acyles parallèles les unes aux autres (fig. B.7b).



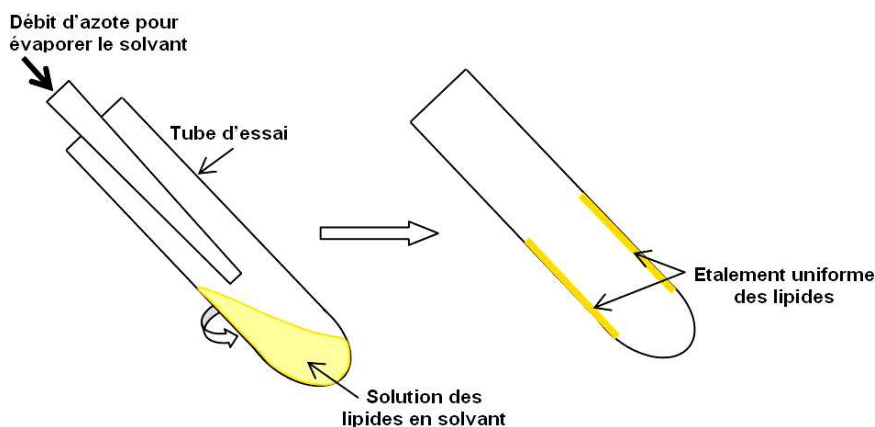
**Fig. B.7.** Structure chimique des phospholipides utilisés : a) DOPC : 1,2-Dioleoyl-*sn*-Glycero-3-Phosphocholine b) DPPC : 1,2-Dipalmitoyl-*sn*-Glycero-3-Phosphocholine

Ces deux types de lipides ont été acquis sous forme de poudre et ont été gardés à l'abri du milieu oxydant (air) dans des fioles de 25mg à  $-20^{\circ}$ . Pour obtenir des bicouches lipidiques à partir de ces poudres, il faut d'abord obtenir des solutions lipidiques. Mais, comme il a été montré dans le chapitre A, les lipides sont très peu solubles dans des milieux aqueux, simulant la synovie. Ainsi, pour dissoudre la poudre lipidique il a fallu d'abord étaler la poudre lipidique pour éviter les accumulations de lipides.

Cela a été réalisé en utilisant du solvant lipidique composé de chloroforme et éthanol en rapport volumique de 9 à 1. La poudre lipidique contenue dans une fiole (25mg) a été ainsi dissoute dans un volume de 10 ml de solvant. Ces solutions lipidiques se conservent plusieurs mois au réfrigérateur en veillant bien à ce que le solvant ne s'évapore pas.

L'étalement des lipides doit être fait le jour même de la réalisation du dépôt. Pour cela la solution de lipides est introduite dans un tube à essais, positionné obliquement (fig. B.8.), qui est soumis à un débit d'azote pour évaporer le solvant. Pour obtenir un dépôt uniforme des lipides sur la paroi interne du tube à essais au cours de l'évaporation, il faut tourner

continuellement le tube d'essai autour de son axe. Nous n'avions pas à notre disposition d'évaporateur rotatif pour réaliser cette opération, mais nous n'avons généralement pas rencontré de problème par notre technique manuelle.



**Fig. B.8.** Procédure d'étalement des lipides sur la paroi interne d'un tube à essai

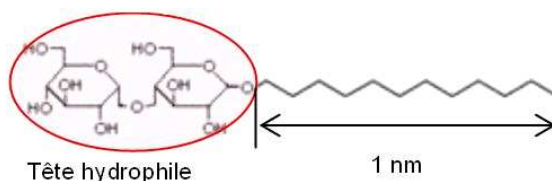
Après l'étalement lipidique, il faut faire attention à l'oxydation lipidique, et fermer rapidement le tube à essai après interruption du débit d'azote.

Partant de cet étalement de lipides, deux techniques ont été employées pour obtenir des bicouches lipidiques déposées sur les surfaces frottantes des premiers corps : la co-adsorption des micelles lipide/détergent [123,124] et l'éclatement de vésicules lipidiques [125-126].

#### ***B. 1.2.1.1. Techniques d'obtention des bicouches lipidiques***

La co-adsorption de micelles lipides – détergents sur les surfaces des premiers corps, puis élimination du détergent de plus haute concentration critique micellaire par dilution lente.

Cette technique utilise un détergent non ionique, le DDM (n-Dodecyl-beta-D-maltoside, fig. B.9), pour dissoudre les lipides et former des micelles [123, 124].



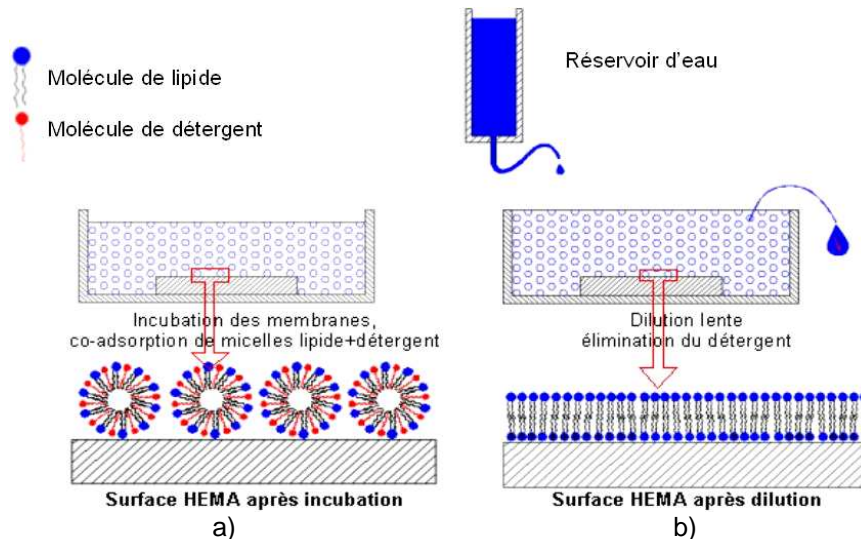
**Fig. B.9.** Structure chimique d'une molécule de n-Dodecyl-beta-D-maltoside (DDM)

Des micelles lipides / détergents en rapport molaire 1 / 6 sont obtenus en ajoutant dans le tube à essai contenant l'étalement lipidique une solution aqueuse (eau déminéralisé) de 0,485 mg/ml de détergent (DDM). Le volume de solution ajouté est calculé pour obtenir un rapport molaire 1/6 de lipides/détergents. En agitant doucement (pour éviter la formation de mousse du détergent), on obtient la solution aqueuse de micelles lipides /détergents. Cette solution peut être conservée 1 semaine au réfrigérateur.

Pour réaliser le dépôt des bicouches lipidiques, la solution obtenue auparavant est diluée jusqu'à l'obtention d'une solution aqueuse de 0,114 mg/ml de micelles. Puis la technique de dépôt comporte deux étapes (fig. B.10):

- incubation (5min) des surfaces dans la solution de micelles dans laquelle on ajoute 2mM de  $\text{Ca}^{++}$  pour que les micelles puissent s'accrocher sur la surface (fig.10a),
- dilution lente (~1h) pour éliminer le détergent et le surplus de lipides (fig.10 b).

Pour obtenir un dépôt lipidique plus compact, on peut réaliser une deuxième incubation / dilution lente, mais cela avec une solution d'incubation dix fois plus diluée (donc avec 0,0114 mg/ml de micelles)



**Fig. B.10.** Dépôt de couches lipidiques par la méthode de co-adsorption des micelles lipides-détergents : a) adsorption des micelles mixtes puis formation de bicouches (mixtes au départ), b) élimination progressive du détergent par dilution lente.

Cette technique est facile à réaliser car elle ne nécessite pas de dispositifs spéciaux, et de plus elle utilise une quantité très faible de lipides. Mais, elle provoque des doutes sur la présence éventuelle de molécules de détergents dans la bicouche lipidique finale. Pour éliminer ce doute, nous avons utilisé une deuxième technique.

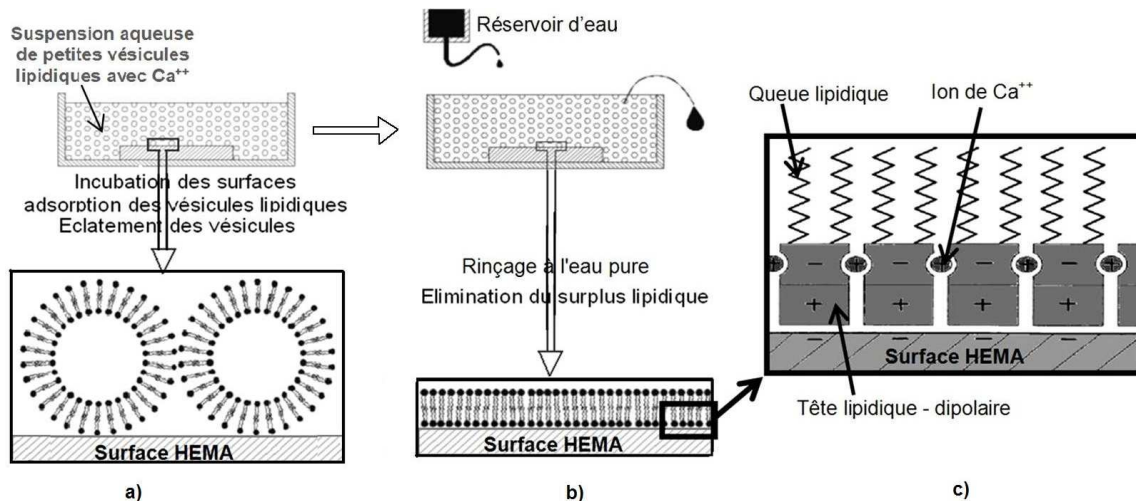
#### Eclatement de vésicules lipidiques sur les surfaces des premiers corps.

Pour réaliser cette technique, il faut d'abord obtenir des vésicules lipidiques de quelques centaines de nanomètres de diamètre. Pour cela, il faut rajouter de l'eau déminéralisée dans le tube à essai contenant l'étalement lipidique, pour obtenir une solution aqueuse de 2g/l de lipides (on a utilisé 12.5 ml d'eau et 25mg de lipides). Cette solution lipidique est soumise à l'aide d'un sonicateur à pointe à de forts ultrasons (50W) pendant 5 mn afin d'obtenir une suspension aqueuse de vésicules lipidiques de quelques centaines de nanomètres de diamètre.

Cette suspension, diluée dix fois, est alors utilisée pour réaliser le dépôt lipidique. La technique du dépôt, schématisée dans la figure 11 consiste à :

- incuber (5 mn) la surfaces frottante dans la suspension diluée de petites vésicules lipidiques. Au cours de l'incubation, 2mM d'ions de  $\text{Ca}^{++}$  sont ajoutés pour que les vésicules puissent s'accrocher et éclater sur la surface (fig. B.11a).
- éliminer le surplus lipidique par rinçage ce qui conduit à l'obtention d'une bicouche lipidique sur la surface frottante (fig. B.11b).





**Fig. B.11.** Dépôt des bicouches lipidiques par la méthode d'éclatement de vésicules lipidiques : a) adsorption des vésicules lipidiques sur la surface de la lentille HEMA, b) après éclatement des vésicules et formation de bicouches, rinçage et élimination du surplus lipidique, c) détail de la structure interne d'une couche lipidique

Les deux techniques décrites dans ce paragraphe permettent d'obtenir des bicouches lipidiques modèles contenant des ions Ca<sup>++</sup>.

Les travaux de Hills [127] montrent que ces ions sont présents également dans les bicouches lipidiques in vivo où leur rôle serait de rigidifier la bicouche en format des liaisons ioniques entre les parties négatives (phosphates) des têtes lipidiques (fig. B.11c).

D'autres travaux [128,129] montrent que la présence des ions, comme Ca<sup>++</sup>, peut modifier les propriétés physico-chimiques des bicouches lipidiques : charge électrique superficielle, perméabilité etc. Pour évaluer le rôle du Ca<sup>++</sup> dans le comportement mécanique et tribologique des bicouches lipidiques, une technique enzymatique a été utilisée pour éliminer cet ion des bicouches lipidiques obtenues par la technique d'éclatement de vésicules. Cette technique consiste à incuber 10 mn les bicouches lipidiques dans une solution de 5 mM d'EDTA (réf. EDS, Sigma-Aldrich). Cette incubation permet à l'EDTA d'éliminer le Ca<sup>++</sup> des bicouches lipidiques par une réaction de chélation<sup>\*\*</sup>. Après cette réaction l'EDTA est éliminé par rinçage à l'eau pure.

Toutes les bicouches lipidiques ainsi obtenues doivent impérativement être maintenues hydratées pour qu'elles ne se transforment pas en monocouches (après déshydratation) ou vésicules (après réhydratation).

Pour caractériser l'intégrité et le comportement mécanique en compression des bicouches lipidiques utilisées dans notre modèle, deux techniques ont été employées : la microscopie optique de fluorescence et la microscopie à force atomique (AFM). Pour cela, des bicouches lipidiques déposées sur des surfaces planes de pyrex de très faible rugosité (rugosité pic à pic de 1 nm maximum), ont été utilisées. Pour garder l'intégrité de ces bicouches les visualisations en microscopie optique de fluorescence et les mesures AFM ont été faites en milieu liquide (eau déminéralisée).

<sup>\*\*</sup> Du mot grec « khêlê », qui signifie « griffes » ou « pinces », la chélation est le procédé par lequel une substance organique (l'agent chélateur) se lie à des minéraux ou des métaux ionisés comme le fer, le calcium, le plomb, le cuivre, etc. Le complexe qui en résulte étant stable, inactif, non toxique et soluble, il peut facilement être éliminé (par voie urinaire – in vivo ou par rinçage – ex vivo).

### B. 1.2.1.2. Caractérisation de l'intégrité par microscopie optique de fluorescence

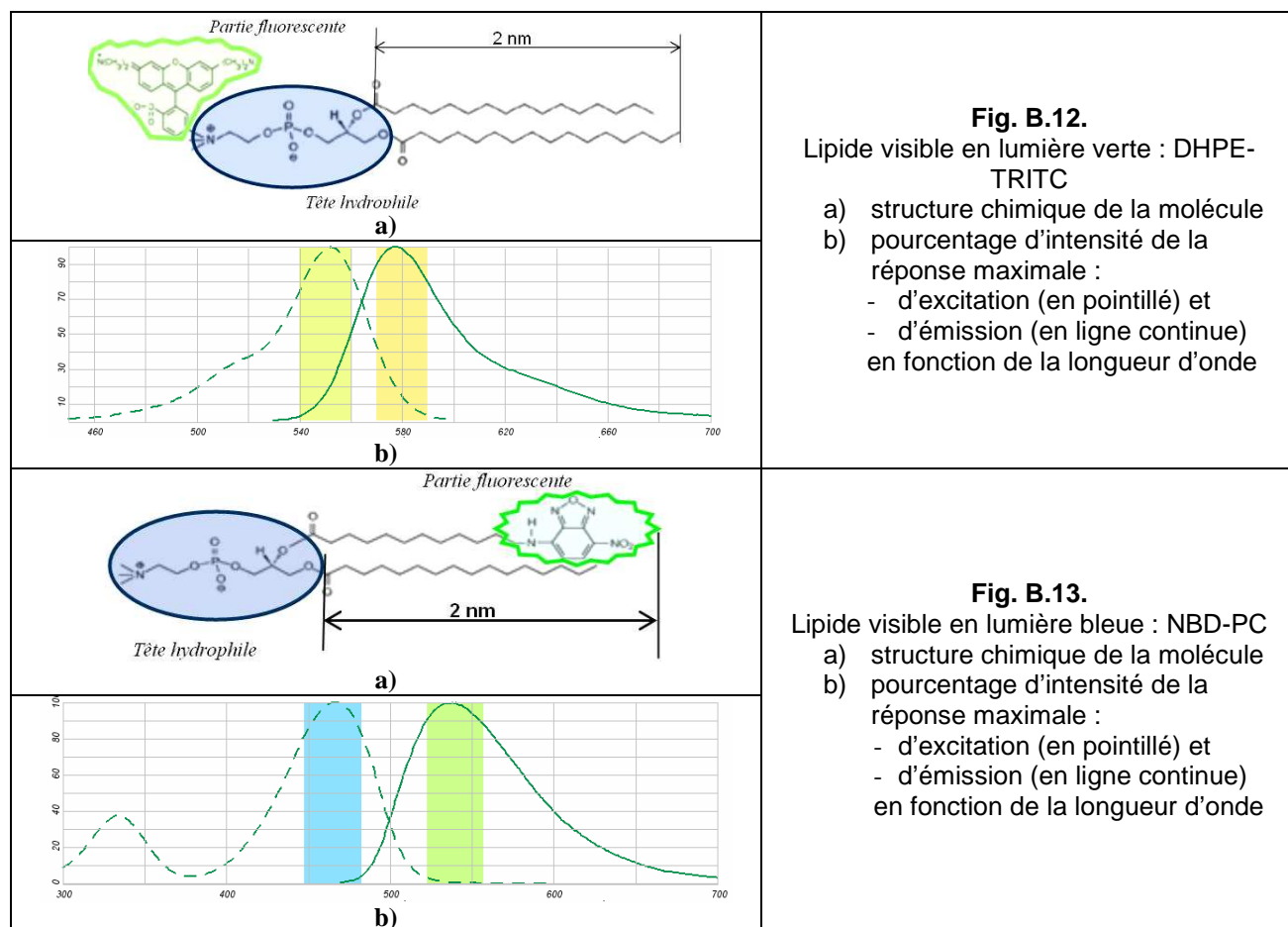
La fluorescence a été utilisée pour visualiser l'intégrité de la bicouche lipidique, qui est transparente en lumière blanche. Pour cela des marqueurs spécifiques pour les bicouches lipidiques sont utilisés [130, 131].

#### Marqueurs moléculaires spécifiques pour les bicouches lipidiques

Un marqueur fluorescent (fluorophore ou fluorochrome) est une molécule qui possède la propriété d'absorber de l'énergie lumineuse (lumière d'excitation) et de la restituer sous forme d'énergie de fluorescence (lumière d'émission). Pour pouvoir séparer et détecter la lumière de fluorescence en microscopie de fluorescence il est essentiel que les deux longueurs d'onde, d'émission et d'excitation soient différentes.

Dans notre étude deux types de marqueurs fluorescents [132] ont été utilisés:

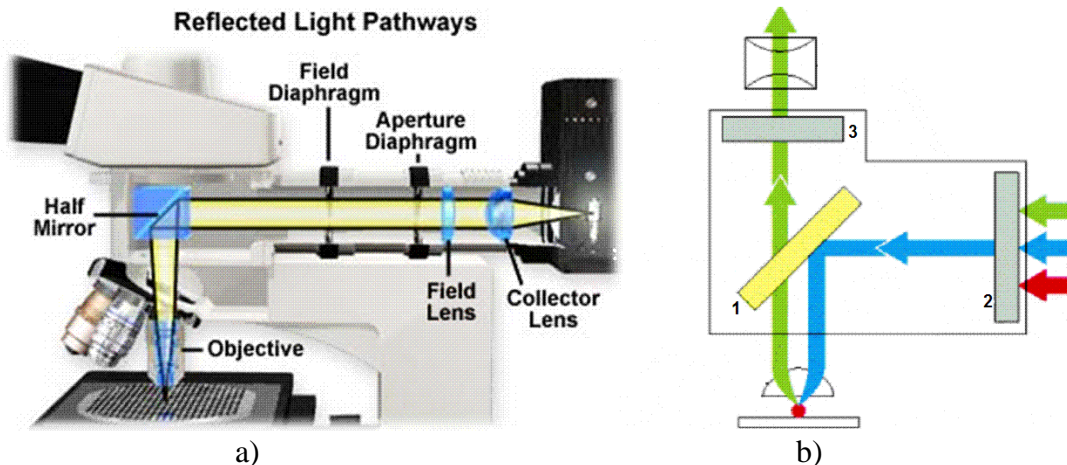
- lipide DHPE-TRITC (T1391 Molecular Probes) dont une partie fluorescente (rhodamine) est liée chimiquement sur la tête lipidique (fig. B.12a). Ces lipides sont excités par la lumière verte (540 nm) et cette excitation le fait émettre une lumière orange (566 nm) (fig. B.12b)
- lipide NBD-PC (810131P Avanti Polars Lipids) dont une partie fluorescente (NBD) est liée chimiquement sur l'une des queues lipidiques (fig. B.13a). Ces lipides sont excités par la lumière bleue (465 nm) et cette excitation le fait émettre une lumière verte (535 nm) (fig. B.13b)



Ces deux marqueurs fluorescents sont mélangés, avant l'obtention du dépôt lipidique, avec la poudre lipidique dans une concentration molaire de 1%.

### Technique de visualisation en microscopie optique de fluorescence

Le microscope optique droit (Leica DMLM) du groupe « Interfaces et Systèmes Confinés » du LPMCN (Université Lyon 1) a été utilisé pour l'observation des bicouches lipidiques contenant un des deux marqueurs fluorescents présentés auparavant. Le principe de la microscopie optique de fluorescence est schématisé sur la figure B.14 [133].



**Fig. B.14.** Schéma du trajet optique de l'illumination sur un microscope droit (a). Pour la fluorescence, le miroir dichroïque (« half mirror ») est remplacé par un cube de fluorescence contenant en plus du dichroïque 1 deux filtres 2 et 3 (b) (voir texte)

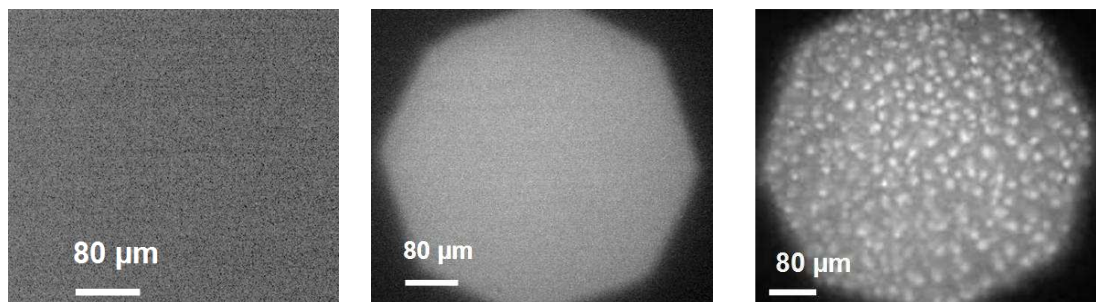
La source de lumière de ce microscope est une lampe à vapeur de mercure qui émet une lumière ayant toutes les longueurs d'onde du visible. Le faisceau lumineux divergent, émis par la source, est transformé en un faisceau parallèle qui est réfléchi par un miroir dichroïque vers l'objectif (fig. B.14a). L'objectif du microscope transforme le faisceau parallèle en un faisceau convergent qui est focalisé sur l'objet analysé. La réflexion de ce faisceau sur l'objet est transmise par l'intermédiaire du miroir dichroïque à l'oculaire qui dans notre cas est aussi relié à une caméra de fluorescence (Leica DC350F). Le diaphragme de champ d'ouverture nous aide à réaliser la mise au point du microscope et à focaliser le faisceau sur la surface d'un objet transparent (par exemple : surface de verre ou surface HEMA). La mise au point est bien réalisée quand on obtient une image nette de la projection du contour octogonal du diaphragme de champ du microscope sur la surface transparente. Ce réglage est ensuite conservé lors des visualisations en fluorescence (figure B.14b). Pour ces visualisations on introduit deux filtres :

- le premier filtre la lumière issue de la source à vapeur de mercure (noté 2 dans la figure B.14b). Il laisse passer seulement la lumière ayant une longueur d'onde capable d'exciter les molécules fluorescentes qui se trouvent sur la surface analysée (la lumière bleue pour NBD-PC et la lumière verte pour DHPE-TRITC). Nous avons utilisé sur le microscope Leica un filtre I3 passe-bande.
- le deuxième filtre la lumière réfléctée et émise par l'objet (noté 3 dans la figure B.14b). Il laisse passer seulement la lumière ayant une longueur d'onde égale à la longueur d'onde d'émission des molécules fluorescentes qui se trouvent sur la surface analysée (la lumière verte pour NBD-PC et la lumière orange pour DHPE-TRITC). Nous avons utilisé sur le microscope Leica un filtre N3 passe-haut.

Ensuite la caméra de fluorescence enregistre les images issues du microscope en les transformant en nuances de gris : les zones plus claires correspondant à des détails plus fluorescents, par rapport aux zones sombres qui ont moins de fluorescence. Il est important, pour comparer les images prises avec le même objectif, de maintenir constants les paramètres principaux de la caméra, qui sont le temps d'exposition, le gain, le minimum et le maximum de l'échelle enregistrée des niveaux de gris.

En employant cette méthode pour la visualisation en fluorescence (lumière bleue ou verte) des bicouches lipidiques, plusieurs situations se présentent:

- Si la surface analysée ne contient pas d'éléments fluorescents en lumière bleue ou verte, le diaphragme n'apparaît pas dans l'image. C'est par exemple le cas d'une surface de verre sans bicouche lipidique (figure B.15a).
- Si la surface analysée contient des éléments fluorescents, les images obtenues en lumière bleue ou verte sont constituées d'une zone claire limitée par l'octogone du diaphragme. Cette zone claire peut être uniforme, comme dans le cas d'une surface de verre avec bicouche lipidique intacte (figure B.15b) ou révéler des détails, comme dans le cas d'une bicouche après déshydratation / réhydratation, présentant des vésicules lipidiques de quelques dizaines de micromètres (figure B.15c)



**Fig. B.15.** Intégrité d'une bicouche lipidique à l'échelle micrométrique a) surface de verre sans couche lipidique, b) Bicouche lipidique intacte (la zone extérieure sombre est définie par le diaphragme de champ du microscope de fluorescence), c) Bicouche lipidique avec des vésicules générées par déshydratation / réhydratation.

### ***B. 1.2.1.3. Caractérisation mécanique par microscopie à force atomique***

La microscopie à force atomique (AFM) a été utilisée pour vérifier l'intégrité de la bicouche lipidique à l'échelle nanométrique et pour caractériser son comportement mécanique en compression / décompression (vérifier sa résistance mécanique).

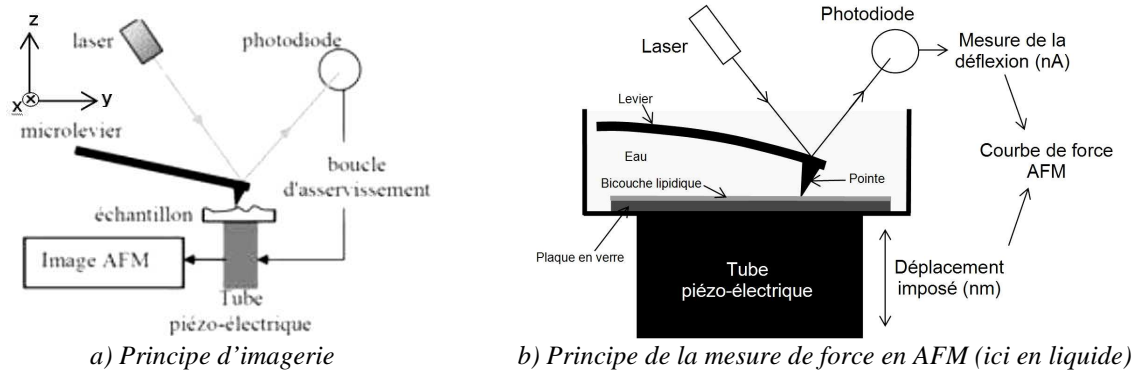
#### Evaluation critique de la méthode

L'élément central de l'AFM est la sonde, qui est un micro-levier sur lequel est montée une pointe (fig. B.16). Cette pointe interagit directement avec la surface étudiée. Par l'intermédiaire d'un tube piézo-électrique, la pointe peut être déplacée suivant les directions X et Y (dans le plan de l'échantillon) et Z (perpendiculairement à l'échantillon). Ce dispositif peut être utilisé en mode imagerie ou mesure de force.



Le principe d'imagerie AFM [134,135]

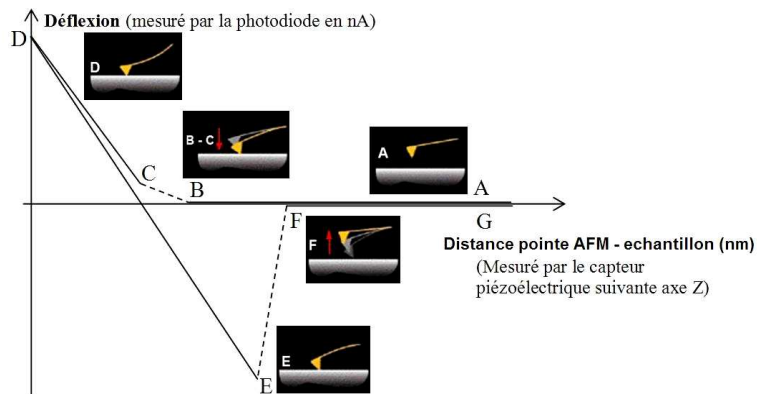
Le principe d'imagerie AFM (fig. B.16a) consiste à mesurer la déflexion verticale du levier par un faisceau laser qui est réfléchi vers une photodiode à quadrants. Une boucle d'asservissement maintient la déflexion  $\delta Z$  du levier constante en agissant sur le tube piézo-électrique dont les variations de tension servent à la construction topographique des images.



**Fig. B.16.** Représentation schématique d'un AFM

Le principe de la mesure de force AFM [136,137]

Le principe de la mesure de force AFM (fig. B.16b) consiste à mesurer la déflexion du levier de l'AFM lors de son approche (compression) et de son retrait (décompression) de la surface testée. La boucle d'asservissement qui maintient constante la position du levier est coupée et ainsi le système d'acquisition du signal est capable de tracer la variation de la déflexion  $\delta Z$  détectée par la photodiode en fonction de la distance entre la pointe et l'échantillon imposée par le piézoélectrique suivant l'axe Z. Cette variation est présentée sous la forme d'une courbe déflexion / distance, appelée courbe de force. L'allure générale d'une courbe de force est présentée sur la figure B.17.

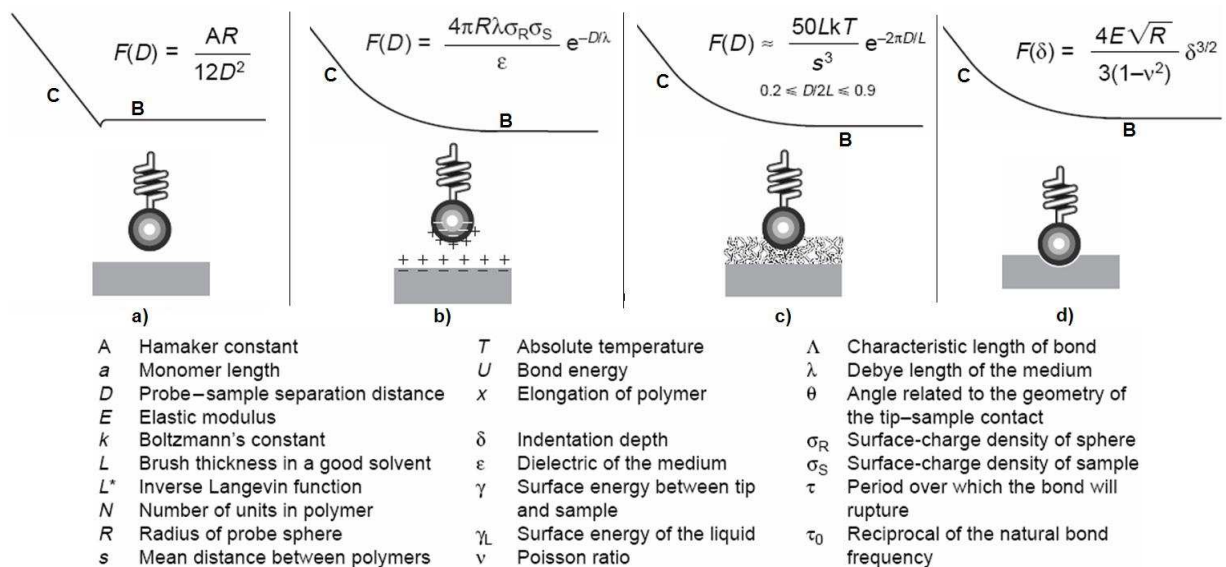


**Fig. B.17.** Représentation d'une courbe force- distance AFM

Durant « l'approche » du levier, on distingue les points suivants :

- le point A représente la position du levier lorsque la pointe est suffisamment éloignée de la surface testée et aucune force n'agit pour fléchir le levier.
- le point B représente la position du levier lorsqu'il commence à fléchir à cause des forces qui agissent au voisinage de la surface testée.
- le point C correspond à la position du levier lorsque la pointe commence à pénétrer dans la surface, la pente de la courbe située entre le point C et le point D correspond à la rigidité du contact « levier – surface testée ».

- la portion B – C est représentée en pointillés car elle est spécifique pour chaque type de surface testée et son allure est donnée par la force dominante qui agit au voisinage de la surface. La figure B.18 montre différentes allures pour la portion B-C de la courbe de force en fonction du type de force dominante. Ainsi :
  - Si la force dominante est de type **Van der Waals**, on observe que la portion B-C a un profil attractif qui commence à une distance située à quelques nanomètres de la surface testée (fig. B.18a). Cette force (de dispersion) provient des fluctuations des dipôles électriques des atomes ou molécules (voir aussi l'annexe 5). Ce type d'allure est plus visible dans les courbes AFM en milieu liquide où les valeurs typiques pour les forces Van der Waals sont situées entre  $10^{-10}$  N et  $10^{-9}$  N, selon le liquide. Notons, qu'il existe dans certains liquides une forme répulsive de la force de Van der Waals.
  - Si la force dominante est de type **électrostatique** on observe que la portion B-C a un profil répulsif qui commence à une distance située à quelques dizaines de nanomètres de la surface testée (fig. B.18b). Cette force est due à la présence de charges électriques qui :
    - dans le cas de mesures AFM à l'air, proviennent du piégeage des charges électriques entre la pointe et la surface. Ces forces peuvent être énormes pour les surfaces isolantes.
    - dans le cas de mesures AFM en milieu liquide, sont dues à la dissociation des groupements surfaciques sur le levier et la surface. Ces forces dépendent de la concentration en ions dans la solution et éventuellement du pH, de la pression osmotique de la solution.
  - Si la force dominante est de type **moléculaire (balai – brosse moléculaire)** on observe que la portion B-C a un profil répulsif qui commence à une distance très proche de la surface testée (1 – 2 nm, fig. B.18c)
  - Si la surface testée n'est pas rigide, la force dominante est de type **élastique**. On observe alors que la portion B-C a un profil répulsif qui commence à une distance proportionnelle à la raideur du contact surface testée –levier AFM. Dans ce cas la portion B-C est utilisée pour déterminer les caractéristiques élastiques des surfaces testées (expériences de nano indentation, fig. B.18d).



**Fig. B.18.** Différentes allures pour la partie B-C de la courbe de force en fonction du type de force dominante [160]

Durant le « retrait » du levier AFM, on distingue sur la figure B.17 les points suivants:

- la portion de courbe située entre le point D et le point E correspond au maintien en compression du contact « levier – surface testée ». Cette portion de courbe n'est pas toujours identique à la portion C – D, car elle est influencée par les forces d'adhésion entre la pointe du levier et la surface, et parce qu'il existe souvent des dérives thermiques du signal AFM. Les forces d'adhésion d'origine moléculaire maintiennent la pointe en contact plus longtemps lors du retrait que lors de l'approche.
- la portion de courbe située entre le point E et le point F représente la partie qui correspond au décrochage de la pointe de la surface testée. Ce décrochage peut être brutal si les liaisons adhésives entre la pointe et la surface testée sont rompues simultanément, et non accessible instrumentalement (portion en pointillés sur la Fig. B.17). Par contre si les liaisons adhésives sont rompues progressivement cette partie présente des fluctuations. La différence de déflexion entre le point F et le point E représente l'effort d'adhésion maximal. La figure B.19 montre différentes allures de décrochage E-F selon le type d'adhésion. Ainsi :
  - Si la force d'adhésion dominante est de type **adhésion métallique** (Figure B.19a), on observe que le point E est situé très près de la surface testée (1-2 nm) et les liaisons adhésives entre la pointe et la surface testée sont rompues simultanément.
  - Si la force d'adhésion dominante est de type **capillaire** (Fig. B.19b), on observe que le point E est situé à une distance de l'ordre de 10 nm de la surface testée (point C). Le pont capillaire rompt en général brutalement. Cette force est importante dans les mesures AFM à l'air, quand la surface de l'échantillon est recouverte d'une couche d'eau (épaisseur de 5 à 50 nm) et elle dépend fortement de la forme de la pointe et du taux d'humidité de l'air. Une estimation de cette force est de 30 nN, d'où la recommandation de travailler dans un environnement d'azote sec ou de plonger le système levier échantillon dans un liquide. Lorsqu'on travaille dans les liquides, la force de capillarité disparaît.
  - Dans le cas où de longues chaînes moléculaires (polymères, protéines...) sont adsorbées sur les surfaces testées, on a une force d'adhésion dominante de type **étirement moléculaire** (Fig. B.19c). Dans ce cas, on observe que le point de rupture E est situé loin de la surface testée (quelques dizaines ou centaines de nm) mais que la rupture est en général brutale.
  - Si la force d'adhésion dominante est de type « **ligand-récepteur** » ou « **ancrage membranaire** » avec un grand nombre de ligands en présence (Fig. B.19d), on observe que les liaisons adhésives entre la pointe et la surface sont rompues progressivement (partie E – F fluctuante). Le point E est situé plus près ou plus loin de la surface testée en fonction du type d'interaction moléculaire présente.

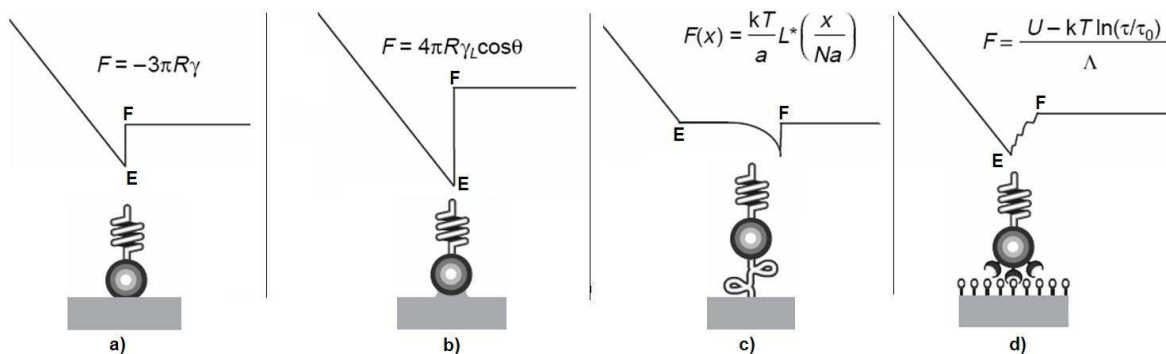
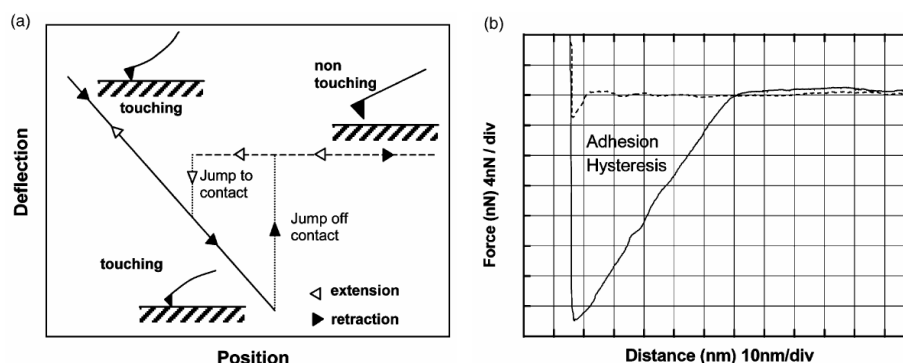


Fig. B.19. Différentes allures pour la partie E-F de la courbe AFM en fonction du type de force dominante [160]

## Hystérésis d'adhésion

Plusieurs études [138, 139] ont permis de montrer que l'aire comprise entre la courbe d'approche (aller) et celle de retrait (retour) de la pointe AFM sur la surface testée est proportionnelle à l'énergie d'adhésion emmagasinée durant le contact, qui pour cette raison est appelée hystérésis d'adhésion. Pour en avoir la valeur exacte, il faut soustraire l'influence de la raideur du contact et du levier AFM utilisé : cela se fait en redressant la courbe, comme le montre la figure B.20, et cela passe par une étape de calibration du levier AFM.



**Fig. B.20** a) Représentation d'une courbe force-distance AFM brute : « déflexion » est le signal de déflexion du levier (courant en nA dans les photodiodes) proportionnel à la force agissant sur le levier, « Position » représente la position verticale relative  $Z_p$  du capteur piézo-électrique. b) Redressement de la courbe AFM pour pouvoir calculer l'énergie d'adhésion de la surface testée, égale à l'aire de l'hystérésis d'adhésion : la force  $F$  est convenablement convertie à partir de la raideur  $k_c$  du levier et la « distance » correspond ici à la vraie distance pointe échantillon  $h$  :  $h = Z_p + F/k_c$

## Calibration du levier AFM

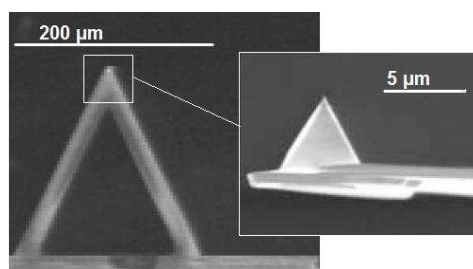
Actuellement, la méthode du bruit thermique est la plus utilisée pour calibrer la raideur des leviers, car elle est très simple [140]. Elle consiste à mesurer l'amplitude  $Z$  des vibrations d'origine thermique du levier libre hors contact, et à calculer la raideur du levier en utilisant le théorème d'équipartition de l'énergie :  $1/2k_c \langle Z^2 \rangle = 1/2k_B T$  où  $k_c$  est la raideur du levier,  $\langle Z^2 \rangle$  est en général mesuré dans l'espace des fréquences,  $k_B$  la constante de Boltzman et  $T$  la température en K.

Cette méthode est valide à condition de prendre en compte par un facteur correctif les faits suivants [141] :

- La méthode optique de mesure des déflexions du levier est surtout sensible à l'angle de déflexion plutôt qu'au déplacement, et la relation angle - déplacement n'est pas la même suivant les modes de vibrations.
- Expérimentalement, on n'a accès qu'aux premiers modes de vibration du ressort ( $\langle Z_{21} \rangle$ ), or le calcul de  $\langle Z^2 \rangle$  doit se faire, en théorie, sur tous les modes vibratoires.

Des travaux antérieurs [142] ont estimé, en utilisant une méthode de simulation par éléments finis des modes de vibration d'un levier triangulaire (avec une géométrie similaire à celle utilisée dans notre étude), que le facteur correctif est de 0.764. Cela permet de calculer la raideur du levier avec la formule  $k_c = 0.764k_B T / \langle Z_{21} \rangle$ . La méthode du bruit thermique (sans le facteur correctif) est déjà implémentée dans le logiciel SPMLab pilotant l'AFM Topometrix utilisé durant cette thèse (AFM du groupe « Interfaces et Systèmes Confinés » du

LPMCN, Université Lyon 1) et nous a permis d'estimer la raideur normale du levier utilisé dans notre étude à 0.42 N/m. Ce levier a une forme triangulaire avec une pointe pyramidale en nitrure de silicium d'un rayon de 20nm (fig. B.21).



**Fig. B.21.** Image du levier et de la pointe AFM en microscopie électronique à balayage

D'autre part, il serait nécessaire de réaliser une calibration des capteurs AFM (piézoélectrique et photodiode) pour convertir la mesure de la déflexion, en nA, en une valeur d'effort correspondante. Mais, comme les capteurs AFM ont une dérive importante en fonction du milieu ambiant (température, humidité ....) on a choisi de présenter les résultats en nA et de ne pas réaliser une analyse quantitative. Donc par la suite, sont présentés seulement les résultats représentatifs<sup>††</sup> des bicouches lipidiques obtenus par différentes méthodes. Ces résultats sont interprétés de manière qualitative et comparative entre eux. Quelques résultats quantitatifs seront donnés seulement pour avoir un ordre d'idée de la valeur de la pression mécanique à laquelle peuvent résister les bicouches lipidiques. Dans le cadre de la thèse d'Audrey Steinberger [143], des mesures qualitatives viennent d'être obtenues avec une machine de force de surface.

### Interprétation des mesures AFM pour les bicouches lipidiques

Des bicouches lipidiques déposées sur des surfaces planes de verre en borosilicate de très faible rugosité (rugosité pic à pic de 1nm maximum) ont été testées par des mesures de forces AFM. Pour garder l'intégrité de ces bicouches, les mesures ont été faites en milieu liquide (eau pure) (fig. B.17.b). Les résultats de ces mesures de force AFM montrent six types de courbes, chacune de ces courbes étant spécifique d'un type de bicouche lipidique :

- bicouche de DOPC obtenue par la technique de co-adsorption de micelles lipides / détergent avec une seule incubation,
- bicouche de DOPC obtenue par la technique de co-adsorption de micelles lipides / détergent avec deux incubations,
- bicouche de DOPC obtenue par la technique d'éclatement des vésicules,
- bicouche de DOPC obtenue par la technique d'éclatement des vésicules, puis enlèvement du calcium par l'EDTA,
- bicouche de DOPC obtenue par la technique d'éclatement des vésicules et présentant des défauts géométriques : vésicules non éclatées,
- bicouche de DPPC obtenue par la technique d'éclatement des vésicules.

---

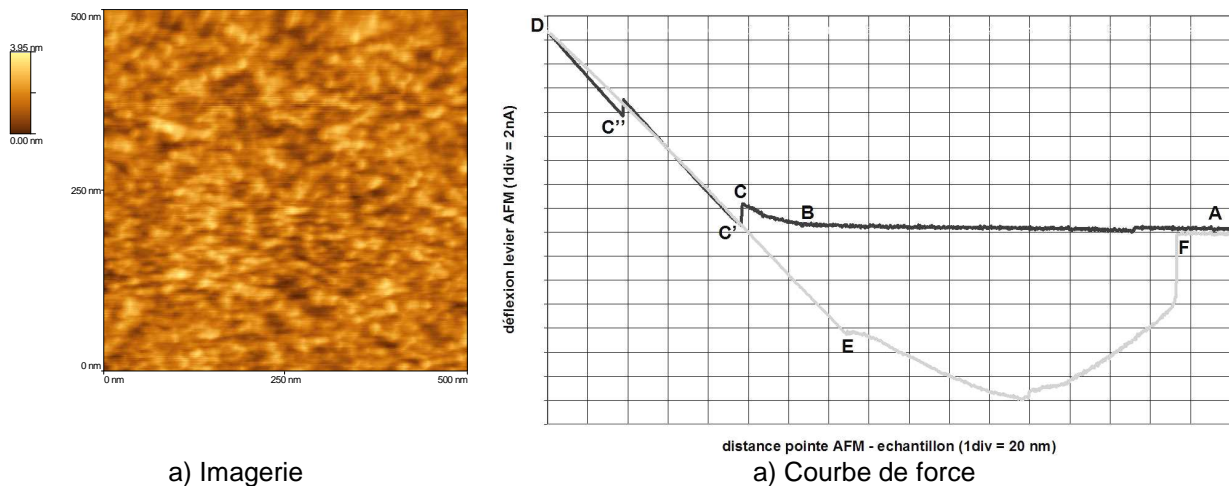
<sup>††</sup> On considère une courbe de force AFM comme représentative d'un type de bicouche lipidique si on obtient les mêmes spécificités pour 24 points de mesure correspondant à 6 bicouches différentes obtenues en utilisant la même technique et les mêmes types de lipides mais en partant de 3 solutions lipidiques différentes car obtenues des jours différents.

Nous n'avons pas obtenu de courbes de force reproductibles avec les couches suivantes:

- bicouche de DPPC + cholestérol obtenue par la technique de co-adsorption des micelles lipides / détergent. Le cholestérol a été utilisé pour faciliter la dissolution du DPPC, mais sa présence dans les bicouches a entraîné des difficultés expérimentales, notamment la séparation des phases DPPC et cholestérol,
- bicouche de DPPC obtenue par la technique d'éclatement des vésicules, puis enlèvement du calcium par l'EDTA. L'imagerie AFM de ces bicouches a montré des pics de rugosité d'environ 5 nm. Ces pics pourraient correspondre à la présence d'EDTA qui reste accroché à la couche après l'enlèvement du calcium. Faute de temps nous n'avons pas pu reproduire cette expérience.

Par conséquent, les courbes AFM obtenues avec ces bicouches ne sont pas présentées.

Bicouche de DOPC obtenue par la technique de co-adsorption de micelles lipides / détergent avec deux incubation



**Fig. B.22.** Mesures AFM sur des bicouches de DOPC obtenues par la technique de co-adsorption de micelles lipides / détergent avec deux incubations en présence de 2mM de  $Ca^{++}$ .

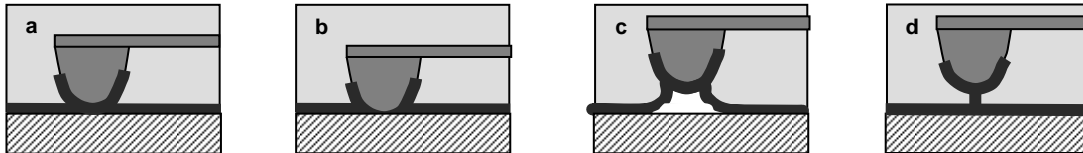
L'imagerie AFM de ces bicouches (fig. B.22a) montre une assez bonne intégrité à l'échelle nanométrique avec une rugosité pic à pic d'environ 4 nm. Les courbes de force (fig. B.22b) montrent deux spécificités :

- **la présence de deux sauts d'environ 5 nm chacun** (point C' et C'') dans la portion C – D de la courbe d'approche. D'après les travaux de Pera I. et al. [144], ces sauts, dont la valeur correspond à l'épaisseur d'une bicouche, suggèrent l'existence de deux bicouches, l'une déposée sur le plan, et l'autre qui se serait formée sur la pointe lors d'un précédent contact. Ainsi, le premier saut peut correspondre à une hémifusion des deux bicouches (fig. B.23a) et le deuxième saut peut correspondre à une rupture de la bicouche lipidique formée par la fusion des deux bicouches (fig. B.23b). Cette situation pourrait correspondre aussi à la présence d'une quadricouche (deux bicouches superposées) formée au cours de la fabrication de la bicouche (ici à l'aide de deux incubations de micelles). Néanmoins, de telles quadricouches sont extrêmement fragiles (J. P. Rieu, communication personnelle) pour cela on note que nous n'observons pas toujours le deuxième saut. La mesure de l'effort nécessaire



pour produire le premier saut C permet, en connaissant le rayon de la pointe (20nm), d'estimer la pression ayant conduit à la destruction : quelques kPa.

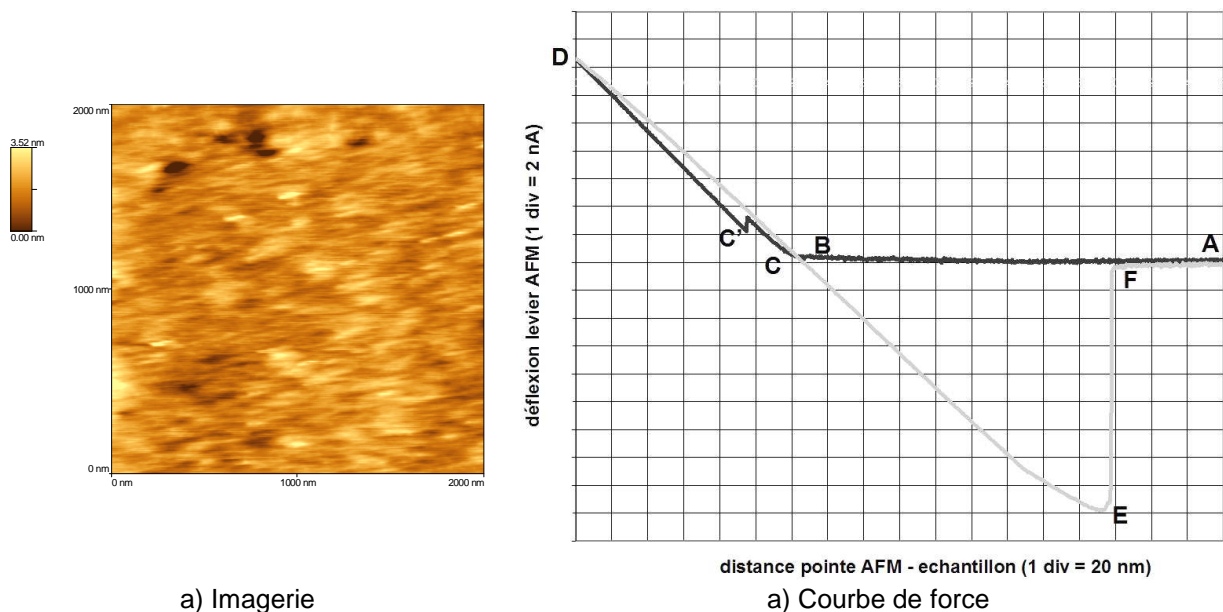
- **une très grande hystérésis d'adhésion.** Cette adhésion s'oppose au décrochage de la pointe lors du « retrait » et donne un profil de décrochage progressif (portion E – F de la figure B.22b). Ce profil pourrait correspondre soit à un étirement de la bicouche lipidique sur la pointe AFM (fig. 23c), soit à la formation d'un tube de membrane lipidique entre deux bicouches lipidiques situées sur la surface du verre et sur la pointe (fig. 23d). Ces interprétations sont aussi données dans les travaux de Benz et al. [145], de Leduc et al. [146] et de Pera et al. [147].



**Fig. B.23.** Représentation schématique des perturbations des bicouches. Lors de la compression : a – hémifusion, b – rupture. Lors de la décompression : c – étirement, d – formation de d'un tube de membrane lipidique

Bicouche de DOPC obtenue par la technique de co-adsorption de micelles lipides / détergent avec une seule incubation des surfaces.

L'imagerie AFM de ces bicouches (fig. B.24a) montre une bonne intégrité à l'échelle nanométrique avec une rugosité pic à pic d'environ 1.5 nm.



**Fig. B.24.** Mesures AFM sur des bicouche de DOPC obtenues par la technique de co-adsorption de micelles lipides / détergent avec une seule incubation en présence de 2mM de  $Ca^{++}$ .

Les courbes AFM obtenues pour ces bicouches (fig. B.24b) montrent deux spécificités :

- un saut d'environ 5 nm, point C' sur la portion C – D de la courbe d'approche, qui peut correspondre soit à une rupture de la bicouche lipidique (dont l'épaisseur est d'environ 5nm) générée par la pénétration de la pointe dans la surface lipidique (fig. B.25a), soit à une hémifusion de la bicouche avec une autre bicouche qui se serait

formée sur la pointe lors d'un précédent contact (fig. B.25b). Quoiqu'il en soit ce saut correspond à une « destruction » de la couche. La mesure de l'effort nécessaire pour produire ce saut permet, connaissant le rayon de la pointe (20nm), d'estimer la pression ayant conduit à la destruction à quelques MPa près.

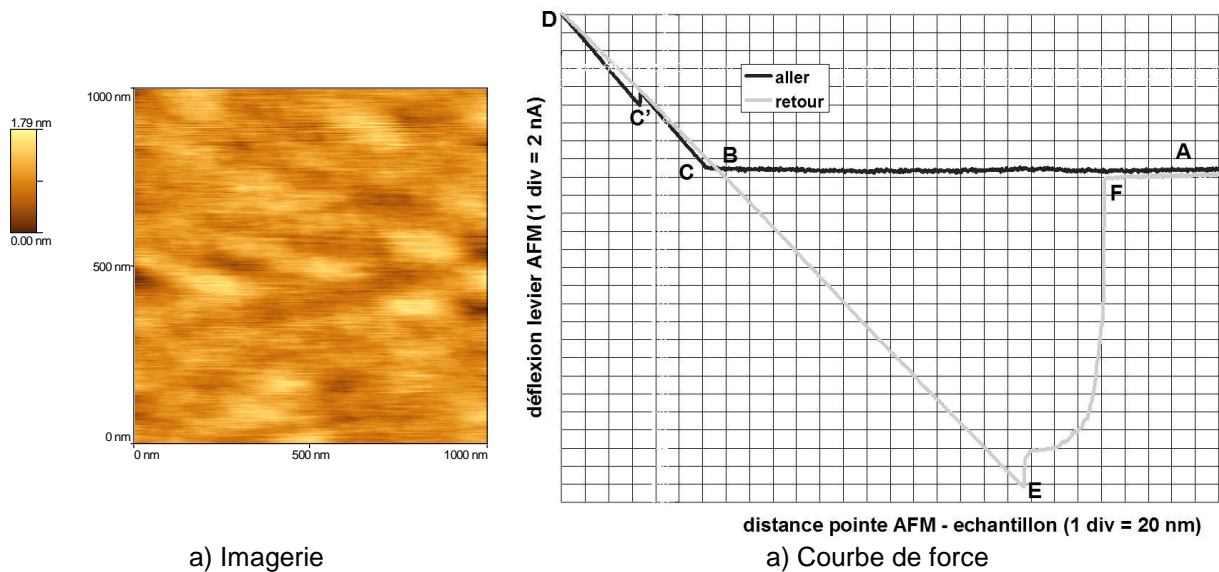
- une valeur très importante de l'hystérésis d'adhésion mais avec une rupture brutale de la pointe AFM (portion E – F de la courbe AFM) ce qui indique qu'il n'y a pas d'étirement de la couche lipidique sur la pointe AFM, contrairement au cas de la figure B.22b.



**Fig. B.25.** Représentation schématique des perturbations des bicouches lors de la compression (a, b), et lors de la décompression (c, d) ; a – pénétration, b – hémifusion

Bicouche de DOPC obtenu par la technique d'éclatement des vésicules puis enlèvement du calcium par l'EDTA

L'imagerie AFM de ces bicouches (fig. B.26a) montre une bonne intégrité à l'échelle nanométrique avec une rugosité pic à pic d'environ 1.5 nm.



**Fig. B.26.** Mesures AFM sur des bicouches de DOPC obtenues par la technique d'éclatement des vésicules puis enlèvement du  $\text{Ca}^{++}$  par l'EDTA

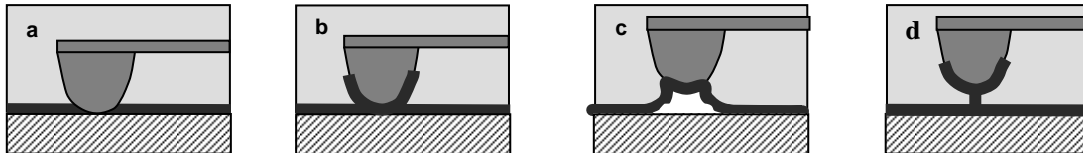
Les courbes de force obtenues pour ces bicouches (fig. B.26b) montrent deux spécificités :

- un saut d'environ 5 nm, au cours de la portion C – D de la courbe d'approche, qui peut correspondre soit à une rupture de la bicouche lipidique (dont l'épaisseur est d'environ 5nm) générée par la pénétration de la pointe dans la surface lipidique (fig. B.27a), soit à une hémifusion de la bicouche avec une autre bicouche qui se serait



formée sur la pointe lors d'un précédent contact (fig. B.27b). Quoiqu'il en soit ces deux cas correspondent à une « destruction » de la couche. La mesure de l'effort nécessaire pour produire ce saut permet, connaissant le rayon de la pointe (20nm), d'estimer la pression ayant conduit à la destruction : quelques MPa.

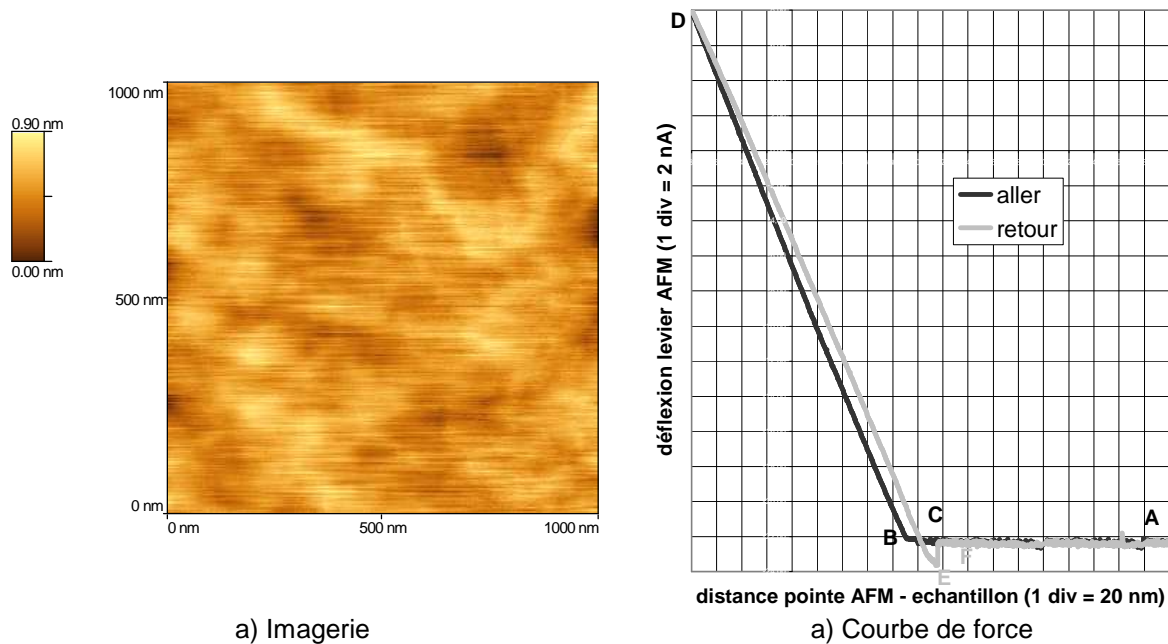
- une valeur très importante de l'hystérésis d'adhésion. Cette adhésion s'oppose progressivement au décrochage de la pointe lors du « retrait » (portion E – F). Ce profil pourrait correspondre soit à un étirement de la bicouche lipidique sur la pointe (fig. B.27c), soit à la formation d'un tube de membrane lipidique entre la surface et la pointe (fig. B.27d).



**Fig. B.27.** Représentation schématique des perturbations des bicouches lors de la compression (a, b), et lors de la décompression (c, d) ; a – pénétration, b – hémifusion, c – étirement, d – formation de membrane lipidique tubulaire

Bicouche de DOPC obtenu par la technique d'éclatement de vésicules

L'imagerie AFM de ces bicouches (fig. B.28a) montre une bonne intégrité à l'échelle nanométrique avec une rugosité pic à pic d'environ 1 nm.



**Fig. B.28.** Mesures AFM sur des bicouches de DOPC obtenues par la technique d'éclatement de vésicules en présence de 2mM de  $Ca^{++}$ .

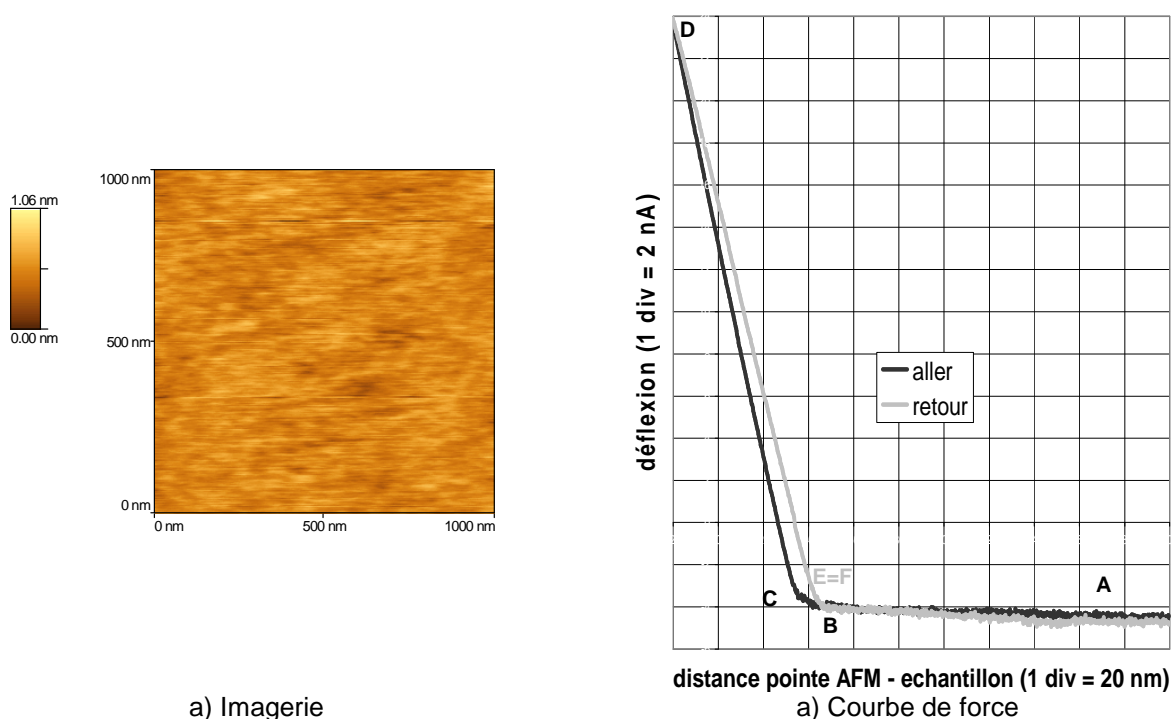
Les courbes AFM obtenues pour ces bicouches (fig. B.28b) montrent que ces bicouches ne sont pas rompues par la pointe AFM (pas de saut sur la portion C-D). Ces courbes présentent une valeur très faible d'hystérésis d'adhésion. Cette adhésion qui ne produit pas d'étirement lipidique car la rupture E-F est brutale. A partir de la valeur de l'effort maximal appliqué au cours de cette mesure et en connaissant le rayon de courbure de la pointe (20nm)

on estime que ces bicouches résistent à plus de quelques dizaines de MPa (dans le cas de la figure 28b la bicouche lipidique testée résiste à plus de 50MPa).

### Bicouche de DPPC obtenu par la technique d'éclatement de vésicules

L'imagerie AFM de ces bicouches (fig. B.29a) montre une bonne intégrité à l'échelle nanométrique avec une rugosité pic à pic d'environ 1 nm.

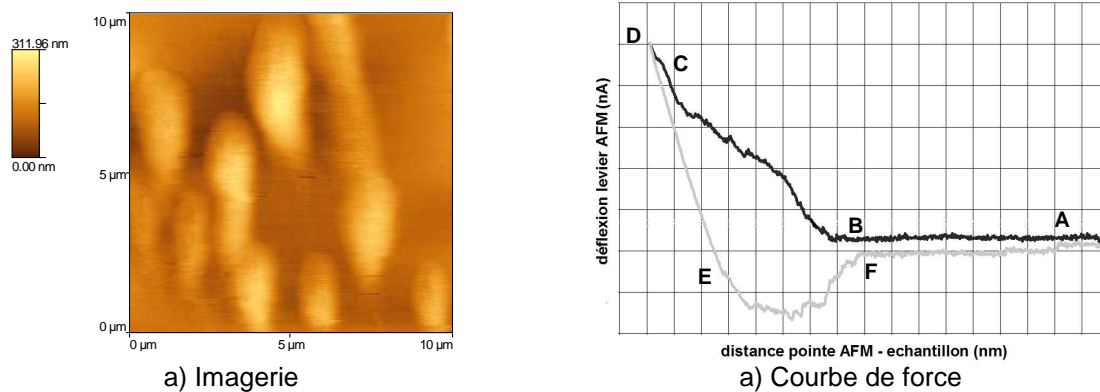
Les courbes AFM obtenues pour ces bicouches (fig. B.29b) montrent que ces bicouches ne sont pas pénétrées par la pointe AFM (pas de saut sur la partie C-D). Ces courbes ne présentent également aucune adhésion. De la même manière que précédemment, on estime que ces bicouches résistent à plus de quelques dizaines de MPa (dans le cas de la figure 29b la bicouche lipidique testée résiste à plus de 47MPa).



**Fig. B.29.** Mesures AFM sur des bicouches de DPPC obtenues par la technique d'éclatement de vésicules en présence de 2mM de  $Ca^{++}$

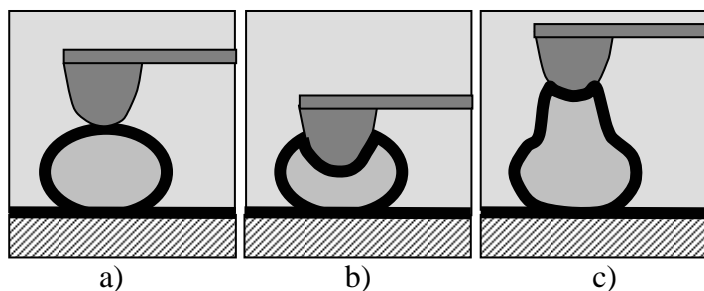
### Bicouche de DOPC présentant des vésicules lipidiques

L'imagerie AFM de ces bicouches (fig. B.30a) montre qu'elles ne sont pas homogènes à l'échelle nanométrique, elles présentent des vésicules lipidiques de quelques dizaines de nm à quelques centaines de nm qui sont probablement dues à un accident au cours de la phase d'obtention de la bicouche par la technique d'éclatement des vésicules, qui a fait que ces vésicules n'ont pas éclaté.



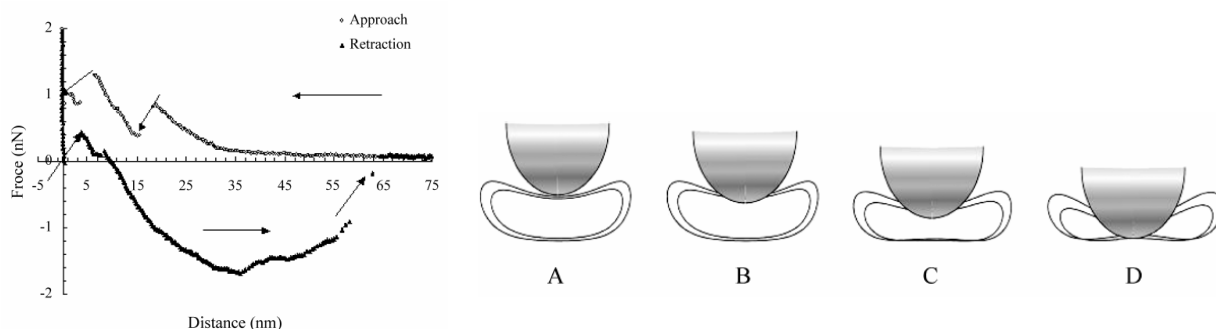
**Fig. B.30.** Mesures AFM sur des bicouches DOPC présentant des vésicules lipidiques

Dans ce cas, les courbes de force AFM (fig. B.30b) présentent des fluctuations tant dans la phase de compression (BC) que dans la phase de décompression (EF) de la couche lipidique. Ces fluctuations pourraient être dues à la compression élastique de la vésicule lipidique, qui génère une déformation non uniforme (fig. B.31b) de la vésicule, ou à l'étirement de la membrane de la vésicule sur la pointe AFM dans la phase de décompression (fig. B.31c).



**Fig. B.31.** Compression – décompression AFM des vésicules lipidiques

Le même type de courbes ont été obtenues dans les travaux de Guanqzhao Mao et all. avec des liposomes EggPC [147] (fig. B.32a, fig. B.32b).



**Fig. B.32.** Mesure de force AFM pour des vésicules lipidiques de EggPC de qq. dizaines de nm en diamètre [132] a) courbe de force b) Schéma de la compression AFM d'une vésicule. (A) compression élastique (B) pénétration dans la bicouche supérieure de la vésicule (C) poursuite de la compression en maintenant le lien entre la pointe et la bicouche supérieure (D) pénétration dans la bicouche inférieure

### Conclusion : rôle du calcium et du détergent sur la résistance mécanique des bicouches

Les mesures de forces montrent que les bicouches lipidiques contenant du  $\text{Ca}^{++}$  résistent à une pression normale de plusieurs dizaines de MPa (figures B.28b et B.29b), ce qui est bien supérieur aux pressions de contact articulaire lors de la marche normale (celles-ci ne sont que de quelques MPa). En revanche, en l'absence de  $\text{Ca}^{++}$  ou en présence de molécules de détergent, on observe :

- une diminution de la résistance mécanique des bicouches lipidiques car elles sont « pénétrées » pour des pressions de quelques MPa lors de l'approche,
- une diminution de la rigidité intrinsèque des bicouches car elles sont étirées sur la pointe AFM lors du retrait.

#### **B.1.2.2. Poches de gel synovial**

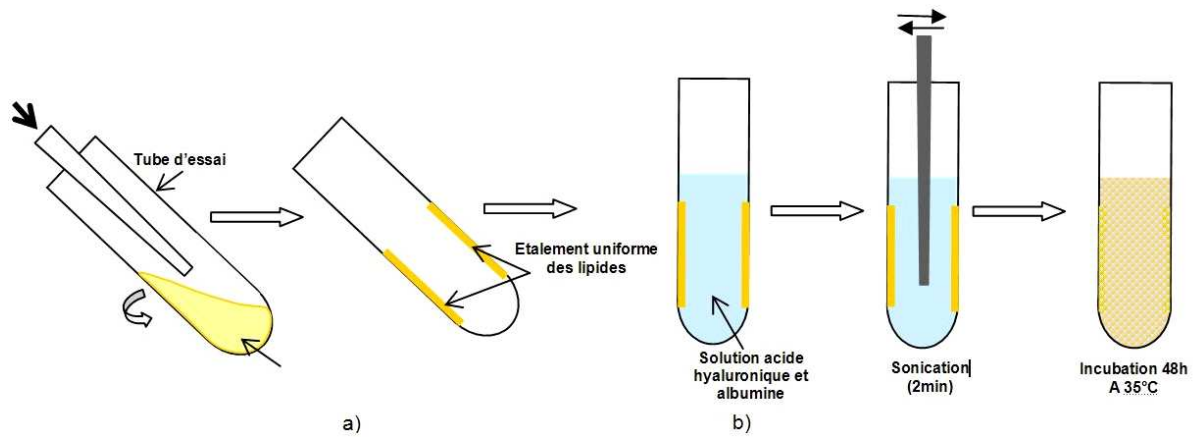
Les poches de gel synovial ont été synthétisées à partir de lipides DPPC (1,2-Dipalmitoyl-*sn*-Glycero-3-Phosphocholine, 850355CP Avanti Polars Lipids), d'acide hyaluronique (H7630 Sigma-Aldrich) et d'albumine sérique (A1653 Sigma-Aldrich), acquis sous forme de poudre, puis mis en solution dans du sérum physiologique, de façon à obtenir des concentrations équivalentes à celles du fluide synovial.

Les accumulations de lipides dues à leur très faible solubilité dans des solutions aqueuses, ont été éliminées en utilisant une technique spécifique à la fabrication de liposomes [148, 149]. Elle consiste tout d'abord à générer deux solutions de volume identique:

- une solution de 3 g/l de lipides dans un solvant composé de 90% en volume de chloroforme et 10% d'éthanol,
- une solution de 3 g/l d'acide hyaluronique et 20 g/l d'albumine sérique dans du sérum physiologique.

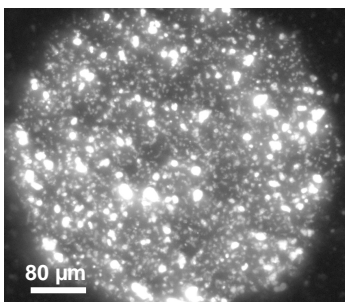
Puis les poches de gel synovial sont formées en suivant la procédure schématisée figure B.33, et dont les étapes successives sont les suivantes:

- par évaporation du solvant à l'azote (figure B.33a) et centrifugation manuelle de la première solution, on provoque l'étalement des lipides sur la paroi interne d'un tube à essais en verre.
- on ajoute ensuite la solution d'acide hyaluronique et albumine sérique dans le tube à essais, et on soumet l'ensemble aux ultra sons pendant 2 minutes pour provoquer la formation de vésicules, avant de laisser incuber pendant 48 heures à 45°C afin que les vésicules incorporent le gel synovial et forment ainsi le poches de gel synovial (figure B.33b)



**Figure B.33.** Procédure d'obtention de poches de gel synovial entourées de multicouches lipidiques

Pour visualiser ces poches synoviales au cours du frottement, on a utilisé des marqueurs fluorescents en lumière verte : lipides NBDPC (cf. fig. B.13). L'image en fluorescence, fig. B.34, montre la présence de poches lipidiques dans la solution ainsi obtenue, au voisinage d'une surface.



**Fig. B.34.** Image de microscopie optique de fluorescence (lumière verte) de la solution modèle de synovie. Les taches plus claires sont des poches de gel synovial formées par auto assemblage de l'acide hyaluronique, de l'albumine et des lipides

N'ayant pas accès à une autre méthode de caractérisation de ces poches, on a d'abord considéré que la technique utilisée pour les obtenir permet l'incorporation totale du gel synovial dans des poches lipidiques. Le chapitre C montrera qu'en fait cela n'a été pas le cas, ce qui rendra nécessaire pour les futurs essais l'utilisation de techniques de caractérisation du volume de la solution contenant les vésicules, telles que la microscopie électronique, la diffusion de la lumière...

Des essais d'accrochage de vésicules lipidiques contenant le gel synovial sur des surfaces de verre ont été réalisés afin de caractériser les propriétés de résistance mécanique de ces vésicules en AFM. Pour cela, des incubations de surfaces de verre en présence des vésicules et du  $\text{Ca}^{++}$  ont été réalisées. Mais les vésicules lipidiques contenant le gel synovial ne se sont pas accrochées sur les surfaces. Des substances spécifiques favorisant l'accrochage des vésicules sur les surfaces en verre sont donc à envisager (fonctionnalisation des surfaces de verre avec des molécules biologiques).

### **B.1.2.3. Conclusion**

Le paragraphe B.1.2 a montré la démarche qui a conduit au choix et à la reproduction du troisième corps modèle (modèle de synovie), qui est composé de bicouches lipidiques déposées sur les surfaces frottantes des premiers corps et séparées par des poches de gel synovial.

Les bicouches lipidiques ont été obtenues en utilisant des lipides en phase fluide (DOPC) et solide (DPPC), avec ou sans  $\text{Ca}^{++}$ , et avec ou sans détergent. L'intégrité et la résistance mécanique des bicouches lipidiques utilisées sont vérifiées en utilisant la microscopie optique en fluorescence et la microscopie de force atomique. Nous avons montré que le  $\text{Ca}^{++}$  augmente la résistance mécanique et la rigidité de la bicouche, tandis que le détergent produit une baisse de résistance mécanique et de rigidité de la bicouche.

D'autre part, faute de temps et de moyens de caractérisation, les poches de gel synovial obtenues n'ont pas pu être caractérisées, ni mécaniquement (résistance en compression), ni chimiquement (pourcentage de gel incorporée dans les poches lipidiques).

## **B.1.3. Mécanisme articulaire modèle**

### **B.1.3.1. Choix des paramètres mécaniques**

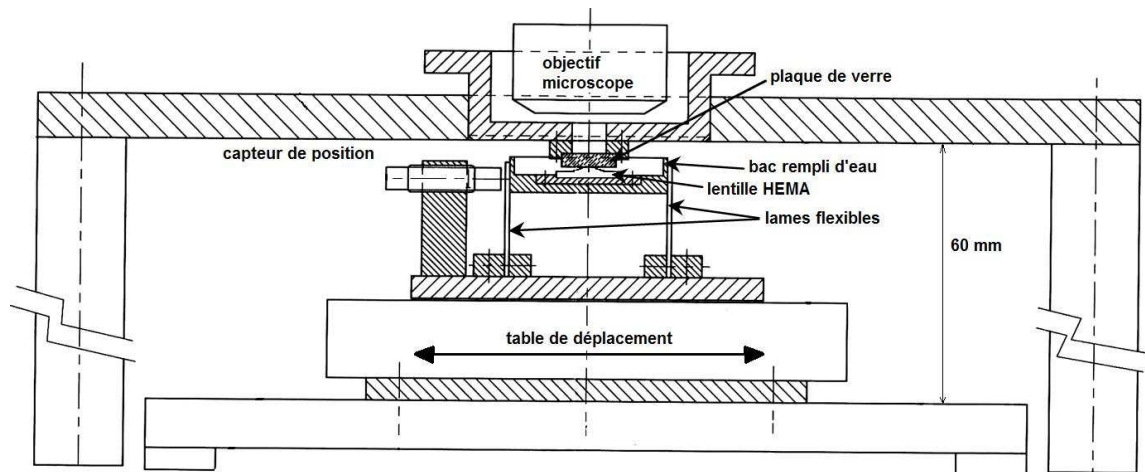
Le mécanisme tribologique du modèle articulaire est simulé par un dispositif expérimental qui a été choisi de façon :

- à permettre une investigation tribologique du contact par la mesure du frottement et surtout la visualisation in situ,
- à avoir des conditions de sollicitations telles que les effets de portance hydrodynamique sont totalement négligeables, de sorte que le régime de lubrification est de type limite, exacerbant ainsi le rôle des interfaces.

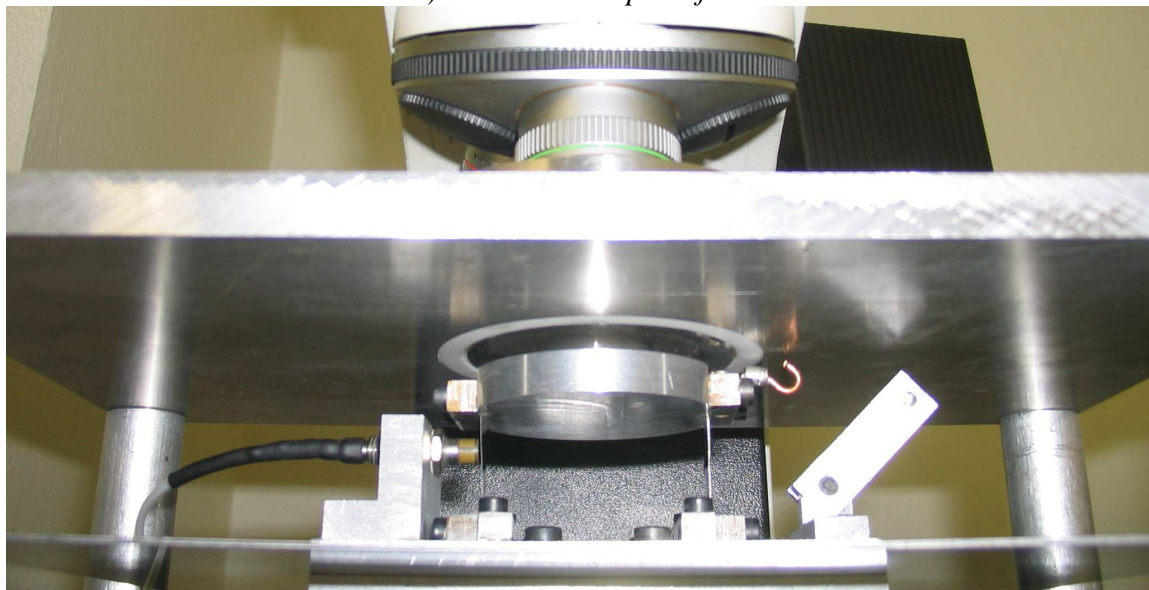
Ces conditions nous ont amenés à choisir une vitesse relative entre les deux premiers corps de  $10^{-4}$  à  $10^{-3}$  m/s et une pression de contact comprise entre 0.2 et 0.4 MPa, pour simuler le fonctionnement d'une articulation saine.

### **B.1.3.2. Dispositif expérimental**

Un dispositif expérimental permettant la reproduction ex vivo des paramètres mécaniques choisis antérieurement (fig. B.35) a été mis au point.



*a) schéma du dispositif*



*a) photographie du dispositif*

**Fig. B.35.** *Dispositif expérimental*

Le premier corps modèle (échantillon en HEMA) est fixé au fond d'un bac contenant le troisième corps modèle. Le bac est relié à une table de déplacements par l'intermédiaire d'un système de lames flexibles. La table de déplacement impose des mouvements de translation alternative.

Une contre face transparente forme le contact avec la surface supérieure du premier corps modèle. La charge normale est appliquée par gravité à l'aide de masses annulaires. Le microscope optique droit du LPMCN (Leica DMLM) permet l'observation du contact à travers la contre face. Cette observation est réalisée in situ au cours du frottement, et peut être faite en lumière blanche (classique), verte et bleue (fluorescence). En lumière verte ou bleue, ce sont rigoureusement les mêmes paramètres d'acquisition de la caméra qui ont été utilisés, afin de pouvoir comparer les différentes quantités de lipides fluorescents dans le contact.

Un capteur de position à courants de Foucault mesure la déformée du système de lames flexibles supportant le bac, et permet d'en déduire la force tangentielle puis le coefficient de frottement (cf. B2.1.3).



## B.2. Mise en œuvre et validation tribologique du modèle ex vivo

Pour valider tribologiquement le modèle articulaire, on a choisi d'étudier la variation des paramètres tribologiques mesurés (coefficient de frottement, évolution des bicouches lipidiques au cours du frottement) en fonction des paramètres suivants:

- caractéristiques des sollicitations mécaniques (vitesse, pression).
- paramètres physico-chimiques du milieu d'essai (pH, pression osmotique),
- propriétés mécaniques des bicouches lipidiques (rigidité, rhéologie),

### B.2.1. Paramètre du triplet tribologique

Le triplet tribologique utilisé pour les essais tribologiques de validation (fig. B.36) comporte :

- le premier corps (1) – ébauches de lentilles HEMA ayant une surface frottante convexe ( $R=8\text{mm}$ ) avec une rugosité RMS de quelques nm,
- le premier corps (2) – plaque en verre borosilicate de très faible rugosité (rugosité pic à pic de 1nm maximum). Les premiers corps utilisés sont nettoyés aux ultrasons, avec détergents et eau déminéralisée, afin d'éviter les dérives du coefficient de frottement dues à une accommodation du glissement dans les complexes créés par des impuretés présentes sur leurs surfaces frottantes.
- 3<sup>ème</sup> corps – pour valider le modèle tribologique il n'a pas été nécessaire de reproduire ex vivo les poches de gel car les premiers corps modèles ont une rugosité de seulement quelques nm RMS. Par conséquent, le 3<sup>ème</sup> corps utilisé est seulement constitué des deux bicouches lipidiques déposées sur les surfaces frottantes des premiers corps, et séparées par une couche d'eau. La bicouche lipidique déposée sur la lentille HEMA est fluorescente en lumière bleue, elle contient 1% de lipides NBD-PC. Rappelons que ces lipides ont une partie fluorescente (NBD) liée chimiquement à l'une des queues lipidiques. Par contre la bicouche lipidique déposée sur la surface du verre est fluorescente en lumière verte, elle contient 1% de lipides DHPE-TRITC. Rappelons que ces lipides ont une partie fluorescente (rhodamine) liée chimiquement à la tête lipidique.
- mécanisme – une pression de contact comprise entre 0.2 et 0.4 MPa et une vitesse relative entre les deux premiers corps de  $10^{-4}$  à  $10^{-3}$  m/s. Ces valeurs permettent une bonne visualisation du contact en microscopie optique et favorise un régime de lubrification de type limite.

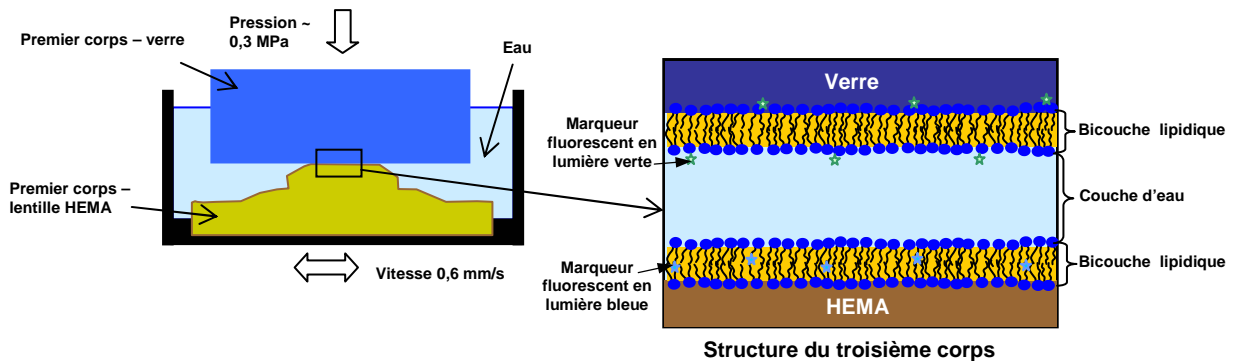


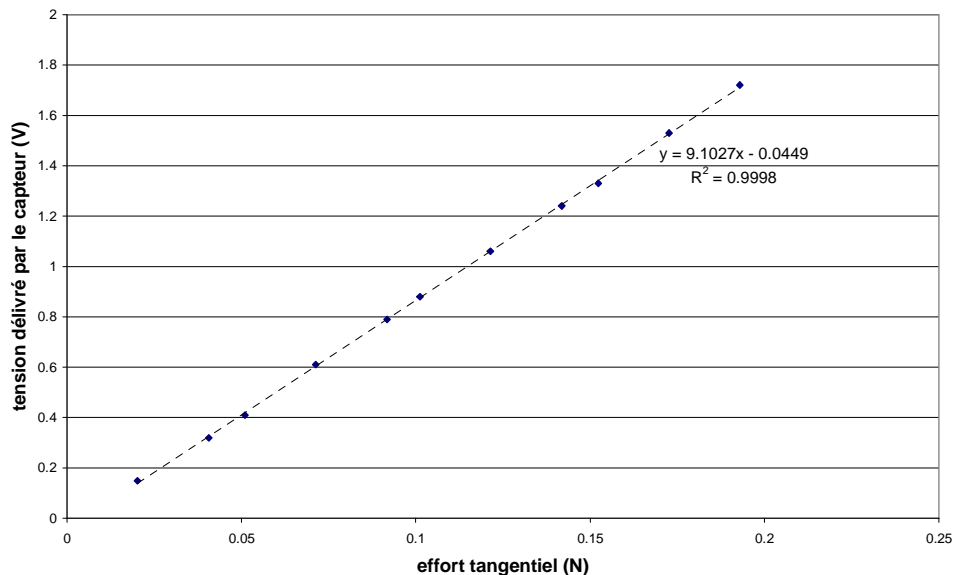
Fig. B.36. Triplet tribologique du modèle articulaire



### B.2.3. Mesure du frottement

Le coefficient de frottement est obtenu à partir de la mesure de la force tangentielle dans la configuration expérimentale de la figure B.35. Cette mesure est réalisée en utilisant un capteur de position à courants de Foucault qui délivre une tension proportionnelle à la déformée du système de lames flexibles ( $f$ ). Cette déformée élastique est elle-même proportionnelle à la force tangentielle. Un étalonnage avec des masses marquées permet d'obtenir la valeur de la constante de proportionnalité ( $K_e$ ) entre la force et la tension, qui est de l'ordre de 0.1 N/V (fig. B.37). Cette constante dépend des conditions de démontage et de remontage du dispositif, nécessaires pour l'utiliser sous le microscope. Par conséquent un étalonnage est réalisé lors de chaque essai. La sensibilité, la gamme de linéarité, et la position du capteur sont telles que l'incertitude sur les mesures de forces comprise entre -1N et 1N est de  $5.10^{-4}$ N.

Le rapport entre la force normale, imposée par gravité, et la force tangentielle mesurée donne le coefficient de frottement. La variation de ce coefficient est enregistrée pendant les essais, ce qui donne « la courbe de frottement ».



**Fig. B.37.** Courbe d'étalonnage des mesures de frottement

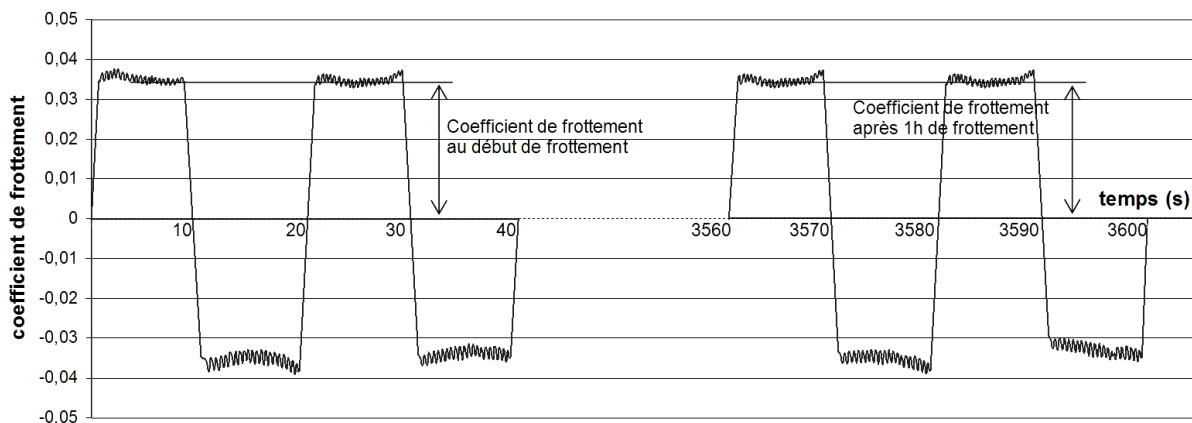
Comme le mouvement de translation du premier corps HEMA est alternatif, la courbe de frottement présente des parties positives et négatives, chacune correspondant à une alternance de déplacement. L'amplitude du déplacement est maintenue constante et égale à 6 mm grâce à la visualisation en microscopie optique des frontières de l'éprouvette en HEMA (cf. B.2.4).

Précisons que pour des raisons techniques, la vitesse de déplacement est imposée manuellement, ce qui explique les fluctuations autour de la valeur de 0.6 mm/s. Cependant, l'écart maximal enregistré au cours d'une heure d'essai n'est que de  $\pm 0.15$  mm/s. Comme le montrera le paragraphe suivant cet écart n'a pas d'influence significative sur le coefficient de frottement.

## B.2.4. Validation du mécanisme

Pour étudier l'*influence de la vitesse* sur le fonctionnement tribologique du modèle articulaire, 8 séries d'essais ont été réalisées, avec des bicouches lipidiques de DOPC en présence de  $\text{Ca}^{++}$ . Le nombre de cycles de frottement (environ 45 cycles aller- retour) a été choisi afin que la couche lipidique ne soit pas détruite par oxydation et/ou frottement (cf. § B.2.6). La vitesse moyenne de ces essais a été variée entre 0.1 et 1 mm/s d'un essai à l'autre sans produire de variation significative du coefficient de frottement, bien évidemment dans les conditions de fonctionnement de type limite.

De plus, au cours d'un essai, malgré l'application manuelle du déplacement, on note aussi une grande stabilité du coefficient de frottement. Par exemple, dans le cas d'un contact HEMA (hydraté en sérum physiologique) / verre en présence d'eau déminéralisée, la figure B.38 présente un extrait de la courbe de frottement en début d'essai et un autre après une heure d'essai. L'essai a été réalisé à une pression de 0.3 MPa et une vitesse appliquée manuellement de  $0.6\text{mm/s} \pm 0.15 \text{ mm/s}$ . On remarque la stabilité du coefficient de frottement, de l'ordre de 0.035. L'allure générale de la variation du coefficient de frottement au cours d'un cycle est représentative des courbes obtenues pour chacune des associations de premiers corps et troisièmes corps présentées par la suite. Bien évidemment, comme nous le verrons la valeur du frottement peut évoluer au cours du temps en fonction par exemple de « la vie tribologique » des bicouches. Pour les essais réalisés ici, cette évolution a toujours été linéaire, c'est pourquoi par la suite ne seront pratiquement présentées que les valeurs initiale et finale du coefficient de frottement.



**Fig. B.38.** Extraits de la courbe de frottement pour le contact HEMA (hydraté en sérum physiologique) / verre en présence d'eau déminéralisée

Afin de valider plus complètement le mécanisme, on a aussi étudié l'*influence de la pression* sur le fonctionnement tribologique du modèle articulaire. Pour cela six séries de 45 allers-retours ont été réalisées, avec des bicouches lipidiques de DOPC en présence de  $\text{Ca}^{++}$ . La charge normale a alors été variée entre 1 et 6 N, ce qui correspond à des pressions comprises entre 0.2 et 0.4 MPa. Ces essais ont montré que le coefficient de frottement n'est pas influencé par la variation de la charge normale.

Comme nous n'avons pas mesuré de variations importantes du frottement en fonction de la gamme de pression et de vitesses retenue, nous avons sélectionné pour la suite de l'étude les valeurs suivantes :

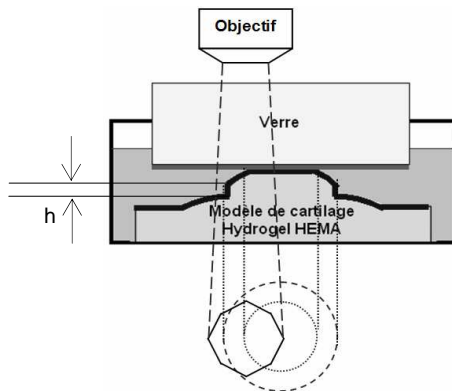
- une pression de 0.3 MPa qui, de plus, est un bon compromis entre la flexion des lames et l'encombrement des masses annulaires par rapport à l'objectif du microscope,

- une vitesse de  $0.6\text{mm/s} \pm 0.15 \text{ mm/s}$  qui correspond au mieux à notre manière manuelle d'imposer les vitesses.

### B.2.2. Visualisation du troisième corps in situ

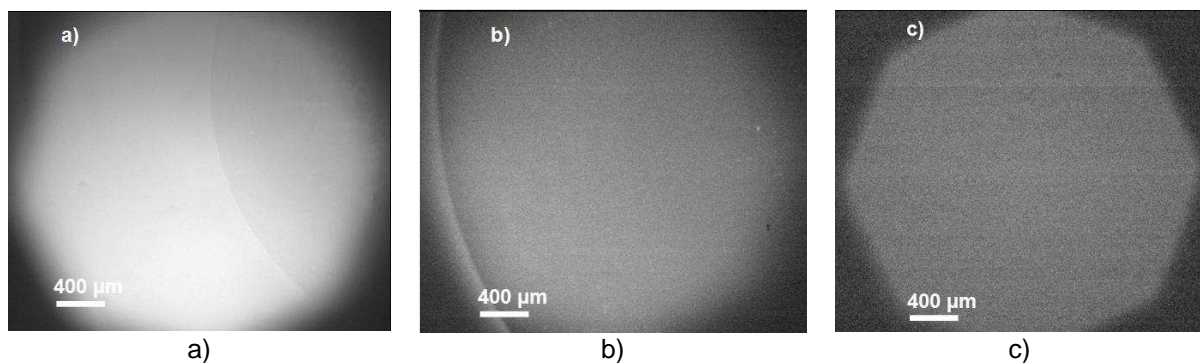
La figure B.39 schématise la technique de visualisation du contact in situ. Ainsi, dans l'octogone défini par le diaphragme de l'objectif du microscope, on distingue :

- la zone de contact « verre – lentille HEMA », délimitée par le cercle intérieur (en traits interrompus fins),
- le bord de la partie bombée de la lentille HEMA, délimitée par le cercle extérieur (en traits interrompus larges).



**Fig. B.39.** Technique de visualisation du contact modèle articulaire

La figure B.40 montre le contact modèle, avant frottement, visualisé en microscopie optique classique (lumière blanche) (fig. B.40a) et visualisé en microscopie optique de fluorescence en lumière bleue (fig. B.40b) ou verte (fig. B.40c). L'image en lumière blanche permet de repérer le cercle intérieur délimitant le contact. Ce cercle est invisible dans les visualisations en fluorescence (fig. B.40b et c) car avant le frottement les bicouches lipidiques sont intactes et uniformes sur toute la surface frottante, donc dans le contact et hors du contact. Par contre, la visualisation en fluorescence en lumière bleue (fig B.40b) fait apparaître en plus clair le cercle extérieur délimitant le bord de la partie bombée de la lentille HEMA. La visualisation de ce cercle est possible car le bord de la lentille HEMA présente une fluorescence plus importante puisqu'elle intègre la fluorescence de la portion verticale de la bicouche qui se trouve sur l'épaisseur de ce bord (h dans la fig. B.39).



**Fig. B.40.** Visualisation du contact modèle articulaire avant frottement en microscopie optique a) classique (lumière blanche) b) en fluorescence (lumière bleue) c) en fluorescence (lumière verte)

En conclusion, le dispositif expérimental a l'avantage de permettre la mesure du frottement en même temps que la visualisation in situ du contact. Cet avantage est maintenant

exploité pour choisir les paramètres mécaniques et physicochimiques des premiers et troisième corps, qui assurent une simulation réaliste du fonctionnement tribologique articulaire sain.

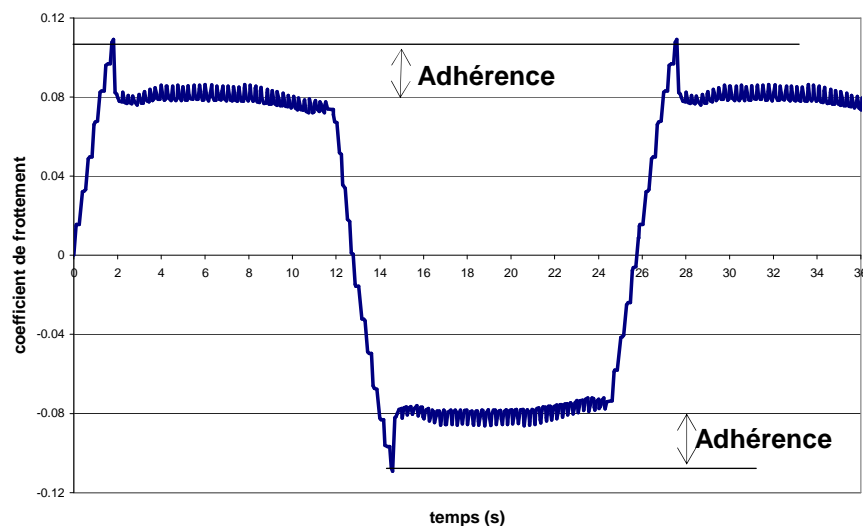
### B.2.5. Influence des paramètres mécaniques et physico-chimiques des premiers corps

L'influence de ces paramètres sur le fonctionnement tribologique du modèle articulaire est étudiée à partir de trois essais de frottement réalisés à une vitesse de  $0.60 \text{ mm/s} \pm 0.15 \text{ mm/s}$  et une pression d'environ  $0.3 \text{ MPa}$ , avec comme :

- premiers corps (1) - plaque de verre en borosilicate,
- troisième corps – eau distillée,
- premiers corps (2) - lentille HEMA.

Afin de faire varier le module d'Young, la pression osmotique et le pH du premier corps (2) chaque essai est réalisé en hydratant avant essai la lentille HEMA (cf. paragraphe B.1.1) respectivement dans du sérum physiologique (pression osmotique et pH représentatifs du milieu biologique), dans de l'eau (pression osmotique très basse ou nulle, pH représentatif du milieu biologique), et dans une solution tampon pH 3 (pH bas, pression osmotique représentative du milieu biologique).

Le nombre de cycles de frottement a été limité à environ 45, afin de ne pas être confronté à des problèmes de dégradation mécanique (usure) des premiers corps 2. Ces essais de frottement présentent des courbes de frottement stables autour d'une valeur moyenne de 0.035 pour les lentilles HEMA hydratées avec du sérum physiologique et celles hydratées avec de l'eau. En revanche, la courbe de frottement obtenue avec la lentille HEMA hydratée avec une solution tampon de pH 3 (fig. B.41) montre un coefficient de frottement plus élevé (0.08) et un pic au début de chaque alternance (0.1). La visualisation attribue ce pic à l'adhérence de la lentille HEMA sur la plaque de verre. L'origine de cette adhérence est très difficile à déterminer car elle peut être d'origine mécanique (augmentation du module d'élasticité cf. B.1.2) et/ou physico-chimique (effort d'adhésion de type électrostatique générée par la baisse de pH).



**Fig. B.41.** Courbes de frottement pour le contact HEMA avec différentes hydratations – verre

Ces résultats montrent qu'un milieu d'hydratation acide (pH  $\sim 3$ ), assuré par la solution tampon, conduit à l'augmentation du coefficient de frottement du modèle HEMA (du

cartilage) tandis que la diminution de la pression osmotique ( $\pi = 0$ ) assurée par l'eau, n'a pas d'effet significatif sur le coefficient de frottement.

Maintenant, si on rapporte ces valeurs de frottement à celles du cartilage pathologique, on peut penser que le coefficient de frottement d'une articulation arthritique (bas pH) pourra être augmenté par un changement des propriétés physico-chimiques et mécanique des cartilages (cf. § B.1.2). Cela peut générer d'importants efforts d'adhésion qui peuvent induire des endommagements des cartilages. Ces endommagements sont alors caractéristiques d'une arthrose. Ce modèle peut donc expliquer, en termes mécaniques, comment une arthrite évoluerait vers une arthrose, ce qui est mis en évidence par les études cliniques.

## **Conclusion**

Ce paragraphe montre que les propriétés physicochimiques des premiers corps influencent les résultats du modèle tribologique. Pour se rapprocher du fonctionnement sain, on a choisi d'utiliser un milieu d'essai ayant un pH  $\sim 7$  et une pression osmotique correspondant à une concentration ionique de 150mM.

### **B.2.6. Influence des propriétés mécaniques des bicouches lipidiques**

Pour étudier l'influence des propriétés mécaniques des bicouches lipidiques sur le fonctionnement tribologique du modèle articulaire, quatre séries d'essais de frottement, durant chacune 1h, ont été réalisées à une vitesse de  $0.60 \text{ mm/s} \pm 0.15 \text{ mm/s}$  et une charge normale de 3N (pression  $\sim 0.3 \text{ MPa}$ ), avec comme :

- premier corps (1) – verre,
- premier corps (2) une lentille HEMA hydratée 48h, avant essai, dans du sérum physiologique (cartilage sain),
- troisième corps – deux bicouches lipidiques, l'une fluorescente en lumière bleue déposée sur la surface frottante en HEMA et l'autre fluorescente en lumière verte déposée sur la surface frottante en verre, séparées par une couche d'eau.

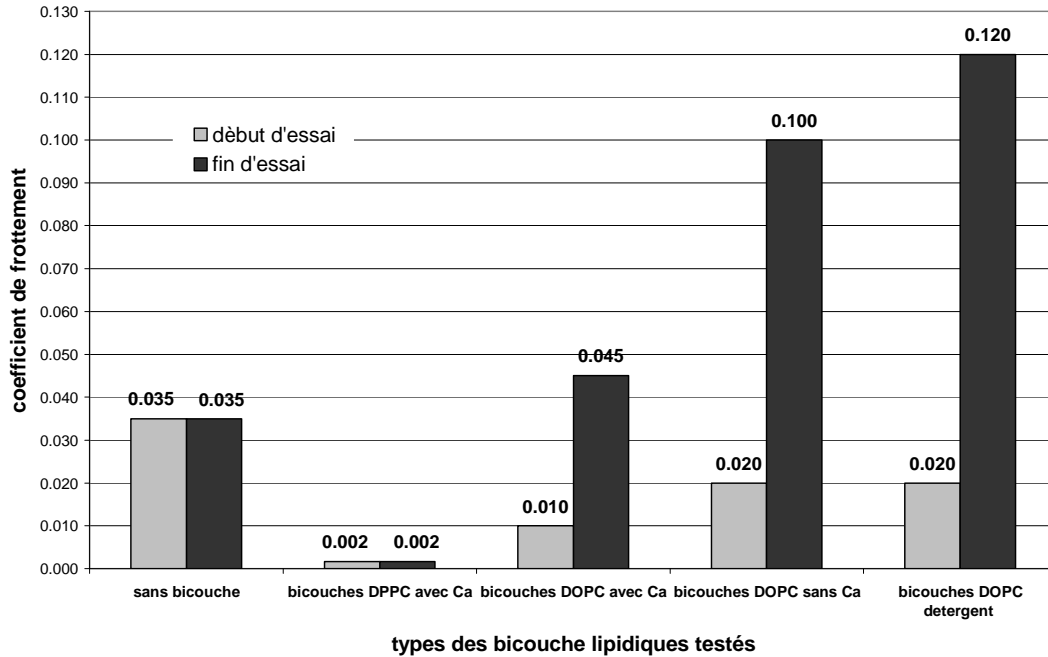
Afin de varier les propriétés mécaniques du troisième corps chaque essai utilise un type différent de bicouche. Ainsi, quatre types de bicouches ont été testés :

- bicouches de DPPC avec  $\text{Ca}^{++}$  qui sont des bicouches lipidiques en phase solide, qui résistent à plus de quelques dizaines de MPa de pression (cf. fig. B.29)
- bicouches de DOPC avec  $\text{Ca}^{++}$  qui sont des bicouches lipidiques en phase fluide, qui résistent à plus de quelques dizaines de MPa de pression (cf. fig. B.28)
- bicouches de DOPC sans  $\text{Ca}^{++}$  qui sont des bicouches lipidiques en phase fluide, rompues à partir de quelques MPa de pression (cf. fig. B.26)
- bicouches de DOPC avec  $\text{Ca}^{++}$  et détergent qui sont des bicouches lipidiques en phase fluide, qui résistent à plus de quelques dizaines de MPa, pression (cf. fig. B.24)

Pour chaque type de bicouche lipidique, une série de 6 essais a été réalisée. Les mesures de frottement et les visualisations de ces essais sont discutées par la suite.

#### **B.2.6.1. Mesures de frottement**

Les valeurs du coefficient de frottement obtenu au début et à la fin de chaque série d'essais sont données sur la figure B.42.



**Fig. B.42.** Variation du coefficient de frottement pour le contact modèle artulaire fonction des caractéristiques intrinsèques des bicouches lipidiques utilisées

On remarque, que la valeur initiale du coefficient de frottement est fonction des propriétés intrinsèques de la bicouche lipidique. Ainsi :

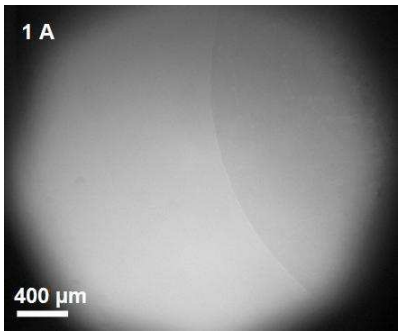
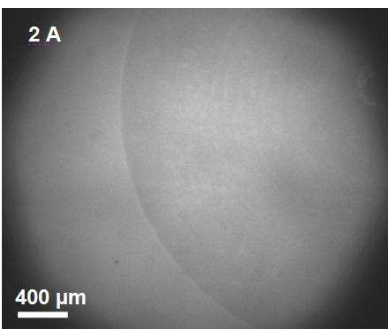
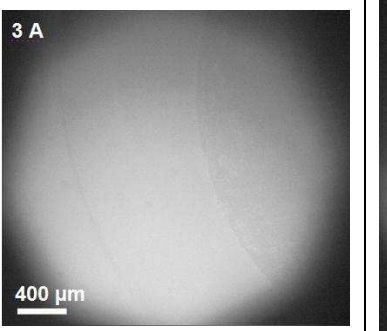
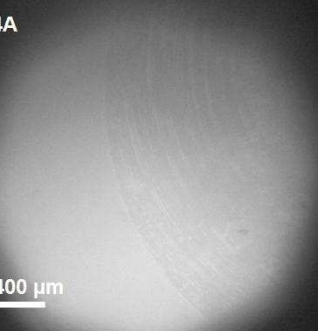
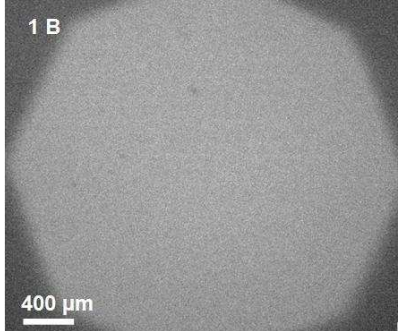
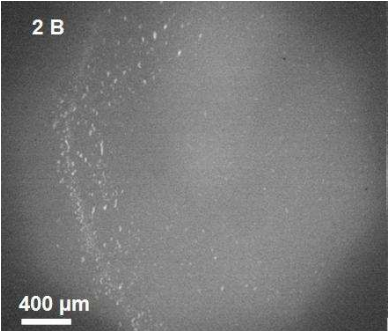
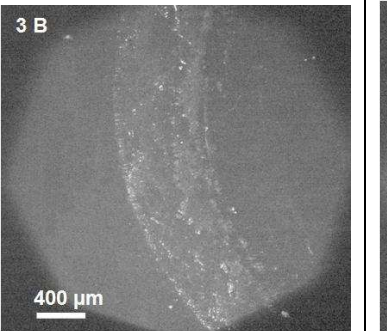
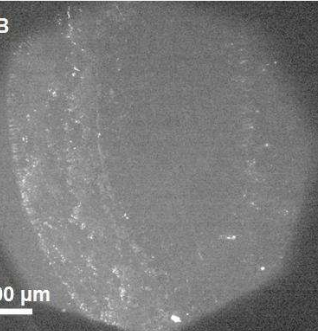
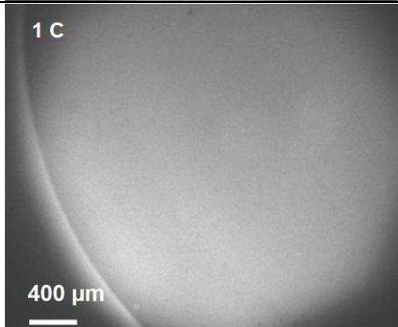
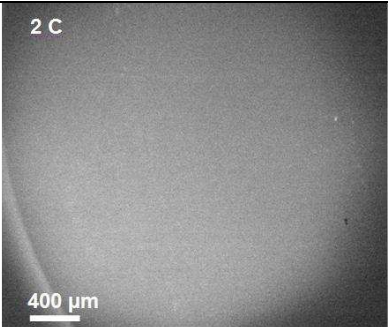
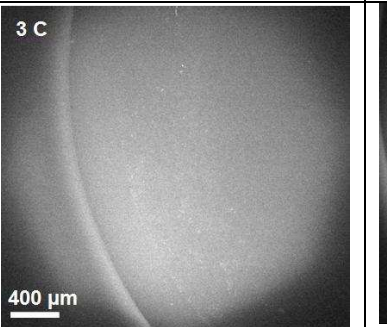
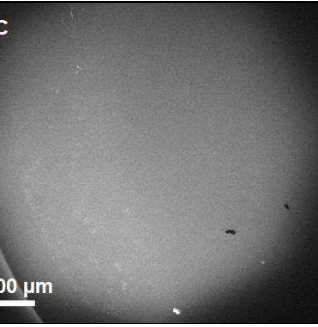
- l'état solide de la bicouche (DPPC) favorise un coefficient de frottement cinq fois plus faible que l'état fluide (DOPC),
- l'absence de calcium dans les bicouches lipidiques de DOPC (qui rappelons le provoque une résistance moindre en compression, voir fig. AFM) fait augmenter d'un facteur 2 le coefficient de frottement, par rapport aux mêmes bicouches lipidiques avec  $Ca^{++}$
- le coefficient de frottement des bicouches fabriquées par co-adsorption de micelles, et qui peuvent donc contenir des traces de détergent est deux fois plus grand que celui des bicouches lipidiques préparées en présence de  $Ca^{++}$  à partir de vésicules sans détergent,
- la présence de défauts géométriques (vésicules non éclatées) sur la bicouche de DOPC augmente le coefficient de frottement quatorze fois par rapport aux mêmes bicouches lipidiques lisses en présence de  $Ca^{++}$  (sans défauts géométriques).

On retiendra que les bicouches lipidiques les plus rigides, DPPC à l'état solide contenant du  $Ca^{++}$ , favorisent un coefficient de frottement remarquablement bas : 0.002. L'augmentation de la « fluidité » des couches lipidiques, la présence d'impuretés, la présence de défauts géométriques sont autant de paramètres qui augmentent le frottement.

### B.2.6.2. Visualisation

Pour comprendre l'évolution du coefficient de frottement, qui rappelons-le est linéaire, nous avons choisi de présenter des arrêts sur images après 1h d'essai car ce sont les images les plus représentatives. Ces images, présentées dans le tableau B.2, sont corrélées avec l'évolution du coefficient de frottement de la figure B.42 et interprétées par la suite.



<b>Tableau B.2. Visualisation du contact modèle après 1h de frottement</b>				
	Bicouches lipidiques de DPPC avec Ca	Bicouches lipidiques de DOPC avec Ca	Bicouches lipidiques de DOPC sans Ca	Bicouches lipidiques de DOPC avec Ca et détergent
Lumière blanche	<p>1 A</p>  <p>400 μm</p>	<p>2 A</p>  <p>400 μm</p>	<p>3 A</p>  <p>400 μm</p>	<p>4A</p>  <p>400 μm</p>
Lumière verte (focalisation sur la bicouche lipidique déposée sur la surface frottante en verre)	<p>1 B</p>  <p>400 μm</p>	<p>2 B</p>  <p>400 μm</p>	<p>3 B</p>  <p>400 μm</p>	<p>4B</p>  <p>400 μm</p>
Lumière bleue (focalisation sur la bicouche lipidique déposée sur la surface frottante en HEMA)	<p>1 C</p>  <p>400 μm</p>	<p>2 C</p>  <p>400 μm</p>	<p>3 C</p>  <p>400 μm</p>	<p>4C</p>  <p>400 μm</p>

Les images du contact contenant les **bicouches lipidiques de DPPC avec  $\text{Ca}^{++}$**  montrent que ni la bicouche lipidique située sur le verre (image 1B), ni celle située sur l'HEMA (image 1C), ne sont détruites. Ces bicouches lipidiques, qui restent donc intactes pendant tout l'essai, favorisent un coefficient de frottement très faible (0.002), qui reste lui aussi constant pendant tout l'essai (fig. B.42).

Les images du contact contenant les **bicouches lipidiques en phase fluide (DOPC) avec  $\text{Ca}^{++}$**  montrent la destruction de la bicouche lipidique déposée sur le verre. Cette destruction est révélée par les taches plus claires (cf. B. 1.2.1.2.) situées à la sortie du contact (image 2B). En revanche, aucune destruction de la bicouche lipidique déposée sur l'HEMA, n'est mise en évidence puisque l'image 2C ne contient aucune tache claire. La destruction de la bicouche lipidique située sur le verre augmente au cours du frottement car le nombre de taches claires croît. Cette destruction accompagne l'augmentation du coefficient de frottement qui passe de 0.01 en début d'essai, à 0.045 après 1h d'essai.

Les images de visualisation du contact contenant les **bicouches lipidiques de DOPC sans  $\text{Ca}^{++}$**  montrent une importante destruction de la bicouche lipidique déposée sur le verre. Cette destruction est visible dans la zone située à la sortie du contact de l'image 3B contenant des taches claires. Une destruction beaucoup plus faible de la bicouche lipidique déposée sur l'HEMA est aussi visualisée sur l'image 3C, par les quelques taches plus claires situées à la sortie du contact. La destruction des bicouches lipidiques, surtout celle déposée sur le verre, augmente au cours du frottement et accompagne l'augmentation du coefficient de frottement qui passe de 0.02 à 0.1, en 1h d'essai.

Les images de visualisation du contact contenant les **bicouches lipidiques de DOPC avec détergent et  $\text{Ca}^{++}$**  montrent une importante destruction de la bicouche lipidique déposée sur le verre. Cette destruction est visible dans la zone située à la sortie du contact de l'image 4B contenant des taches claires. Une destruction beaucoup plus faible de la bicouche lipidique déposée sur l'HEMA est aussi visualisée sur l'image 4C, par les quelques taches plus claires situées à la sortie du contact. La destruction des bicouches lipidiques, surtout celle déposée sur le verre, augmente au cours du frottement et accompagne l'augmentation du coefficient de frottement qui passe de 0.02 à 0.12, en 1h d'essai.

Ces visualisations montrent la plus faible résistance aux sollicitations tribologiques des bicouches lipidiques situées sur le verre, par rapport à celles situées sur l'HEMA. Cela peut avoir plusieurs origines, comme par exemple :

- un accrochage plus faible des lipides sur le verre que sur l'HEMA,
- un entraînement des lipides fluorescents en lumière verte hors du contact au cours du frottement. Cet entraînement peut être favorisé par la grande mobilité des molécules lipidiques à l'intérieur de la bicouche en phase fluide (DOPC), par rapport à celle en phase solide (DPPC), et par la géométrie des lipides fluorescents en lumière verte qui portent la partie fluorescente sur la tête (Fig. B.12). Ainsi, la tête de ces lipides est deux fois plus grosse que celle des lipides DOPC et DPPC ce qui peut les entraîner hors du contact au cours du frottement. En revanche, les lipides fluorescents en lumière bleue, situés sur la surface HEMA, portent leur partie fluorescente sur la queue (Fig. B.13). Cette différence de taille de la tête lipidique pourrait créer une accumulation des seuls lipides fluorescents en lumière verte à la sortie du contact (et non des bleus).



### 2.6.3. Conclusions

L'ensemble des résultats montre que les caractéristiques intrinsèques des bicouches influencent le frottement de la façon suivante :

- le manque de  $\text{Ca}^{++}$  augmente le frottement, car il favorise la destruction des bicouches lipidiques. Cette destruction pourrait être due à un manque de rigidité des bicouches sans  $\text{Ca}^{++}$ , comme cela a été mis en évidence par les mesures de force AFM (cf. B. 1.2.1.3),
- l'état solide de la bicouche lipidique (DPPC) favorise un coefficient de frottement plus faible que l'état fluide (DOPC). Plusieurs raisons peuvent expliquer ce constat :
  - une plus grande rigidité mécanique en compression des bicouches solides de DPPC par rapport à celles de DOPC (cf. B. 1.2.1.3),
  - la fragilité chimique des lipides DOPC qui s'oxydent facilement au cours de l'essai et donc créent des défauts de plus en plus importants dans la bicouche DOPC (cf. A. 3.1.1.),
  - la rhéologie intrinsèque de la phase fluide (DOPC), qui permet la migration des lipides dans le plan de la bicouche. Cette migration pouvant entraîner l'expulsion des lipides fluorescents hors du contact, ce qui crée aussi des défauts.

Pour éviter ces problèmes d'interprétation, et aussi simuler un comportement plus proche d'une articulation saine, on a choisi de travailler par la suite avec des bicouches lipidiques de DPPC en présence de  $\text{Ca}^{++}$ .

### B.3. CONCLUSION

Le modèle articulaire proposé dans ce chapitre est un modèle expérimental « simple » qui reproduit le cartilage articulaire et les bicouches lipidiques de la synovie dans un environnement mécanique et physico-chimique très proche de la réalité. De plus, ce modèle présente l'avantage de :

- permettre une instrumentation tribologique presque jusqu'à l'échelle moléculaire grâce aux marqueurs fluorescents,
- respecter la mécanique et la physico-chimie locale du contact articulaire en utilisant des matériaux synthétiques qui ne posent pas les problèmes de conservation des matériaux vivants.

Le modèle proposé utilise un matériau de type hydrogel HEMA, qui permet, quand il est hydraté dans du sérum physiologique, de reproduire les propriétés mécaniques et physicochimiques des cartilages articulaires. D'autre part, on a remarqué que les propriétés mécaniques et tribologiques de l'hydrogel HEMA sont modifiées par la variation des propriétés physico chimiques. Ainsi, les modifications du milieu d'hydratation (pression osmotique ou pH) de la lentille HEMA entraînent le changement de son module d'Young et de son coefficient de frottement. Ce modèle, conçu pour étudier le fonctionnement d'une articulation saine, pourra aussi être utilisé pour étudier les pathologies, car celles-ci sont caractérisées par une évolution des paramètres physico chimiques du milieu biologique. Donc, en utilisant le modèle HEMA et en ajoutant des paramètres pathologiques, (changement de pH par exemple) on peut envisager l'étude de l'évolution d'une maladie, sur le plan mécanique et physicochimique.

Pour simuler les assemblages moléculaires de la synovie, le modèle utilise des bicouches lipidiques et des poches de gel synovial. La caractérisation AFM des bicouches lipidiques montre qu'elles résistent à des pressions normales beaucoup plus importantes (plus de 50 MPa) que les pressions de contact articulaire (quelques MPa). D'autre part les essais de frottement ont montré que les bicouches résistent aussi aux sollicitations tribologiques favorisant un coefficient de frottement très bas (0.002). Ce coefficient de frottement est maintenu tant que la couche a une bonne rigidité mécanique (présence de calcium et absence de détergent), et tant qu'elle est protégée de l'oxydation. Ces conditions sont satisfaites pour les couches DPPC avec calcium.

La valeur de frottement de 0.002 mesurée ici est très faible par rapport à celle donnée dans la bibliographie, 0.15 [115,116]. Cette dernière valeur est obtenue avec des premiers corps qui sont des hydrogels utilisés comme substitut du cartilage et des troisièmes corps sans lipides. Cette différence confirme encore le rôle des interfaces lipidiques dans l'obtention des coefficients de frottement articulaire très faibles.

A nos yeux, les résultats de ce chapitre valident notre modèle expérimental ex vivo et rendent la structure de la synovie, présenté dans le chapitre A, réaliste du point de vue tribologique. Il est donc logique de poursuivre, dans le chapitre C, l'étude tribologique de cette structure formée d'assemblages moléculaires.



## - CHAPITRE C -

### **EXPLOITATION DU MODELE : FONCTIONNEMENT DES ARTICULATIONS SAINES ET PROTHESEES**

*Vous savez ce que c'est que la  
recherche: on part sur une question et  
on trouve en cours de route des faits qui  
vous en posent une autre*

*[Philippe Meyer]*

*Toute certitude est par essence  
contradictoire avec la philosophie de la  
recherche.*

*[Pierre Joliot]*

Ce chapitre est consacré à l'application du modèle articulaire défini et validé dans le chapitre B. En particulier, nous souhaitons :

- comprendre le rôle des assemblages moléculaires de la synovie sur les performances tribologiques remarquables des articulations naturelles,
- examiner les capacités potentielles de ces constituants à améliorer les performances tribologiques des implants articulaires.

## C.1. Procédure expérimentale

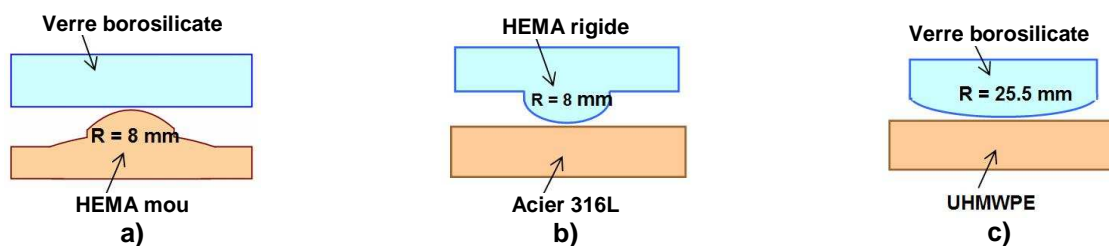
Nous avons adapté le triplet tribologique décrit dans le chapitre B pour réaliser cette étude. Ainsi, comme mécanisme nous avons exploité le dispositif expérimental décrit dans le paragraphe B. 2.1. Une charge normale de 2.5N a été imposée ce qui permet, en jouant sur les rayons de courbure des éprouvettes, d'imposer des conditions de pression réalistes : 0.3 MPa pour l'articulation saine et 5 MPa pour l'articulation prothésée.

Les déplacements aller et retour se font à vitesse constante, 0.6 mm/s. Cette faible valeur permet d'une part une bonne visualisation du contact en microscopie optique et favorise d'autre part un régime de lubrification de type limite. Les allers et retours ont une durée égale, de l'ordre de la dizaine de secondes, ce qui, compte tenu de la vitesse, permet de visualiser successivement toute la longueur du contact.

Plusieurs séries d'essais de frottement, durant chacun 1h (environ 180 cycles aller – retour), ont été réalisées. Elles comportent 3 types de premiers corps, et 4 types de troisième corps.

Les différentes associations de premiers corps, visant à simuler les articulations saines et les différents types d'implants, sont les suivantes:

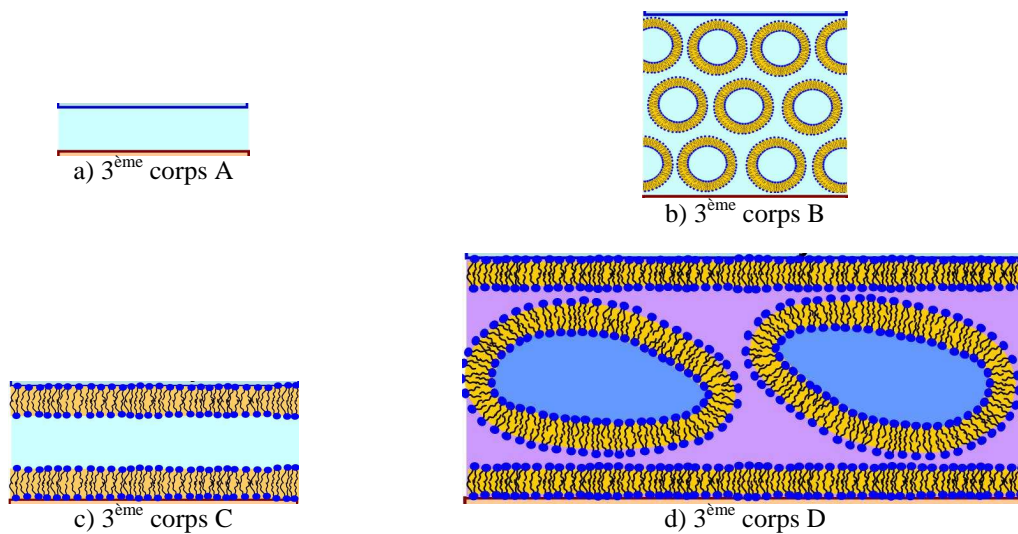
- Contact entre un échantillon convexe (rayon de courbure 8mm) en HEMA mou (module d'Young d'environ 1.5 MPa) hydraté 48h dans du sérum physiologique et une contre face plane en verre (borosilicate) (fig. C.1a). Compte tenu de la charge appliquée, le contact, d'un diamètre de 2mm, est soumis à une pression moyenne de 0.3 MPa, ce qui est réaliste par rapport à une articulation saine. Ce contact est appelé dans la suite "contact modèle du cartilage articulaire".
- Contact entre un échantillon plan en acier 316L et une contre face transparente convexe (rayon de courbure 8mm) en HEMA rigide (module d'Young d'environ 1 GPa) non hydraté (fig. C.1b) Ce contact circulaire de 0.8 mm de diamètre est soumis à une pression moyenne de 5 MPa, réaliste vis-à-vis d'un implant articulaire de genou. Ce contact est désigné dans la suite par "modèle d'implant articulaire en acier".
- Contact entre un échantillon plan en polyéthylène UHMWPE et une contre face transparente convexe (rayon de courbure 25.5 mm) en verre (borosilicate) (fig. C.1c) Ce contact circulaire, de 0.8 mm de diamètre, supporte une pression moyenne de 5 MPa, représentative du fonctionnement d'un implant articulaire de genou. Il est nommé dans la suite "contact modèle d'un implant articulaire en polyéthylène".



**Fig. C.1.** Contacts modèles étudiés : a) Contact modèle du cartilage articulaire, b) Contact modèle d'un implant articulaire en acier, c) Contact modèle d'un implant articulaire en polyéthylène

Les quatre types de troisième corps et interfaces suivantes ont été utilisés afin d'étudier de manière découplée le rôle tribologique des différents constituants de la synovie:

- du sérum physiologique entre des premiers corps non couverts de bicouches lipidiques, appelé par la suite "3<sup>ème</sup> corps A", considéré comme 3<sup>ème</sup> corps de référence vis-à-vis des valeurs de frottement (fig C.2a),
- une suspension de 2 g/l de petites vésicules lipidiques (quelques centaines de nm de diamètre) dans du sérum physiologique, fluorescentes en lumière bleue appelée dans la suite "3<sup>ème</sup> corps B" (fig C.2b),
- du sérum physiologique entre des premiers corps couverts initialement de bicouches lipidiques, nommé "3<sup>ème</sup> corps C", (fig C.2c),
- des poches lipidiques remplies de gel synovial entre des premiers corps couverts initialement de bicouches lipidiques, désigné par "3<sup>ème</sup> corps D" (fig C.2d) fabriquées comme indiqué dans la section B.1.2.2.



**Fig. C.2.** Modèles de troisième corps et interfaces. a) sérum physiologique b) petites vésicules lipidiques (quelques centaines de nm de diamètre) c) deux bicouches lipidiques déposées sur les surfaces des 1ers corps et séparées par une couche de sérum physiologique d) deux bicouches lipidiques déposées sur les surfaces des 1ers corps et séparées par des poches lipidiques remplies de gel synovial obtenues selon la procédure décrite en § B.1.2.2.

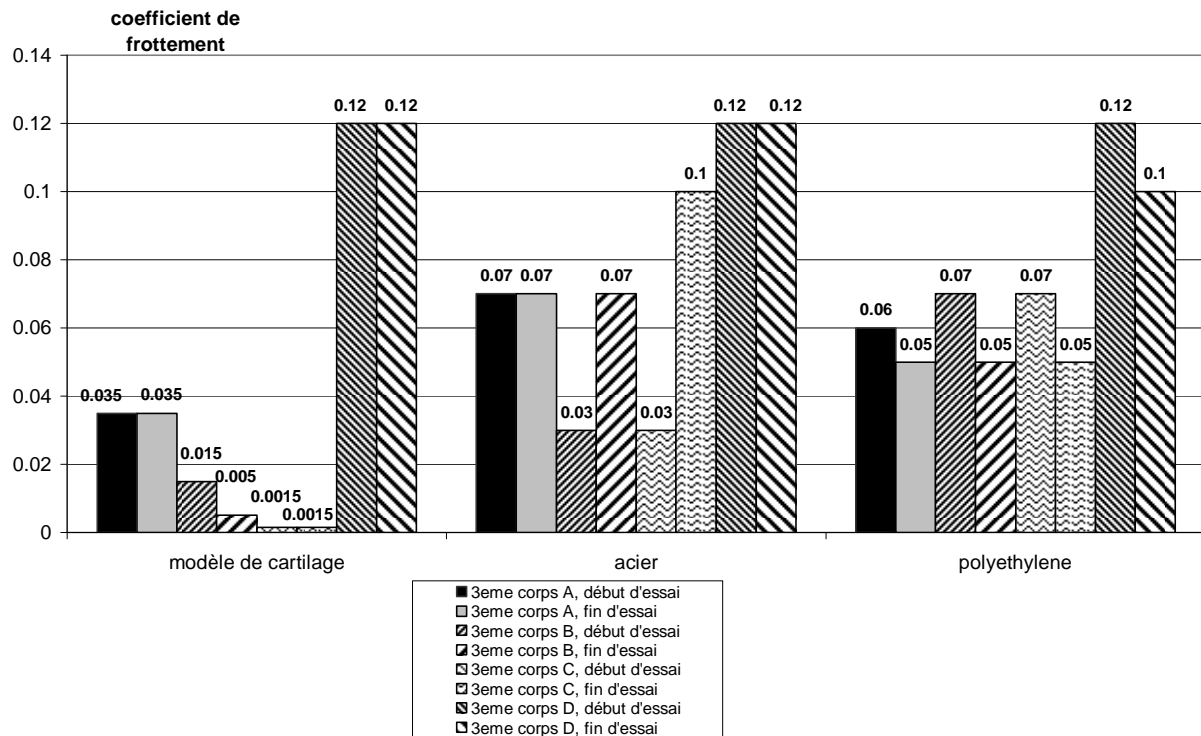
## C.2 Mesures et visualisation

### C.2.1. Mesures de frottement

Les mesures de frottement sont réalisées en respectant la même méthodologie que celle décrite dans le paragraphe B.2.4. L'allure de la variation du coefficient de frottement au cours d'un essai reste linéaire, c'est pourquoi dans la suite, les valeurs du coefficient de frottement enregistrées au début et à la fin de chaque essai de frottement sont uniquement présentées.

Dans le cas du contact modèle de cartilage articulaire, les essais de frottement ont été répétés cinq fois, la dispersion sur la force de frottement étant de 4 % de la valeur moyenne. Pour les modèles d'implants, chacun des essais a été réalisé deux fois, donnant un écart de 7% maximum sur la mesure du frottement.

L'ensemble des valeurs moyennes de coefficient de frottement, ainsi obtenues pour les 12 configurations d'essais correspondant à 3 contacts modèles et 4 troisièmes corps, en début et fin d'essai, est regroupé dans la figure C.3.



**Fig. C.3.** Coefficients de frottement au début et à la fin de chaque essai. «début d'essai» : mesure en début de frottement, «fin d'essai» : mesure après une heure de frottement.

On note que l'association des lipides avec l'acide hyaluronique et les albumines (3<sup>ème</sup> corps D) donne un coefficient de frottement plus élevé (0.12) que le 3<sup>ème</sup> corps A, quel que soit le contact modèle étudié.

En revanche, la comparaison des 3<sup>èmes</sup> corps B et C, où les lipides sont seuls présents, sans acide hyaluronique ou albumine, avec le 3<sup>ème</sup> corps A donne des résultats dépendants du contact modèle et du temps de fonctionnement. On observe que le rajout des lipides (3<sup>ème</sup> corps B et C) provoque :

- une baisse significative du coefficient de frottement pour le contact modèle de cartilage articulaire (0.035 pour le 3<sup>ème</sup> corps A, 0.005 pour le 3<sup>ème</sup> corps B après 1h et 0.0015 pour le 3<sup>ème</sup> corps C),
- une baisse initiale du coefficient de frottement pour le contact modèle d'implant en acier (0.07 pour le 3<sup>ème</sup> corps A, 0.03 pour les 3<sup>èmes</sup> corps B et C), mais un retour à la valeur initiale après 1h de frottement,
- une augmentation initiale du coefficient de frottement pour le contact modèle d'implant en polyéthylène (0.06 pour le 3<sup>ème</sup> corps A, 0.07 pour les 3<sup>èmes</sup> corps B et C), suivie d'une diminution jusqu'à la valeur de 0.05 après 1h de frottement. Par contre, cette baisse n'est probablement pas directement corrélée à la présence de lipides dans le troisième corps, car elle est également observée avec le 3<sup>ème</sup> corps A.

## C.2.2. Visualisation

Les images en microscopie des premiers corps avant frottement sont présentées dans le tableau C.1. On observe que :

- les surfaces en HEMA mou hydraté et en HEMA rigide non hydraté, ainsi qu'en acier ou en verre, permettent l'accrochage physico chimique d'une bicouche lipidique uniforme fluorescente avec un maximum d'intensité pour l'HEMA hydraté reflétant probablement une plus grande densité d'accrochage des lipides.
- par contre, la surface en polyéthylène n'adsorbe pas de bicouche lipidique, ce qui paraît logique étant donné que cette surface est hydrophobe et que les bicouches ne se forment que sur des surfaces hydrophiles.

Les visualisations in-situ au cours du frottement sont présentées respectivement dans les deux premières colonnes des tableaux C 2, 3, et 4. Les images concernent :

- une zone incluant la frontière du contact, pour le contact modèle de cartilage (tableau C.2).
- la zone centrale du contact pour les contacts modèles d'implants (tableaux C.3 et C.4), le dispositif expérimental et la configuration des contacts (fig. C.3) ne permet pas d'accéder à la frontière du contact.

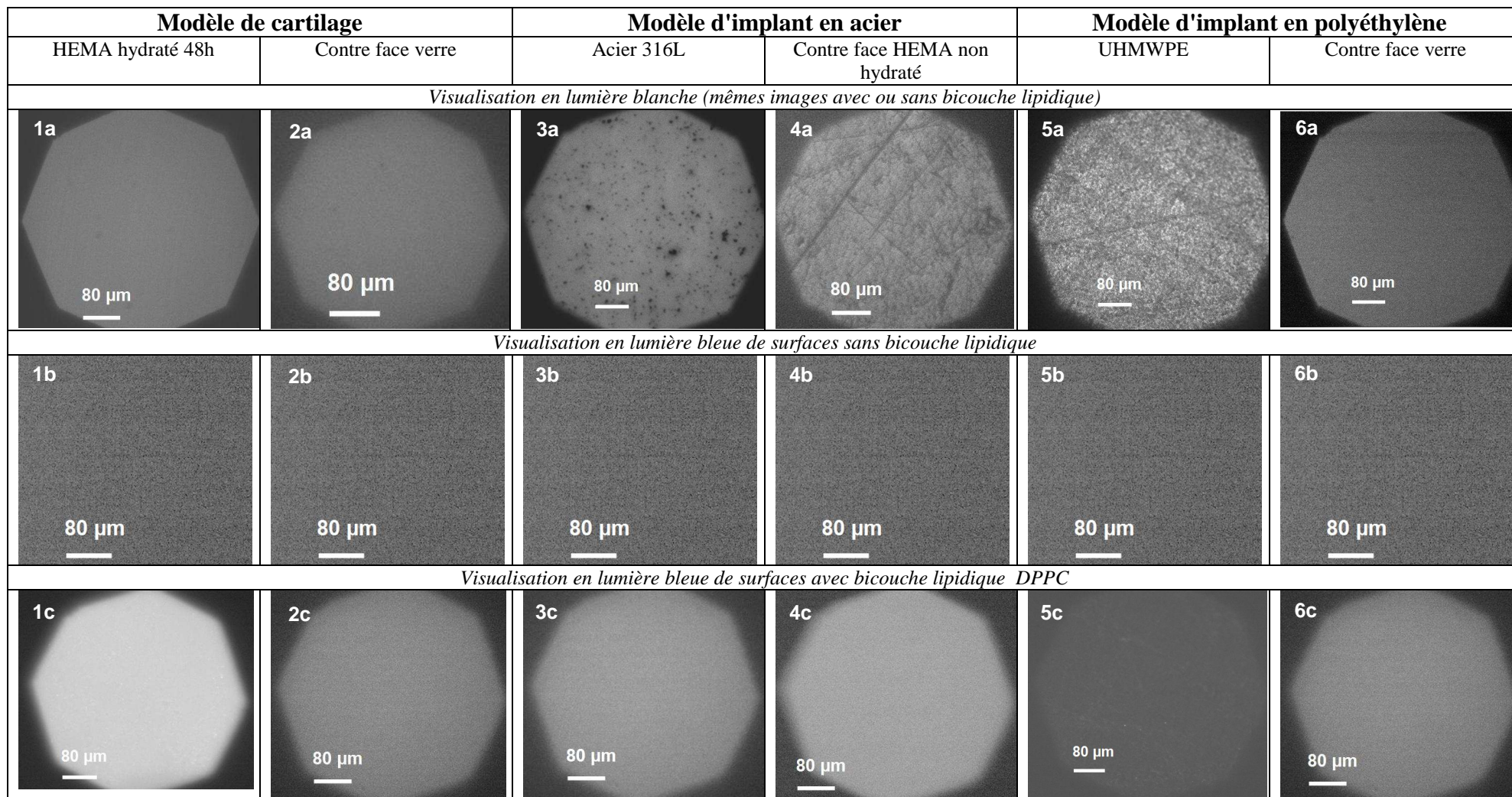
Elles permettent de suivre l'évolution de la distribution de fluorescence dans le contact et éventuellement à l'extérieur, au cours du frottement.

Les deux dernières colonnes de ces tableaux concernent des images des premiers corps à l'issue des essais, après ouverture du contact et rinçage à l'eau distillée.

On précise que pour la visualisation en lumière bleue, les mêmes paramètres de la caméra ont été choisis pour l'acquisition d'image (gain, exposition, minimum et maximum d'intensité), les niveaux d'intensité reflètent donc la quantité de lipides sur les surfaces pour un même grossissement. Par contre en changeant de grossissement (échelle 80 $\mu$ m Vs. 400  $\mu$ m), les niveaux d'intensité ne sont plus comparables.

Nous proposons dans le paragraphe suivant une analyse du rôle tribologique des composants des différents troisièmes corps testés, dans chacun des contacts modèles, s'appuyant sur des corrélations entre les valeurs et évolutions des coefficients de frottement et les évolutions des images de microscopie en lumière bleue et blanche.





**Tableau C.1** Visualisation des surfaces de premiers corps avant contact. Pour la visualisation en lumière bleue, les mêmes paramètres de la caméra ont été choisis pour l'acquisition d'image (gain, exposition, minimum et maximum d'intensité), les niveaux d'intensité reflètent donc la quantité de lipides sur les surfaces.

## C.3. Interprétation

### C.3.1. Articulation saine

#### C.3.1.1. 3<sup>ème</sup> corps B (sérum physiologique, petites vésicules lipidiques)

La présence de petites vésicules lipidiques (d'environ 200 nm de diamètre) remplies de sérum physiologique dans le volume du 3<sup>ème</sup> corps B génère une fluorescence assez importante indiquant la présence de petites vésicules confinées ou ayant fusionné en contact (Tableau C.2, image 1b, partie droite). Cette fluorescence est un peu moins importante que celle enregistrée à l'extérieur du contact (Tableau C.2, image 1b, partie gauche). Hors du contact, les vésicules lipidiques ne sont en effet pas confinées, et l'épaisseur du volume visualisé et donc la quantité de vésicules sont plus grandes. Après 1h de frottement, la zone de contact apparaît nettement moins fluorescente (Tableau C.2, image 2b).

La diminution de fluorescence dans le volume<sup>7</sup> du 3<sup>ème</sup> corps s'accompagne de l'apparition de fluorescence à la surface des premiers corps : fluorescence uniforme sur la surface HEMA (Tableau C.2, image 3b), et fluorescence accentuée sur la trace de frottement de la surface de verre (Tableau C.2, image 4b). Les vésicules lipidiques présentes dans le troisième corps au début du frottement éclatent sous l'effet des sollicitations tribologiques et génèrent un dépôt lipidique sur les surfaces des premiers corps. Cette évolution s'accompagne d'une chute du coefficient du frottement de 0.015 à 0.005.

#### C.3.1.2. 3<sup>ème</sup> corps C (sérum physiologique, bicouches lipidiques)

Comme dans le cas du 3<sup>ème</sup> corps B, la fluorescence à l'intérieur du contact avant frottement est identique à celle observée à l'extérieur du contact (Tableau C.2, image 1d). Mais contrairement au cas B, la fluorescence n'évolue pas significativement au cours du frottement (Tableau C.2, image 2d).

Les visualisations des surfaces frottantes des premiers corps après frottement montrent que les bicouches lipidiques initialement présentes restent intactes (Tableau C.2, images 3d et 4d).

La corrélation de ces observations avec la mesure du très faible coefficient de frottement (0.0015) du début à la fin du frottement montre que les couches lipidiques adsorbées sur les premiers corps résistent bien au frottement et sont responsables de la diminution importante du coefficient du frottement par rapport au 3<sup>ème</sup> corps B.

#### C.3.1.3. 3<sup>ème</sup> corps D (substitut de synovie, bicouches lipidiques)

La présence de poches lipidiques (quelques dizaines de micromètres de diamètre) remplies de gel d'acide hyaluronique et d'albumine (« gel synovial ») dans le 3<sup>ème</sup> corps D génère une fluorescence uniforme à l'intérieur du contact, mais bien plus faible qu'à l'extérieur du contact où elle n'est pas uniforme (Tableau C.2, image 1f). Ainsi, les poches lipidiques du 3<sup>ème</sup> corps D ne restent pas dans le contact, et la fluorescence observée à l'intérieur du contact est principalement provoquée par les bicouches lipidiques adsorbées sur les premiers corps.

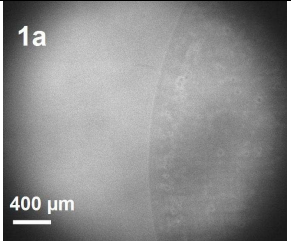
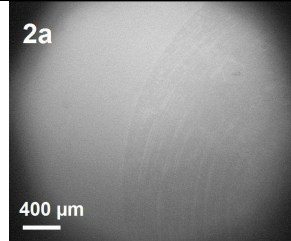
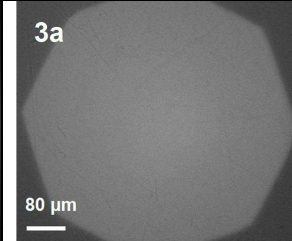
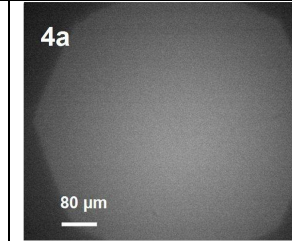
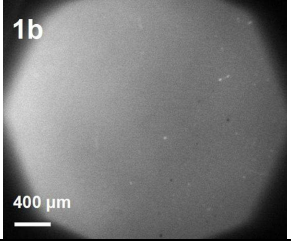
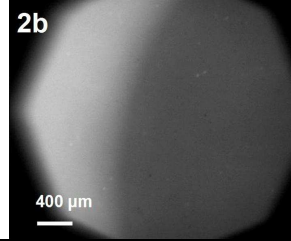
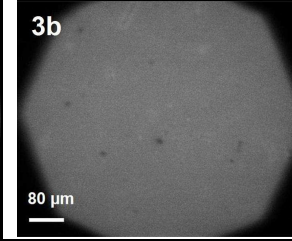
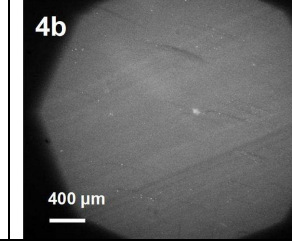
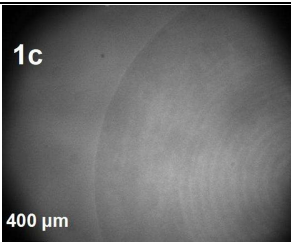
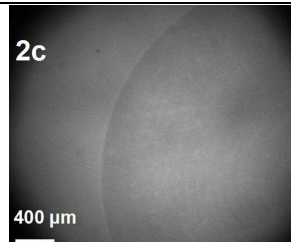
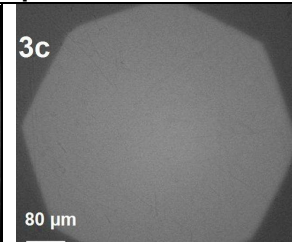
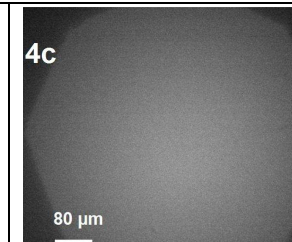
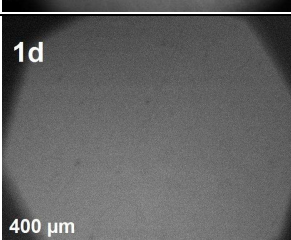
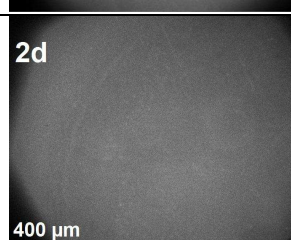
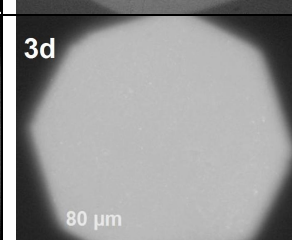
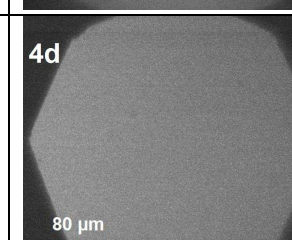
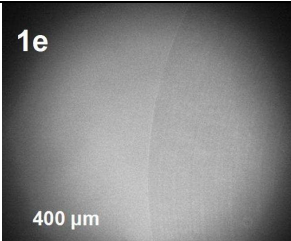
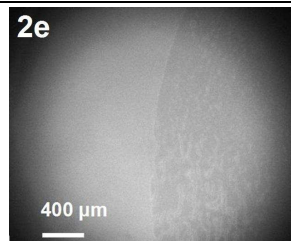
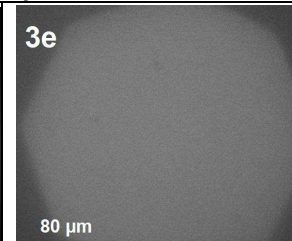
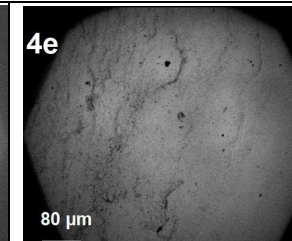
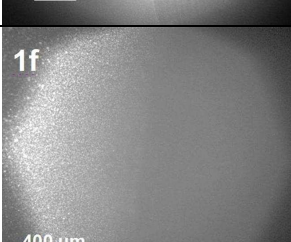
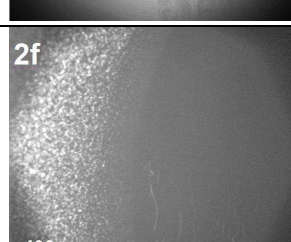
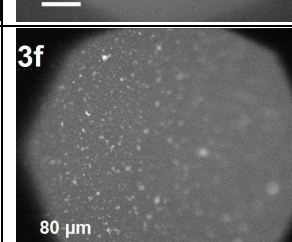
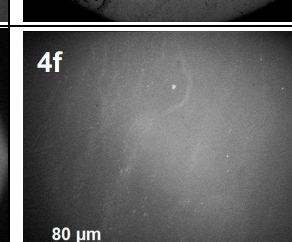
---

<sup>7</sup> On rappelle que l'on considère comme 3<sup>ème</sup> corps uniquement le fluide confiné dans le contact, qui a donc une épaisseur très faible, d'environ quelques dizaines de nm pour les 3<sup>ème</sup> corps A, B et C et quelques  $\mu$ m pour le 3<sup>ème</sup> corps D.

Après 1h de frottement, on remarque la présence à l'intérieur du contact de rouleaux fluorescents (Tableau C.2, partie inférieure de l'image 2f). L'apparition de cette structure en rouleaux pourrait être favorisée par la présence de gel synovial "libre" (non incorporé dans des poches lipidiques) et être responsable, en modifiant le mode d'accommodation du glissement, de la valeur élevée du coefficient de frottement (0.12). Cette valeur est similaire aux valeurs obtenues par Benz et Israelachvili [110], qui étudient le frottement d'un gel d'acide hyaluronique fixé (chimiquement ou physiquement), par l'intermédiaire d'une bicouche lipidique, sur les surface en contact d'une machine de force de surface. Ils montrent que le gel synovial favorise un coefficient de frottement élevé (0.1 – 0.3) en régime limite.

Les visualisations des surfaces de premiers corps après frottement montrent la présence de vésicules fluorescentes, donc lipidiques, sur la surface HEMA (Tableau C.2, image 3f) ainsi que la présence de dépôts non uniformes, peu fluorescents, sur la surface en verre (Tableau C.2, image 4f).

Ainsi, l'ensemble des expérimentations menées sur le contact modèle de cartilage articulaire montre que les bicouches lipidiques, accrochées physico-chimiquement de manière uniforme sur les surfaces frottantes des premiers corps favorisent un coefficient de frottement très bas (de l'ordre de 0.0015). Si l'accrochage des couche lipidiques est fait au cours du frottement, il n'est pas uniforme (trace de frottement plus fluorescente visible dans l'image 4b) et cela peut expliquer le coefficient de frottement un peu plus grand (0.005). Par contre, si le frottement est localisé à l'intérieur d'une couche de gel synovial et non dans la couche du sérum physiologique qui sépare les bicouches lipidiques déposées sur les surfaces frottantes, on obtient un coefficient de frottement beaucoup plus élevé (0.12).

		Visualisation in situ du 3 <sup>ème</sup> corps (zone incluant la frontière du contact)		Visualisation des premiers corps après contact	
		Avant frottement	Après 1h de frottement	HEMA hydraté	Verre borosilicate
<b>3<sup>ème</sup> corps B</b>					
Lumière blanche					
Lumière bleue					
<b>3<sup>ème</sup> corps C</b>					
Lumière blanche					
Lumière bleue					
<b>3<sup>ème</sup> corps D</b>					
Lumière blanche					
Lumière bleue					

**Tableau C.2.** Contact modèle de cartilage articulaire (microscopie optique).



## **C.3.2. Implant en acier**

### **C.3.2.1. 3<sup>ème</sup> corps B (sérum physiologique, petites vésicules lipidiques)**

La fluorescence à l'intérieur du contact avant frottement est uniforme (Tableau C.3, image 1b). Elle a complètement disparu après 1h de frottement (Tableau C.3, image 2b). Les petites vésicules lipidiques (quelques centaines de nanomètres) du 3<sup>ème</sup> corps B sont donc présentes dans le contact avant frottement, comme pour le contact modèle de cartilage articulaire.

Les visualisations des surfaces frottantes des premiers corps après frottement montrent que :

- la trace de frottement sur la surface en acier ne comporte pas de lipides alors qu'à l'extérieur de la trace de frottement on observe une bicouche uniforme (Tableau C.3, image 3b),
- la surface HEMA accroche uniformément les lipides (Tableau C.3, image 4b).

Les surfaces en acier permettent donc un accrochage physico-chimique des lipides, mais les couches lipidiques ne résistent pas aux sollicitations tribologiques. Ceci permet d'expliquer l'augmentation du coefficient de frottement de 0.03 à 0.07 entre le début et la fin des essais (fig. C.3).

### **C.3.2.2. 3<sup>ème</sup> corps C (sérum physiologique, bicouches lipidiques)**

Comme attendu, la fluorescence à l'intérieur du contact avant frottement est uniforme (Tableau C.3, image 1d) et cela est dû aux bicouches lipidiques déposées sur les premiers corps.

La fluorescence perd son uniformité au cours de l'essai (Tableau C.3, image 2d), car les bicouches lipidiques sont décrochées des premiers corps et accumulées dans des paquets fluorescents à l'intérieur du contact. Les visualisations des surfaces de premiers corps après frottement montrent également la destruction des bicouches lipidiques après frottement et la formation d'amas lipidiques dans les traces de frottement tant du côté acier (Tableau C.3, image 3d) que du côté HEMA (Tableau C.3, image 4d).

La corrélation avec une variation de 0.03 à 0.1 du coefficient de frottement au cours des essais (fig. C.3) montre que les bicouches lipidiques accrochées sur les surfaces d'acier ne résistent pas aux sollicitations tribologiques, leur destruction faisant augmenter le frottement.

### **C.3.2.3. 3<sup>ème</sup> corps D (substitut de synovie, bicouches lipidiques)**

La présence de poches lipidiques remplies de gel d'acide hyaluronique et d'albumine dans le 3<sup>ème</sup> corps D génère une fluorescence non uniforme (Tableau C.3, image 1f), ce qui montre que les poches restent dans le contact, contrairement au cas du cartilage. Après 1h de frottement on remarque la fusion de ces poches dans le contact et la formation de paquets fluorescents (Tableau C.3, image 2f).

D'autre part, les images des surfaces des premiers corps après frottement montrent :

- la présence d'un dépôt fluorescent non uniforme sur la surface en acier sur toute la zone de frottement (Tableau C.3, images 3e et 3f),

- la présence d'amas fluorescents et non fluorescents à la frontière de la zone de contact sur la surface en HEMA (Tableau C.3, images 4e et 4f).

Ces amas et ce dépôt pourraient être provoqués par la présence de gel synovial n'ayant pas été incorporé dans des poches lipidiques au cours de l'étape de fabrication du substitut de synovie. L'accommodation de vitesses par cisaillement de ces résidus pourrait être à l'origine du coefficient de frottement élevé (0.12), comme dans le cas du modèle de cartilage (fig. C.3).

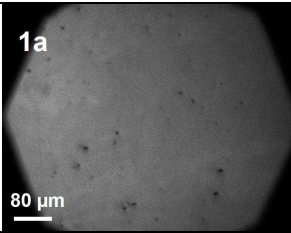
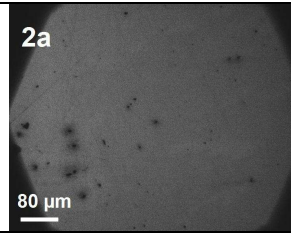
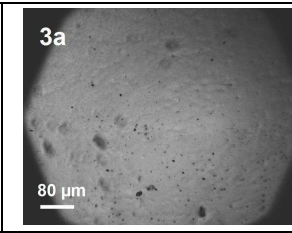
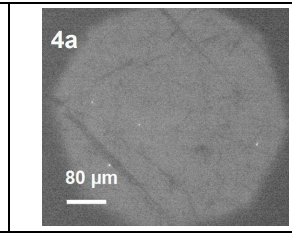
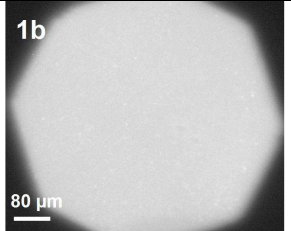
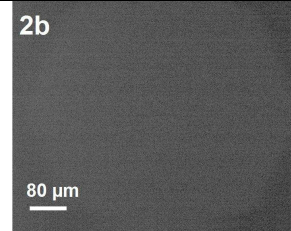
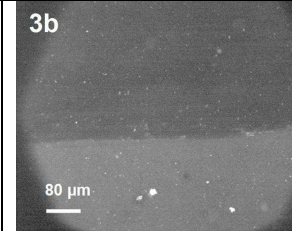
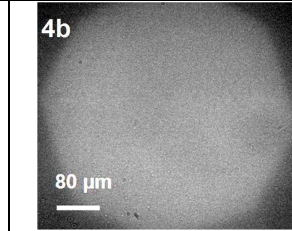
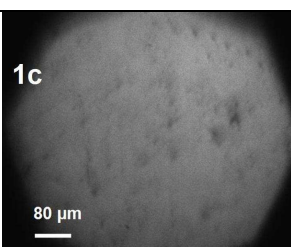
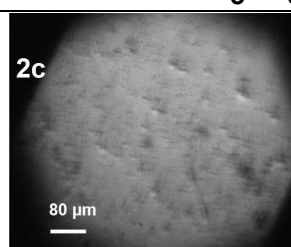
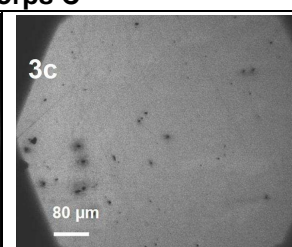
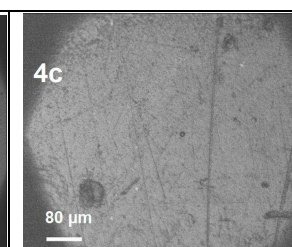
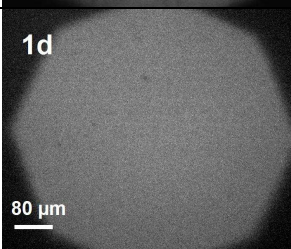
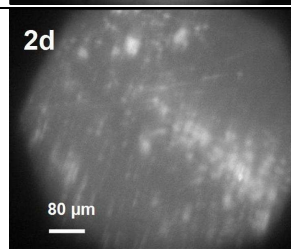
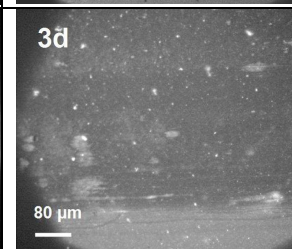
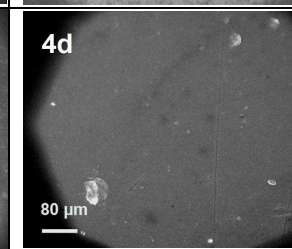
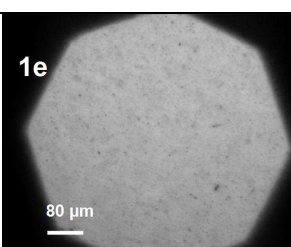
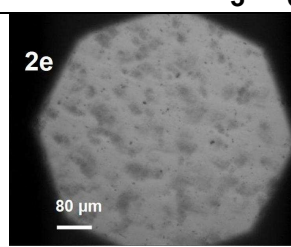
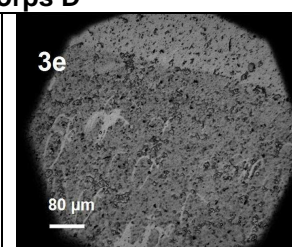
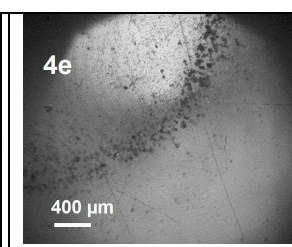
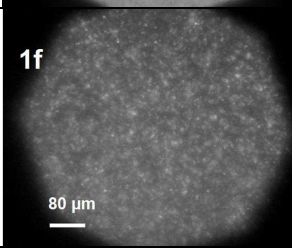
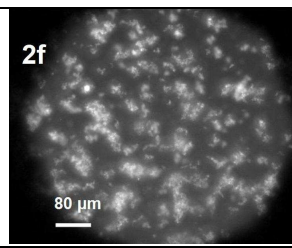
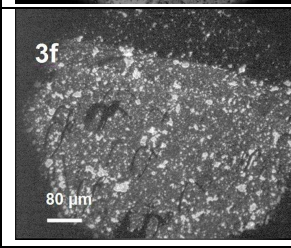
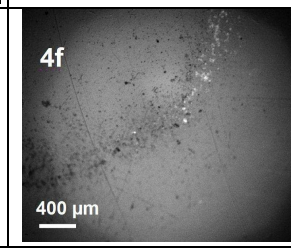
		3 <sup>ème</sup> corps in situ, zone centrale		Premiers corps après contact	
		Avant frottement	Après 1h de frottement	Acier 316L	HEMA rigide
<b>3<sup>ème</sup> corps B</b>					
Lumière blanche					
Lumière bleue					
<b>3<sup>ème</sup> corps C</b>					
Lumière blanche					
Lumière bleue					
<b>3<sup>ème</sup> corps D</b>					
Lumière blanche					
Lumière bleue					

Tableau C.3. Contact modèle d'implant en acier (microscopie optique)

### **C.3.3. Implant en polyéthylène**

#### **C.3.3.1. 3<sup>ème</sup> corps B (sérum physiologique, petites vésicules lipidiques)**

La fluorescence à l'intérieur de la zone de contact avant frottement est uniforme (Tableau C.4, image 1b), elle s'atténue nettement après 1h de frottement (Tableau C.4, image 2b). Les petites vésicules lipidiques sont donc présentes dans le contact avant frottement et sont largement chassées du contact après frottement.

La diminution de fluorescence dans la zone de contact au cours de l'essai s'accompagne de l'apparition de fluorescence sur toute la surface de verre, avec un niveau plus élevé au niveau de la trace de frottement (Tableau C.4, image 4b). Par contre la fluorescence de la surface de polyéthylène demeure négligeable (Tableau C.4, image 3b). Ceci montre que les vésicules lipidiques contenues dans le volume du 3<sup>ème</sup> corps B, qui ne sont pas chassées du contact, sont éclatées sous l'action des sollicitations tribologiques, les lipides s'accrochant alors uniquement sur la surface de verre, à la fois spontanément et sous l'effet du frottement.

Par contre la surface en polyéthylène ne permet pas l'accrochage de lipides, ni par des effets physicochimiques spontanés, ni sous l'effet de sollicitations tribologiques, ce qui semble avoir pour conséquence un niveau de frottement élevé, comparable à ce que l'on obtient avec le 3<sup>ème</sup> corps A (sérum physiologique pur). La diminution du coefficient de frottement en fin d'essai (on passe de 0.07 à 0.05) peut être expliquée par un lissage du polyéthylène, qui se traduit par une augmentation de la brillance au niveau de la trace de frottement (Tableau C.4, image 3a).

#### **C.3.3.2. 3<sup>ème</sup> corps C (sérum physiologique, bicouches lipidiques)**

La présence de bicouches lipidiques sur les surfaces génère une fluorescence du contact (Tableau C.4, image 1d), mais cette fluorescence est moins uniforme que dans le cas du contact modèle articulaire (Tableau C.2, image 1d) ou du modèle d'implant en acier (Tableau C.3, image 1d). Cela est dû à la différence de mouillabilité des deux surfaces en contact (verre, polyéthylène) qui crée des défauts dans les bicouches lipidiques. Au cours du frottement, les lipides se décrochent des surfaces, pour former des paquets fluorescents à l'intérieur du contact (Tableau C.4, image 2d).

Les visualisations des surfaces frottantes des premiers corps après frottement montrent, comme dans le cas du 3<sup>ème</sup> corps B :

- l'absence de lipides accrochés sur la surface en polyéthylène (Tableau C.4, image 3d) et le lissage de la trace de frottement détectable en lumière blanche par brillance de la trace de frottement (Tableau C.4, image 3c).
- La présence d'une couche lipidique très inhomogène sur le verre (Tableau C.4, image 4d), avec des amas lipidiques qui n'existent pas avant frottement (tableau B.3, image 6c).

Ainsi, dans le cas du contact modèle d'implant en polyéthylène, l'évolution du contact est la même, que les lipides soient initialement dans le volume du 3<sup>ème</sup> corps sous forme de petites vésicules, ou en bicouches sur la surface des premiers corps, ce qui explique que l'évolution du coefficient de frottement soit identique (fig. C.3).



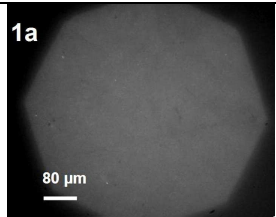
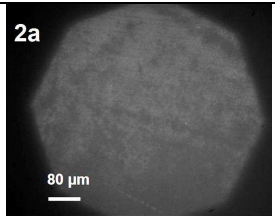
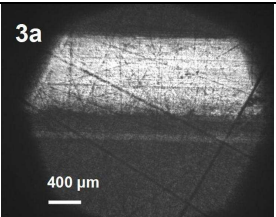
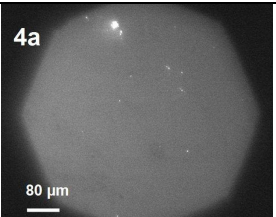
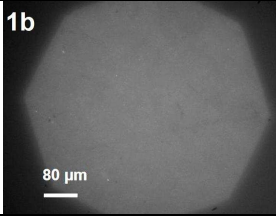
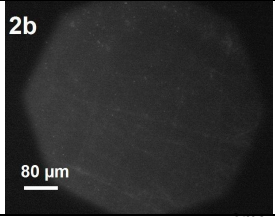
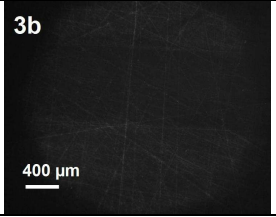
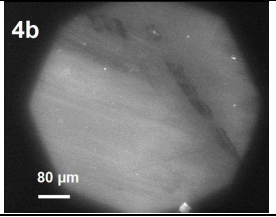
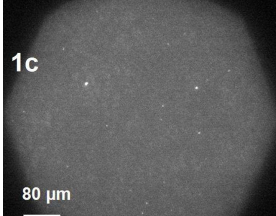
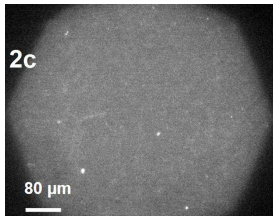
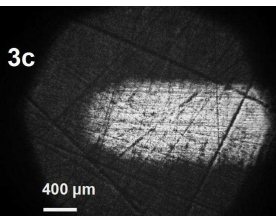
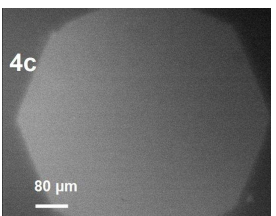
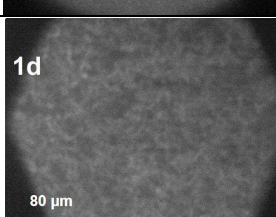
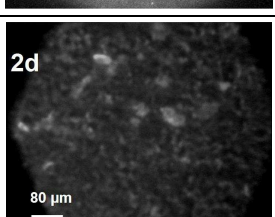
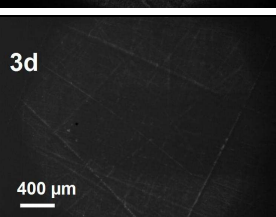
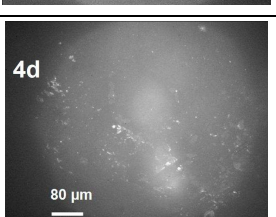
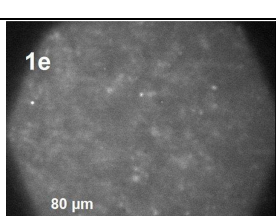
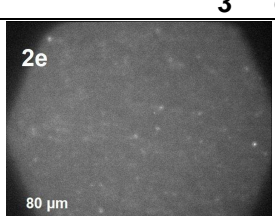
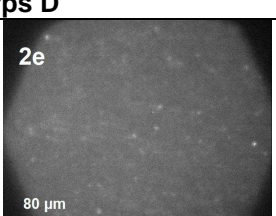
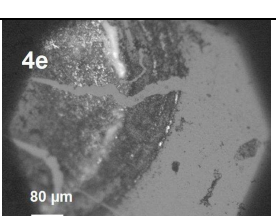
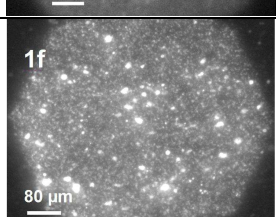
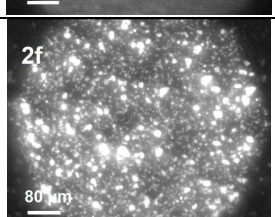

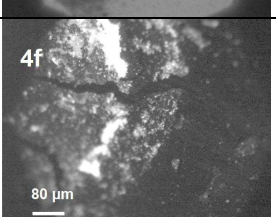
### **C.3.3.3. 3<sup>ème</sup> corps D (substitut de synovie, bicouches lipidiques)**

La présence de poches lipidiques remplies de gel synovial dans le troisième corps génère une fluorescence non uniforme du contact (Tableau C.4, image 1f), ce qui montre que ces poches existent initialement à l'intérieur de la zone de contact. Après 1h de frottement on remarque la fusion de ces poches en paquets fluorescents (Tableau C.4, image 2f).

Les visualisations des surfaces frottantes des premiers corps après frottement montrent :

- pour la surface en polyéthylène, l'absence de fluorescence (Tableau C.4, image 3f), et une brillance dans la trace de frottement (Tableau C.4, image 3e), moins prononcée que dans les deux cas précédents, qui témoigne d'un début de lissage de la surface.
- la présence d'amas de fluorescence non uniforme au niveau de la zone de contact sur la surface en verre (Tableau C.4, image 4f).

Dans cette configuration, il semble donc que l'accommodation du glissement entre les surfaces soit assurée principalement dans le volume du 3<sup>ème</sup> corps, au niveau de ces amas, ce qui explique que l'on retrouve le même niveau de frottement élevé (fig. C.3) que dans le cas des modèles de cartilage ou d'implant en acier. On retrouve également le fait que la tendance du polyéthylène à se lisser au cours des essais a pour conséquence apparente la diminution du coefficient de frottement.

		3 <sup>ème</sup> corps in situ, zone centrale		Premiers corps après contact	
		Avant frottement	Après 1h de frottement	UHMWPE	verre
<b>3<sup>ème</sup> corps B</b>					
Lumière blanche					
Lumière bleue					
<b>3<sup>ème</sup> corps C</b>					
Lumière blanche					
Lumière bleue					
<b>3<sup>ème</sup> corps D</b>					
Lumière blanche					
Lumière bleue					

**Tableau C.4.** Contact modèle d'implant en polyéthylène (microscopie optique)

### C.3.4. Conclusions

Le modèle expérimental défini et validé dans le chapitre B a été exploité afin de reproduire *ex vivo* les triplets tribologiques associés respectivement à une articulation naturelle saine, un implant en acier, et un implant en polyéthylène. Il s'agissait en particulier d'analyser le rôle tribologique des composants biologiques du lubrifiant naturel que constitue la synovie, en portant un intérêt particulier aux structures lipidiques.

Afin d'exacerber le rôle des interfaces, les conditions expérimentales ont été choisies de manière à éliminer tout effet de portance hydrodynamique, et favoriser un régime de type limite. Différents troisièmes corps ont été considérés, permettant d'étudier de manière découplée l'influence des différentes structures lipidiques sur le frottement.

L'analyse proposée repose sur des mesures de force de frottement associées à des images du contact et des surfaces en microscopie optique. La microscopie est exploitée en fluorescence pour mettre en évidence les structures lipidiques, et aussi en lumière blanche.

Il ressort de ce travail que la présence de bicouches lipidiques homogènes sur les surfaces solides favorise un faible frottement. Cet effet s'est clairement manifesté dans le cas du modèle de cartilage articulaire, où il a conduit à des coefficients de frottement de l'ordre du millième. Il n'est par contre pas sensible dans le cas des modèles d'implants :

- Dans le cas du modèle de cartilage articulaire, les couches lipidiques résistent à des sollicitations tribologiques réalistes. De plus, les sollicitations tribologiques favorisent leur formation en présence de vésicules lipidiques. Pour les modèles d'implants, cet effet bénéfique des bicouches n'est pas exploité.
- Les surfaces en acier favorisent également l'accrochage des couches lipidiques, ce qui tendrait à diminuer le frottement, mais celles-ci ne résistent pas aux sollicitations tribologiques ; après une heure, elles sont totalement éliminées du contact, et le coefficient de frottement revient à une valeur élevée.
- Les surfaces en polyéthylène ne permettent pas du tout l'accrochage des couches lipidiques. Ce résultat est apparemment en contradiction avec la bibliographie, où l'on constate que la présence de lipides dans un contact acier – polyéthylène fait baisser le coefficient de frottement [150]. Une baisse du coefficient de frottement au cours des essais a effectivement été observée dans ce travail; mais elle est uniquement corrélée aux effets de lissage de la surface en polyéthylène.

Par ailleurs, l'addition d'acide hyaluronique et d'albumine dans le substitut de synovie a eu pour conséquence une augmentation du coefficient de frottement dans tous les essais effectués au cours de ce travail. Cela est probablement dû à la présence de gel d'acide hyaluronique et d'albumine "libre", c'est-à-dire non inclus dans des poches lipidiques. Celui-ci tendrait alors à adhérer sur les surfaces frottantes, et à imposer le mode d'accommodation du glissement, de type cisaillement ou roulement.

Il est toutefois probable que la présence de gel synovial libre soit imputable à notre manière de préparer la solution initiale de poches lipidiques de gel synovial, qui ne permet pas l'incorporation totale du gel. En effet, il semble que le processus d'incorporation du gel dans des poches lipidiques soit très dépendant des conditions physicochimiques (température, pH, pression osmotique ...) [148]. D'ailleurs, la synthèse pharmaceutique des liposomes comporte

une étape finale de filtration destinée à éliminer le gel libre. Cette filtration n'a pas été réalisée dans le cadre de ce travail.

D'autre part, il est probable qu'il n'existe pas de gel libre dans une articulation saine, où la présence de lubriline contrôle la formation correcte des structures lipidiques (bicouches, poches) en réalisant une interface adhésive entre les couches lipidiques et les surfaces de cartilage ou le gel synovial.

La situation est peut-être très différente dans les prothèses : ce travail suggère que les couches lipidiques sont détruites par le frottement, ce qui peut permettre l'existence de gel libre, et tendre à augmenter le frottement. Notons toutefois que malgré cette augmentation du coefficient de frottement, la présence de gel libre peut avoir un effet bénéfique, par un effet de protection des surfaces d'acier contre l'usure [10,11].

Ce travail montre donc que les structures moléculaires, comme les couches lipidiques et le gel d'acide hyaluronique et d'albumine, influencent de manière déterminante les performances tribologiques des matériaux d'implant articulaires, fonctionnant en régime de lubrification limite. Il s'avère donc indispensable de les prendre en compte dans les essais de durée de vie d'implants, et de ne pas employer un lubrifiant composé uniquement de sérum physiologique et albumine, comme ce qui est couramment pratiqué.

Une voie d'optimisation des surfaces frottantes des implants articulaires passe par l'amélioration de la compatibilité des matériaux avec les bicouches lipidiques, afin de favoriser un coefficient de frottement bas, et un mode de lubrification semblable à celui d'une articulation saine. Ces conclusions sont en accord avec les travaux de Hills [107], qui montrent la présence d'un empilement de 3 à 7 bicouches lipidiques sur les surfaces des cartilages articulaires et suggère que la plupart des surfaces d'implants ne permettent pas la formation de cet empilement.

#### **C.4. Accommodation du glissement dans les assemblages moléculaires de la synovie**

Les résultats expérimentaux présentés en C.3.1 et B.2 montrent que les multicouches lipidiques DPPC déposées de façon uniforme sur les surfaces frottantes du modèle articulaire sont responsables d'un coefficient de frottement très bas (0.0015 - 0.0020).

Il s'agit maintenant d'analyser le mode d'accommodation du glissement [151, 152] favorisé par la présence des multicouches sur les surfaces, et associé à ce bas niveau de frottement.

##### **C.4.1 Accommodation du glissement dans les multicouches lipidiques**

Afin d'examiner si l'accommodation du glissement peut être localisée au sein d'une bicouche lipidique, une série d'essais de frottement à une vitesse de  $6 \cdot 10^{-4}$  m/s et une charge normale de 3N (correspondant à une pression moyenne de 0.3MPa) a été réalisée sur le dispositif décrit dans le paragraphe B.2.1. Les premiers corps sont constitués de :

- une lentille HEMA hydratée, 48h avant essai, dans du sérum physiologique, et couverte d'une seule bicouche lipidique DOPC, fluorescente en lumière bleue,
- une contre face en verre, très propre (cf. B.2.4.1.).

Les visualisations en fluorescence montrent que la bicouche lipidique n'est pas détruite au cours du frottement. Le coefficient de frottement est d'environ 0.08, et reste constant au cours des 10 minutes d'essai. Les essais n'ont pas été poursuivis après 10 minutes, pour éviter l'oxydation lipidique.

Par contre, si l'on dépose une bicouche lipidique sur chacun des premiers corps, on obtient un coefficient de frottement plus faible, 0.01.

Le fait que dans la première configuration on observe un frottement relativement élevé peut être dû aux chargements mécaniques qui ne permettent pas la formation d'une épaisseur d'eau capable de séparer les têtes lipidiques appartenant à la surface frottante (bicouche lipidique déposée sur HEMA) de la surface de verre. Cette surface étant très propre, elle est susceptible d'adsorber les têtes lipidiques, localisant ainsi les vitesses entre les queues lipidiques (fig. C.5). Dans la même logique, on peut penser que la présence d'une bicouche lipidique sur chacune des deux surfaces tend à maintenir (par des effets physicochimiques [120, 153]) une très fine couche d'eau entre les bicouches lipidiques, dans laquelle a lieu toute l'accommodation du glissement (fig. C.6).

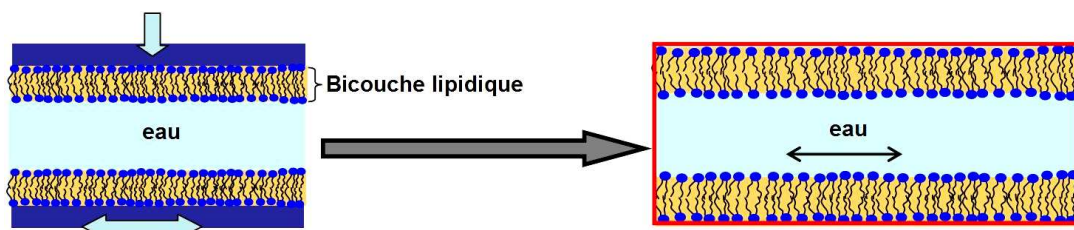


Fig. C.5. Accommodation des vitesses dans la couche d'eau

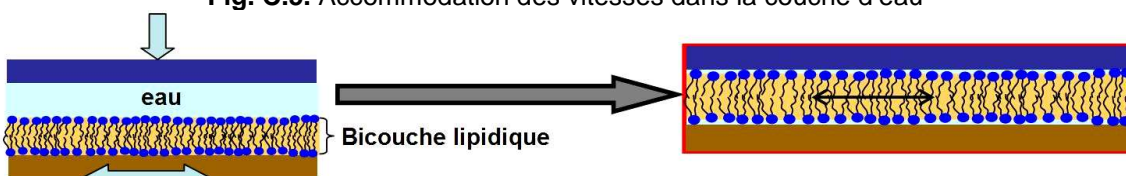


Fig. C.6. Accommodation du glissement à l'intérieur de la bicouche lipidique

Afin de vérifier la pertinence de cette interprétation des résultats expérimentaux concernant la localisation du glissement, nous avons également exploité un modèle numérique, basé sur la dynamique moléculaire et utilisant des éléments discrets (grains), développé depuis 1999 [154] au sein du LaMCoS, et adapté pour les multicouches lipidiques dans le cadre du projet de Master de David Richard [155].

Ce *modèle numérique moléculaire* permet l'analyse tribologique des couches lipidiques en reproduisant de manière très simple la structure chimique des couches lipidiques ainsi que les interactions physico-chimiques nécessaires pour maintenir leur intégrité.

Pour modéliser la bicouche lipidique, on a utilisé la structure chimique d'une molécule lipidique et les interactions physico-chimiques qui maintiennent l'intégrité de cette bicouche. Nous avons reconstitué la molécule lipidique en définissant trois types de grains : un premier correspondant à l'atome de carbone des queues lipidiques, un deuxième correspondant à la

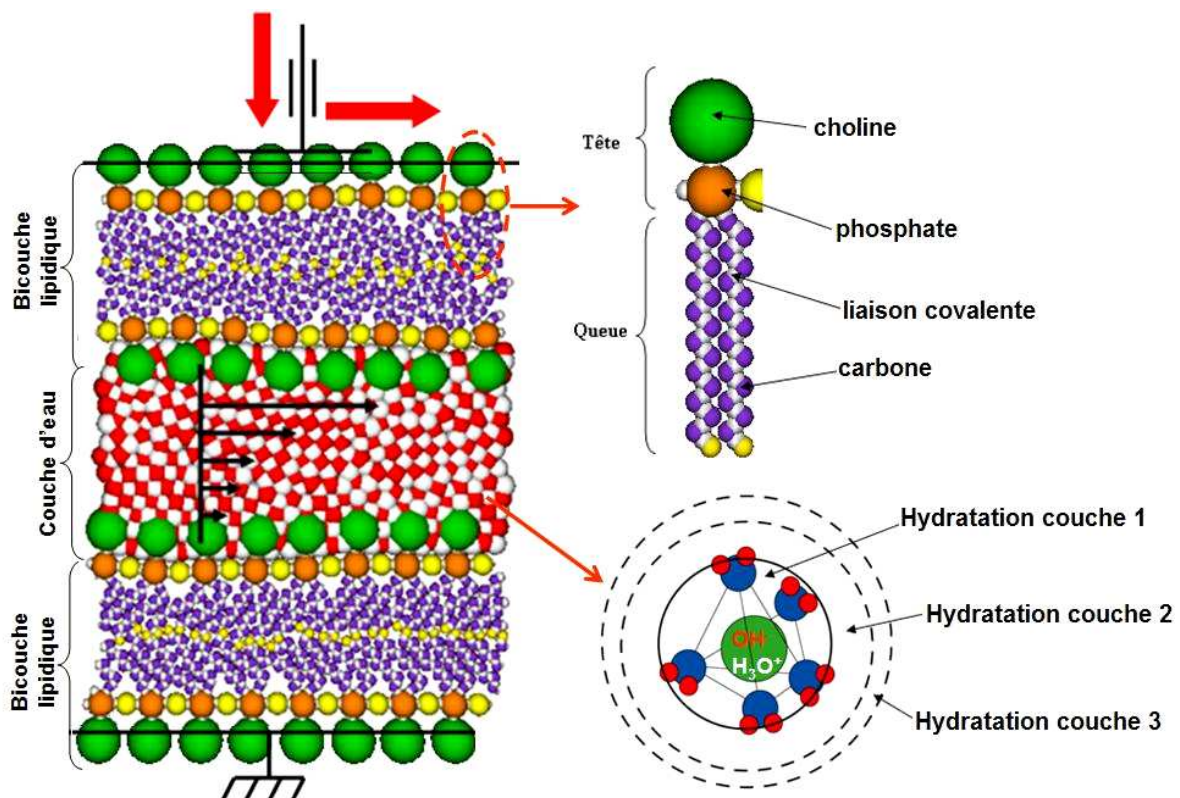


partie hydrophile de la tête lipidique, chargée électropositivement (choline) et un troisième correspondant à la partie hydrophile de la tête lipidique, chargée électronégativement (phosphate) (C.7b). Pour réaliser l'intégrité de la couche lipidique, l'ion de calcium a été reconstitué par un quatrième type de grain. Ensuite, ces quatre types de grains ont été reliés par des liaisons de type « ressorts » qui remplacent les liaisons chimiques réelles. La raideur de ces liaisons est calculée en fonction de la valeur de la liaison chimique qu'elle substitue.

Enfin, la couche d'eau a été modélisée à partir de la réalité physique qui montre que le milieu aqueux est composé de dipôles d'eau en équilibre avec de l'eau ionisée :  $H_3O^+$  et  $HO^-$ . Pour créer le milieu aqueux, neutre électriquement, les groupes  $H_3O^+$  et  $HO^-$  sont entourés chacun de trois couches de molécules d'eau dipolaires (fig. C.7c). Partant de cette réalité nous avons reconstitué la couche d'eau en définissant deux types de grains, l'un correspondant à  $H_3O^+$  hydraté (en blanc sur la figure C.7), et l'autre correspondant à  $HO^-$  hydraté (en rouge sur la figure C.7).

Les interactions entre les grains non liés par des liaisons de type ressort, ont été définies uniquement par des interactions électrostatiques (annexe 5) basées sur la loi de Coulomb. En effet, les interactions de van der Waals sont négligeables car le modèle impose que les bicouches lipidiques ne peuvent s'approcher à plus de 3 nm les unes des autres (annexe 5).

Pour reproduire les conditions de fonctionnement tribologique, nous avons appliqué une force normale et une vitesse tangentielle sur chaque grain « choline » de la paroi supérieure de la bicouche supérieure, tandis que les grains « choline » de la paroi inférieure de la bicouche inférieure ont été encastrés.



C.7. Modélisation du fonctionnement tribologique des multicouches lipidiques

Les résultats montrent que pour des conditions de frottement proches de celles réalisées expérimentalement, l'accommodation du glissement se fait dans la couche d'eau, ce qui est en accord avec les interprétations proposées pour les résultats expérimentaux.

Par contre, le modèle n'a pas détecté de différences de frottement entre l'état fluide et solide des bicouches lipidiques, respectivement les lipides avec double liaison et celles sans double liaison. Ce point est en désaccord avec les résultats expérimentaux qui montrent un rapport de coefficient de frottement d'environ 6 pour les bicouches fluides comparées aux bicouches solides (cf. § B.2.4.3). Cette différence pourrait être expliquée par une oxydation des bicouches lipidiques fluides, survenue lors des essais « physiques ».

L'ensemble de ces résultats, expérimentaux et numériques, tend à suggérer que la faible valeur du coefficient de frottement constatée lorsque les surfaces sont couvertes de bicouches lipidiques est favorisée par un glissement localisé dans la couche d'eau piégée entre deux bicouches lipidiques. Par contre, si le glissement est localisé dans la bicouche lipidique elle-même, on obtient des coefficients de frottements 8 fois plus grands. Par conséquent, les bicouches lipidiques, en elles-mêmes, ne favorisent pas directement l'obtention d'un frottement bas. Leur rôle tribologique serait plutôt indirect en piégeant entre elles, par des actions physicochimiques, de fines couches d'eau (6 -10 nm [107,67]) dans lesquelles se localise l'accommodation du glissement.

D'autre part, nous avons également remarqué que la composition ionique du milieu aqueux influence le frottement. Ainsi, quand le milieu aqueux est constitué de sérum physiologique, le coefficient de frottement est légèrement plus bas (0.0015, cf. § C.3) que si ce milieu est constitué d'eau déminéralisée (0.002, cf. § B.3). Cela peut être dû à des forces de type électrostatique, générées par la présence d'ions  $\text{Na}^+$  et  $\text{Cl}^-$  qui peuvent interagir avec les charges électriques positives des têtes lipidiques.

Les résultats du paragraphe C.3.1 montrent aussi que les multicouches lipidiques peuvent s'adsorber sur les surfaces des premiers corps au cours du frottement, par éclatement de vésicules lipidiques. Dans ce cas, on obtient des multicouches non uniformes induisant un coefficient de frottement de 0.005. Cette légère augmentation du frottement pourrait être due au fait que l'accommodation du glissement dans la couche de sérum présente entre les dépôts lipidiques formés sur les surfaces frottantes n'est pas parfaitement uniforme (fig. C.8).

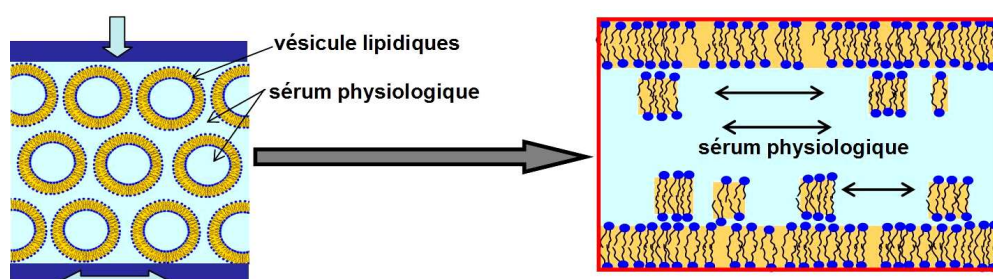


Fig. C.8. Accommodation du glissement dans la couche de sérum physiologique (troisième corps B)

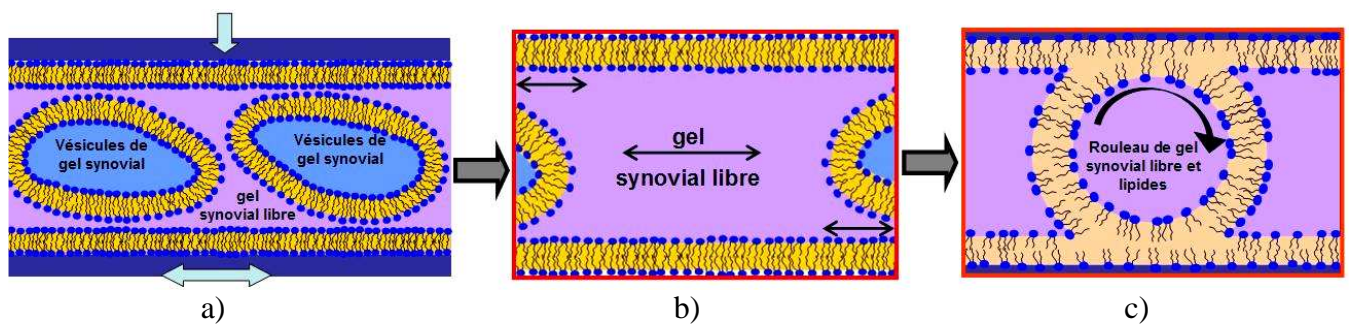
#### C.4.2 Accommodation du glissement dans le gel synovial

Les résultats du paragraphe C.3.1 montrent un coefficient de frottement très élevé (0.12) lorsque le troisième corps comporte des poches de gel synovial. Malgré le manque

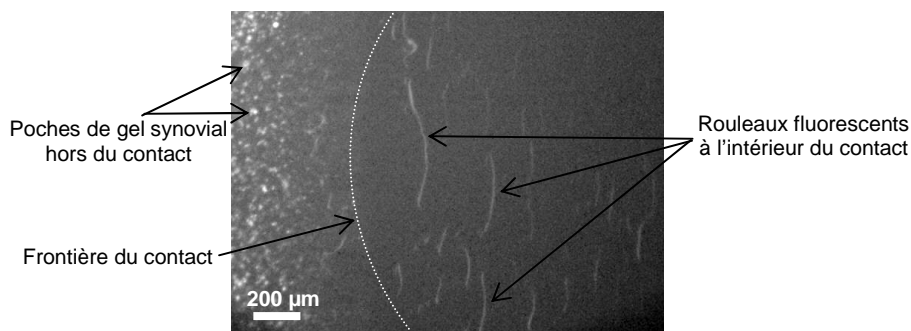
d'informations sur le coefficient de frottement réel *in vivo*, ce résultat paraît inattendu par rapport à la structure de la synovie proposée et les très faibles valeurs du coefficient de frottement obtenues en présence des bicouches lipidiques.

Néanmoins ces fortes valeurs de frottement sont cohérentes avec celles de Benz et al. [110] obtenues lorsque le frottement se localise dans une couche de gel d'acide hyaluronique. Par conséquent, nos valeurs expérimentales élevées sont probablement dues à la présence de gel synovial résiduel, c'est-à-dire qui n'a pas été inclus dans les poches lipidiques au cours de la phase d'obtention de ces poches. Ce gel appelé "libre" pourrait imposer l'accommodation de vitesse, selon le processus chronologique suivant (fig. C.9a) :

- le cisaillement du gel libre provoquerait l'éjection des poches lipidiques hors du contact (fig. C.9b).
- l'apparition de rouleaux, observables en fluorescence (fig. C.10), pourrait être due à un endommagement local des couches lipidiques présentes sur les surfaces frottantes, qui s'adaptent de façon à entourer le gel synovial libre, formant ainsi des rouleaux (fig. C.9c). L'accommodation de vitesse par roulement de ces rouleaux associée aux perturbations locales des couches lipidiques pourrait être la cause du frottement élevé.



**Fig. C.9.** Accommodation du glissement par le gel synovial (troisième corps D)

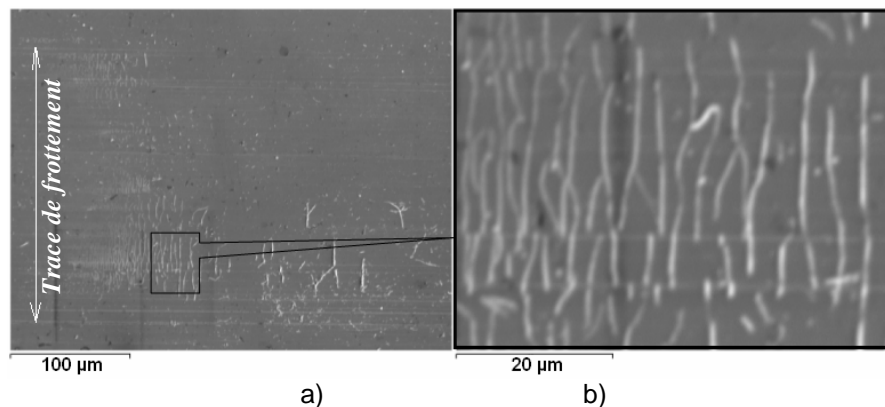


**Fig. C.10.** Présence de poches de gel synovial hors du contact et de rouleaux fluorescents dans le contact (modèle articulaire en présence du troisième corps D)

Le même type de rouleaux a été observé sur les surfaces en acier, après frottement, en présence du troisième corps formé de poches du gel synovial (troisième corps D). L'observation de ces rouleaux en microscopie électronique à balayage a montré qu'ils se



situent à l'intérieur de la trace du frottement et qu'ils ont une longueur de quelques dizaines de  $\mu\text{m}$  et un diamètre de quelques  $\mu\text{m}$  (fig. C.11).



**Fig. C.11.** Images en microscopie électronique à balayage de la surface en acier après frottement en présence du troisième corps D a)visualisation de la trace de frottement b) rouleaux de troisième corps

### C.4.3 Conclusions

Les résultats présentés dans ce paragraphe montrent que le frottement mesuré dans le cadre de notre modèle expérimental d'articulation dépend de la manière dans lequel se fait l'accommodation du glissement dans les assemblages moléculaires de la synovie.

Ainsi, un coefficient de frottement très bas (0.0015) est obtenu lorsque l'accommodation du glissement a lieu par glissement au sein des multicouches lipidiques, plus précisément dans la couche d'eau piégée entre deux bicouches lipidiques. Cela pourrait être le cas *in vivo* d'une articulation saine où les poches de gel synovial auraient pour rôle de supporter la charge. L'accommodation du glissement aurait alors lieu uniquement aux interfaces lipidiques, puisque la présence de gel synovial libre est improbable dans une articulation saine (cf. C.3.4.)

Par contre, quand le gel synovial est acteur de l'accommodation du glissement, on enregistre un coefficient de frottement bien plus élevé (0.12). Cette situation pourrait être représentative d'une articulation pathologique ou prothésée, dans laquelle les couches lipidiques peuvent être détruites soit par une action enzymatique (cf A.1.3.2.4.), soit par une action tribologique (cf B.2.4.2.) donnant lieu à l'apparition de gel synovial libre.

## CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES

*Nos réflexions. Elles sont le fruit de notre commerce avec les autres, du frottement de notre intelligence avec la leur et du travail souterrain que nos lectures et nos conversations effectuent en nous.*

*[Pierre Assouline]*

*Plus la science avance, plus elle donne raison à la nature.*

*[Anonyme]*

Ce travail est principalement axé sur le fonctionnement tribologique d'une articulation saine, dont la compréhension constitue une référence essentielle pour l'amélioration des traitements des maladies articulaires et l'optimisation des surfaces frottantes des implants.

Cette étude a été menée en exploitant des techniques expérimentales *in vivo*, comme l'imagerie médicale, et *ex vivo* comme la microscopie de fluorescence, électronique et de force atomique, ainsi que différentes techniques physico-chimiques. Des outils numériques tels que la modélisation par éléments discrets ont également été employés. Ces techniques ont été adaptées pour construire un modèle tribologique réaliste. Ce modèle permet principalement l'étude du fonctionnement articulaire à l'échelle moléculaire. Cette étude a comporté trois étapes.

La première étape a été orientée vers l'analyse des structures biologiques articulaires dans leur milieu vivant. Elle a permis de cibler les paramètres mécaniques et physicochimiques déterminants, et donc à reproduire dans un modèle articulaire tribologique *ex vivo* réaliste. Cette analyse a abouti à un modèle structural discontinu de la synovie, attribuant un rôle tribologique aux auto-assemblages moléculaires identifiés dans le fluide synovial. Ce modèle comporte des poches de gel entourées et séparées entre elles par des multicouches lipidiques. Les poches de gel sont constituées d'acide hyaluronique et de protéines synoviales; leur rôle tribologique étant de compenser la rugosité des cartilages articulaires et d'assurer une distribution uniforme de la pression dans le contact. Les multicouches lipidiques sont formées par l'empilement de bicouches lipidiques séparées par des couches de sérum physiologique; leur rôle tribologique étant d'empêcher l'effet rhéofluidifiant de la synovie et de localiser le glissement dans le sérum physiologique.

La deuxième étape de ce travail a consisté à reproduire dans un modèle tribologique articulaire *ex vivo*, les paramètres mécaniques et physicochimiques ciblés précédemment.

Ce modèle utilise un matériau de type hydrogel HEMA, qui permet, quand il est hydraté dans le sérum physiologique, de reproduire les propriétés mécaniques et physicochimiques des cartilages articulaires. La caractérisation mécanique de l'hydrogel HEMA a permis de

mettre en évidence une corrélation entre les propriétés physico-chimiques (pH, pression osmotique) du milieu d'hydratation et les propriétés mécaniques (module d'élasticité) et tribologiques (coefficient de frottement) de l'hydrogel HEMA. Cette corrélation a été exploitée pour expliquer en termes mécaniques l'évolution des maladies articulaires. Ainsi il a été mis en évidence qu'un pH acide, qui caractérise une arthrite, augmente le module d'élasticité du modèle du cartilage et aussi le coefficient de frottement ce qui peut induire des endommagements du matériau HEMA. Ces endommagements sont alors caractéristiques d'une arthrose. Ce modèle peut donc expliquer, en termes mécaniques, comment une arthrite évoluerait vers une arthrose, ce qui est mis en évidence par les études cliniques.

Un modèle du fluide synovial, composé de bicouches lipidiques et de poches de gel, a également été défini. La caractérisation mécanique des bicouches lipidiques, par microscopie de force atomique, a permis de montrer leur résistance mécanique à des pressions supérieures à quelques dizaines de MPa. Cette résistance est bien plus importante que les pressions développées dans une articulation saine au cours de la marche normale, qui sont estimées à seulement quelques MPa. Cela a confirmé la pertinence de notre modèle structural discontinu de la synovie et de notre étude tribologique des assemblages moléculaires de la synovie.

Pour simuler *ex vivo* le mécanisme articulaire, un dispositif expérimental permettant conjointement la mesure du coefficient de frottement et la visualisation *in situ* du contact, a été mis au point. Grâce à l'utilisation de marqueurs moléculaires spécifiques, ce modèle a permis d'analyser le rôle tribologique des assemblages moléculaires de la synovie, et en particulier de montrer que ce sont les multicouches lipidiques qui favorisent l'existence d'un coefficient de frottement très bas (0.0015).

La troisième étape de ce travail a consisté à exploiter le modèle articulaire ainsi validé, pour étudier les capacités potentielles des assemblages moléculaires de la synovie à améliorer les performances tribologiques des implants articulaires. Nous avons constaté que la formation et/ou le maintien des bicouches lipidiques n'est pas réalisé dans le cas des matériaux d'implants en polyéthylène ou en acier. D'autre part, les performances tribologiques des surfaces d'implants en polyéthylène et acier sont modifiées par la présence des assemblages moléculaires ; nous avons notamment remarqué que les surfaces en acier favorisent la formation, au cours des essais, d'une couche formée principalement de gel synovial, et susceptible de protéger les surfaces contre l'usure, ce qui n'est pas le cas avec le polyéthylène. Ainsi, ces résultats montrent que des tests de durée de vie des implants articulaires ne peuvent être pertinents que s'ils reproduisent correctement ces assemblages moléculaires. Cela n'est pas le cas actuellement, car la majorité des essais industriels utilisent comme lubrifiant du BSA (sérum albumine bovine) qui ne contient que le composant protéique du fluide synovial. C'est-à-dire qui ne contient ni l'acide hyaluronique ni les lipides.

Ce travail a montré le lien étroit entre l'ordre de grandeur du coefficient de frottement et le mode d'accommodation de vitesse dans les assemblages moléculaires de la synovie. Ainsi, des coefficients de frottement élevés, d'environ 0.15, ont été mesurés chaque fois que le glissement était localisé dans le gel synovial. En revanche, des coefficients de frottement 100 fois plus faibles ont été obtenus lorsque le glissement était localisé dans les multicouches lipidiques.

Afin d'étudier plus en détail comment le glissement se localise dans les multicouches lipidiques, un modèle numérique de dynamique moléculaire des multicouches lipidiques a été mis au point. La corrélation entre résultats numériques et expérimentaux montre que le glissement se localise dans les fines couches d'eau (6 – 10 nm d'épaisseur) qui sont piégées physico-chimiquement entre et par les bicouches lipidiques, ce qui conduit à un coefficient de frottement très bas.

D'autre part, nous avons mis en évidence que les performances tribologiques des assemblages moléculaires dépendent de la qualité des structures et du caractère oxydant du milieu :

- le manque d'ions  $\text{Ca}^{++}$  et la présence d'impuretés, comme le détergent, altèrent les propriétés tribologiques des multicouches lipidiques ce qui les rend non résistantes aux sollicitations tribologiques.
- le caractère oxydant du milieu altère également les propriétés tribologiques des multicouches lipidiques en phase fluide (DOPC), les rendant non résistantes aux sollicitations tribologiques.
- La présence de gel synovial libre, c'est-à-dire non inclus dans les poches formées par les multicouches lipidiques, génère un coefficient de frottement élevé lorsque l'accommodation du glissement a lieu dans ce gel libre. Nous n'avons pas réussi à éliminer complètement ce gel libre de notre troisième corps modèle ex vivo, ce qui peut être imputé à l'absence de lubricine qui est considérée comme une molécule d'adhésion entre le gel et les couches lipidiques in vivo. L'absence de lubricine peut aussi expliquer l'altération des propriétés tribologiques des couches lipidiques fluides (DOPC) qui, sans protection antioxydante, sont détruites au cours des essais tribologiques ex vivo.

Dans l'immédiat il est donc nécessaire de reproduire la lubricine dans le modèle ex-vivo en rajoutant de la « vitronectine » dans le gel synovial. Cette substance, utilisée en culture cellulaire pour faciliter l'adhésion de la membrane cellulaire (bicouche lipidiques) sur différentes matrices polymériques hydrophiles, pourrait remplacer la « lubricine » existante in vivo. Ensuite il faudrait trouver une technique pour quantifier la quantité de gel incorporée aux poches lipidiques du troisième corps modèle articulaire et si possible éviter la présence de gel libre.

Le modèle expérimental de base mis au point et validé dans ce travail pourra alors facilement être adapté pour étudier les effets des pathologies et optimiser les surfaces frottantes des implants articulaires. En revanche, il est limité à l'étude du frottement car il ne reproduit pas les « compensations » biologiques telle que la reconstruction du cartilage qui sont nécessaires à l'étude de l'usure.

Au cours de ce travail, nous avons étudié un seul type de lipide, non polaire, présent dans la synovie. Nous avons donc occulté les phénomènes électrostatiques liés aux lipides polaires également présents dans la synovie, et pouvant influencer les performances tribologiques. D'autres facteurs comme le pH, la température et la pression osmotique doivent être l'objet de travaux futur.

Enfin, ce travail utilise un mécanisme modèle simplifié dont la cinématique se limite à un mouvement de glissement tandis que le mécanisme articulaire réel impose des roulements et des glissements. Par conséquent les travaux futurs devraient aussi reproduire la cinématique réelle afin d'étudier l'effet des assemblages moléculaires de la synovie sur les régimes de lubrification de type hydrodynamique qui sont aussi associés au fonctionnement d'une articulation saine.



## Annexe 1

### Traitement des maladies osteo-articulaires - orientations actuelles

Le développement des traitements des maladies osteo-articulaires intéresse aussi bien le milieu médical que le milieu industriel, avec cependant des points de vue différents.

Au **plan médical**, l'optimisation des traitements consiste à minimiser la douleur et l'inflammation en préservant la fonction motrice de l'articulation. Les recherches sont orientées vers le développement de nouvelles substances aidant le système immunitaire à combattre la maladie en reconstruisant les structures et le fonctionnement sain. Ces substances restent peu efficaces dans des états avancés d'une maladie, notamment quand il y a une usure importante du cartilage. Pour ce cas, la recherche médicale développe des techniques de cultures cellulaires, par lesquelles est reconstruite la structure vivante du cartilage articulaire. Ces techniques utilisent des substrats polymériques et des cellules souches, qui sont contraintes à se développer dans un tissu cartilagineux. Mais, malgré leur avancement, ces techniques ne peuvent pas être utilisées à l'échelle d'une articulation complète. Il est en effet impossible de reproduire ex vivo à grande échelle la structure du cartilage articulaire : celle-ci est générée in vivo sous l'action de contraintes mécaniques, mal connues, et qui ne sont donc pas actuellement reproductibles ex-vivo dans des cultures cellulaires.

Au **plan industriel**, l'optimisation des traitements consiste à développer des produits qui, une fois implantés (ou injectés) dans l'articulation, durent le plus longtemps possible et génèrent un minimum de réactions immunologiques (biocompatibles). Pour le traitement des maladies articulaires on remarque deux types de produits : les implants articulaires et les substituts de synovie.

Les implants articulaires sont utilisés comme traitement chirurgical dans des maladies très avancées, lorsque la fonctionnalité articulaire ne peut pas être assurée par les structures vivantes qui sont trop détruites. Dans ce cas, l'articulation entière est remplacée par une articulation non vivante implantée à la place des structures vivantes (arthroplastie).

En ce qui concerne l'industrie des implants, elle constitue un enjeu économique important, car 80 000 prothèses de hanches et 30 000 prothèses de genoux sont implantées chaque années en France, ce qui représente un marché de 500 millions d'euros par année, le marché mondial étant environ vingt fois supérieur. De plus, environ 10% des patients opérés d'une arthroplastie dans le monde sont réopérés pour une révision dans les dix années suivantes.

La recherche vise à développer des implants ayant une durée de vie la plus grande possible. Dans ce sens, des études ex-vivo sont menées afin de quantifier la durée de vie des implants, la difficulté principale résidant dans la reproduction ex-vivo des conditions réelles de fonctionnement in-vivo. Cette difficulté est particulièrement accentuée pour les implants en matériaux polymériques (polyéthylène) et céramiques, pour lesquels on constate des durées de vie réelles très inférieures à celles estimées à partir essais ex-vivo.

En ce qui concerne les substituts de synovie, leur développement est plus récent et touche principalement l'industrie pharmaceutique. Pour développer ces substituts, les recherches visent reproduire la composition et les propriétés rhéologiques de la synovie saine. Mais la difficulté principale réside dans l'identification de la rhéologie de la synovie saine. En effet, les valeurs des paramètres rhéologiques de la synovie présentées dans la bibliographie sont très dispersées. Cela est imputable aux conditions d'essais, éloignées des condition in vivo, notamment en ce qui concerne les interfaces rhéologiques qui sont très différentes de l'interface synovie – cartilage.

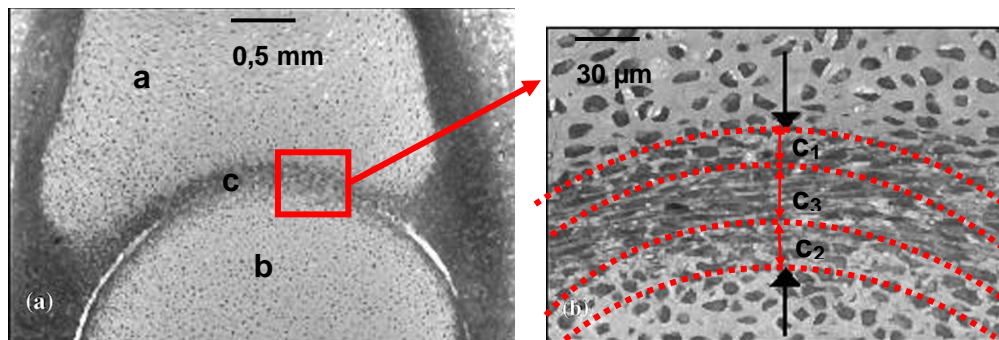
## Annexe 2

### Embryogenèse d'une articulation saine

L'embryogenèse articulaire comporte quatre phases :

#### 1. Formation d'un modèle cartilagineux.

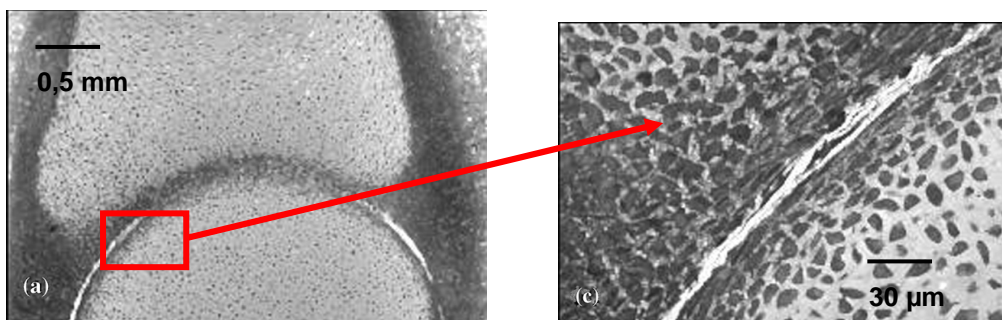
Dans leur phase initiale, les articulations sont des liaisons élastiques entre les extrémités osseuses, tissus mous de type cartilagineux, appelés « modèle cartilagineux des futurs os» (a est b dans la figure 1). La liaison élastique est connue sous le nom d'interzone (c dans la figure 1). Une interzone se compose de trois couches : deux *couches chondrogéniques* externes ( $c_1$  et  $c_2$  dans la figure 1) qui vont former les surfaces du cartilage articulaire et la membrane synoviale, et une *couche intermédiaire* ( $c_3$  dans la figure 1), qui contribue à la formation des structures intra articulaires telles que les ligaments et les ménisques.



**Fig. 1.** Modèle cartilagineux dans la période embryonnaire  
(a : modèle cartilagineux du tibia, b : modèle cartilagineux du fémur, c : interzone)

#### 2. Cavitation

La cavitation est le processus par lequel la liaison élastique qui forme l'articulation (l'interzone) est rompue, et le modèle cartilagineux des futurs os est divisé pour former deux surfaces articulaires distinctes (Figure 2). Cette rupture est induite par les mouvements embryonnaires, et la dépression générée après la rupture fait qu'une partie de la phase liquide du modèle cartilagineux vient remplir les cavités formées. Les cellules appartenant aux deux couches chondrogéniques ( $c_1$ ,  $c_2$ ) vont alors synthétiser du fluide jusqu'à équilibre des pressions entre la cavité articulaire et le modèle cartilagineux.



**Fig. 2.** Modèle cartilagineux dans la période embryonnaire (zone de cavitation)

### 3. Formation des ligaments et des ménisques

La couche médiane de l'interzone évolue en fonction des sollicitations mécaniques externes, qui génèrent des fissures délimitant les éléments intra articulaires. Ainsi sont formés les ménisques et les ligaments intra articulaires (Figure 3.). Si les mouvements embryonnaires sont trop faibles, les ménisques restent collés aux cartilages et la cavité articulaire ne se forme pas.

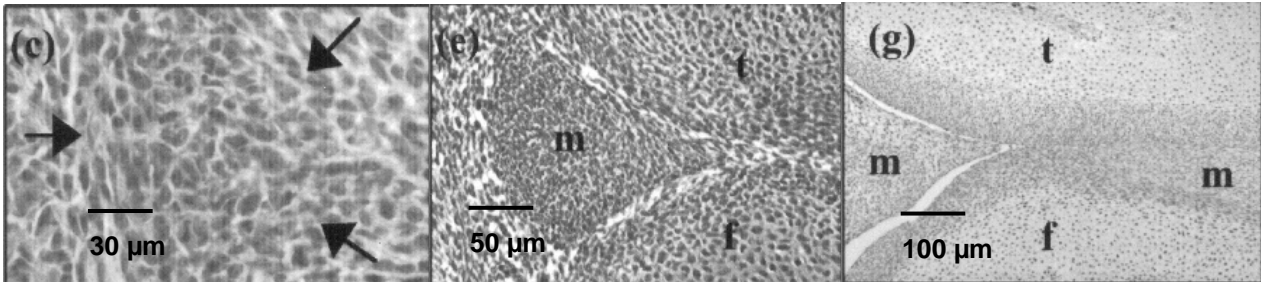


Fig. 3. Formation des ménisques

### 4. Formation de l'os

La transformation du tissu cartilagineux (modèle cartilagineux de l'os) en tissu osseux (rigidification) est générée par l'invasion des vaisseaux sanguins dans le modèle cartilagineux de l'os. Ceux-ci vont générer le processus de minéralisation (rigidification) du cartilage (appelé ossification endochondrale) (figure 4). La minéralisation progresse du centre vers la périphérie du modèle cartilagineux. Elle ne parvient pas jusqu'aux surfaces articulaires, elle est arrêtée au niveau de la zone d'équilibre entre la pression mécanique externe générée par le mouvement articulaire, et la pression dans les vaisseaux sanguins osseux. Cette zone marque l'interface os – cartilage. Elle évolue au cours de la vie en fonction des sollicitations externes de l'articulation, par des phases de minéralisation et de déminéralisation, appelées "remodelage osseux", qui définissent l'épaisseur du cartilage articulaire en contact. Les zones soumises à des fortes pressions de contact présentent une épaisseur de cartilage plus élevée que les zones moins chargées.

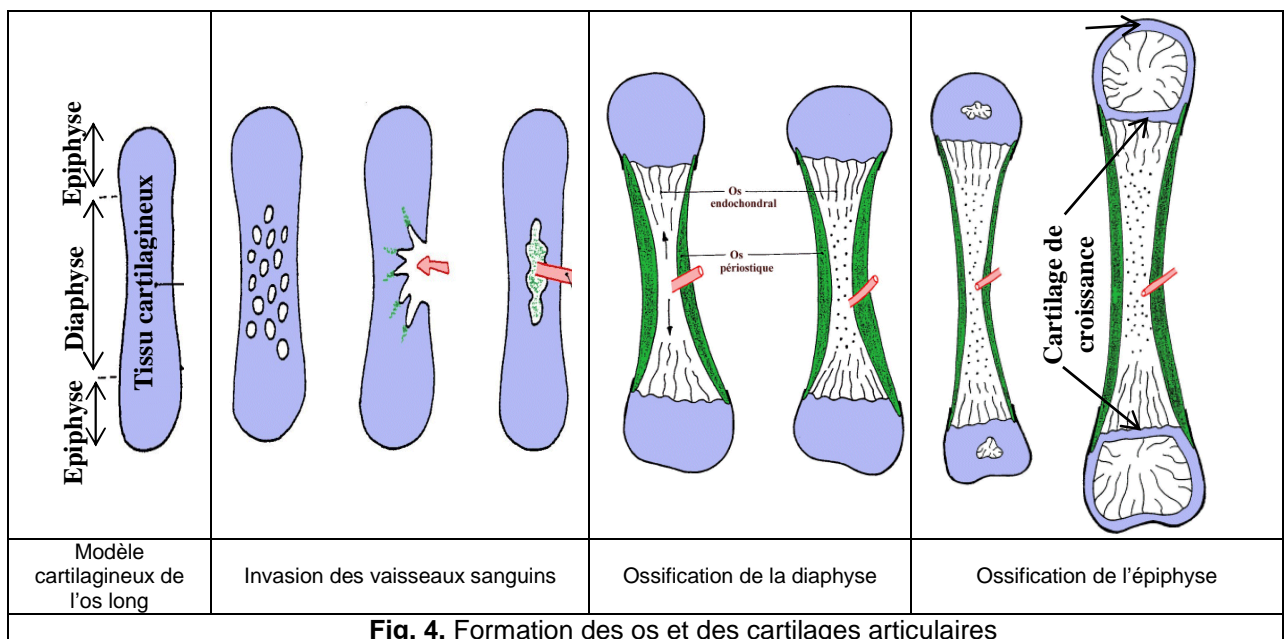


Fig. 4. Formation des os et des cartilages articulaires



## Annexe 3

### Etude *in vivo* du mécanisme articulaire du genou

Ce travail a été réalisé avec la collaboration avec le **Laboratoire de Biomécanique et Modélisation humaine** (LBMH, université Lyon 1) et le **service d'Arthroscanner de l'Hôpital Lyon Sud**.

L'objectif de ce travail est d'évaluer *in vivo* les conditions tribologiques macroscopiques (pressions de contact, vitesses relatives entre les cartilages articulaires) subies par une articulation du genou au cours de la marche. Dans ce domaine, la bibliographie n'apporte en effet que des informations souvent incomplètes, et manquant d'inter cohérence.

Pour obtenir ces conditions tribologiques, nous avons entrepris une étude englobant :

- la détermination de la cinématique du contact (vitesses tangentielles relatives),
- la mesure de la géométrie du contact (dimensions et courbures, conformité des corps en contact, aires de contact),
- la détermination de la dynamique du contact :
  - mesures quasi statiques de la déformée des cartilages articulaires et de la variation de l'aire de contact en fonction du chargement articulaire ;
  - calculs des efforts musculaires et de la réaction du contact, estimation de la pression,
- l'évaluation du rôle musculaire dans l'optimisation des conditions de contact (diminution de la pression de contact par un déplacement relatif des os).

Par la suite, on présente brièvement la stratégie de cette étude et les résultats retenus dans le cadre de ce travail. Plus de détails sont donnés dans le mémoire de master recherche de Simon Le Floc'h [156]

#### 1. Stratégie

Nous avons évalué les **conditions cinématiques locales**, lors de la marche d'une personne saine : à partir de données issues de la bibliographie (Kapandji [157]), et d'une base de données sur la marche construite au sein du LBMH, des simulations ont été effectuées en dynamique inverse [30] afin de calculer la « réaction de contact ».

Par imagerie médicale (arthroscanner), nous avons évalué les **conditions géométriques locales *in vivo*** (courbure des corps en contact, aires de contact) Ces essais ont également permis une analyse quasi-statique de la phase d'appui de la marche, dans le but final d'évaluer la **répartition de pression** en contact.

Deux patients bénévoles ont participé à nos essais quasi-statiques en arthroscanner. Au cours de ces essais, nous avons mesuré l'effort extérieur appliqué sur le pied de chaque patient. Nous avons également pu enregistrer l'activité électrique des muscles de l'un des deux patients à l'aide d'un dispositif électromyographique. Ces éléments ont permis de **calculer les efforts développés par les muscles** articulaires du genou, grâce à une évaluation *in vivo* des bras de levier des muscles et à l'utilisation d'un code de calcul développé au sein du LBMH (Travail de thèse en cours d'Alice Bonnefoy).

La mesure du déplacement relatif des os a permis d'étudier le rôle des muscles pour **l'optimisation des conditions tribologiques de contact**.

Une brève description anatomique du genou est présentée ci-dessous, ainsi qu'un résumé de résultats obtenus dans le cadre de ce travail.

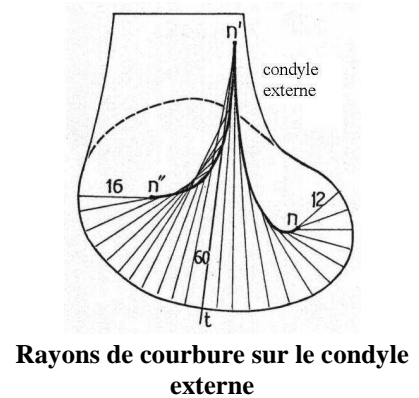
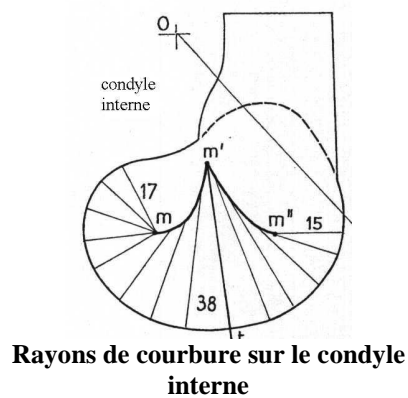
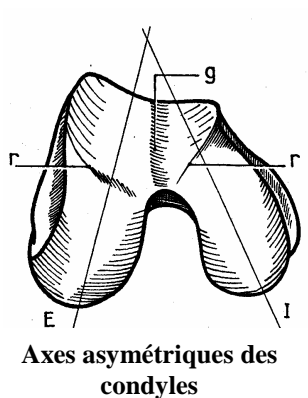
### 3. Anatomie du genou

L'articulation du genou est une diarthrose, c'est-à-dire une articulation mobile, qui comporte (fig. 5) :

- Deux segments osseux, présentant des surfaces articulaires. Dans le cas du genou, une des extrémités osseuses est représentée par les condyles fémoraux et l'autre extrémité par le plateau tibial;
- Deux cartilages articulaires recouvrant les surfaces osseuses (cartilage fémoral et cartilage tibial);
- La capsule articulaire, fibreuse;
- La membrane synoviale, qui tapisse intérieurement la capsule
- Des ligaments, reliant les deux segments osseux (pour le genou il y a 4 ligaments : deux ligaments croisés et deux ligaments latéraux).
- Des petites structures fibro-cartilagineuses, les ménisques, qui viennent s'insérer sur les surfaces articulaires pour assurer une meilleure conformité des surfaces. L'articulation du genou présente deux ménisques (l'un interne et l'autre externe) attachés au plateau tibial par des petits ligaments.
- Une poche graisseuse et des bourses séreuses, sortes de petits coussins hydrauliques constitués d'une enveloppe membranaire contenant un liquide similaire au liquide synovial.

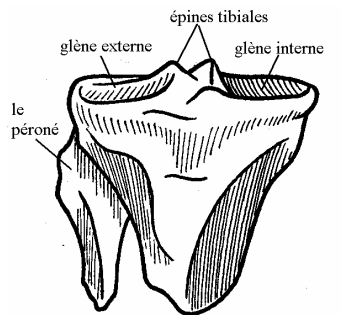
Enfin, les tendons des muscles qui s'insèrent à proximité d'une articulation entourent l'ensemble de ces structures. Le rôle principal des muscles est de mobiliser l'articulation, mais ils ont aussi une importance pour maintenir la cohésion de l'articulation (coaptation).

De nombreux travaux consacrés à l'anatomie par imagerie médicale ont permis de définir avec exactitude la géométrie des extrémités osseuses en contact. Ainsi, les deux condyles fémoraux forment des cycloïdes avec des rayons maximaux de 38mm pour le condyle interne et 60mm pour le condyle externe (fig. 6.).

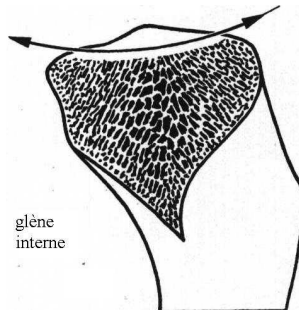


**Fig. 6. Géométrie des condyles fémoraux**

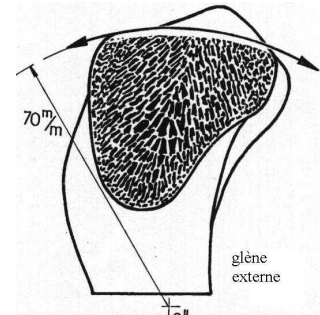
En ce qui concerne le plateau tibial, il présente deux cavités (glènes) correspondant aux deux contacts avec les condyles fémoraux. Les deux glènes ont des rayons d'environ 70mm. Elles se distinguent par leur courbure, la glène interne étant concave et la glène externe convexe (fig. 7). Cela génère un contact conforme pour le condyle interne et un contact non conforme pour le condyle externe.



Extrémité supérieure du tibia



Glène interne (concave)



Glène externe (convexe)

Fig. 7. Géométrie des glènes tibiales

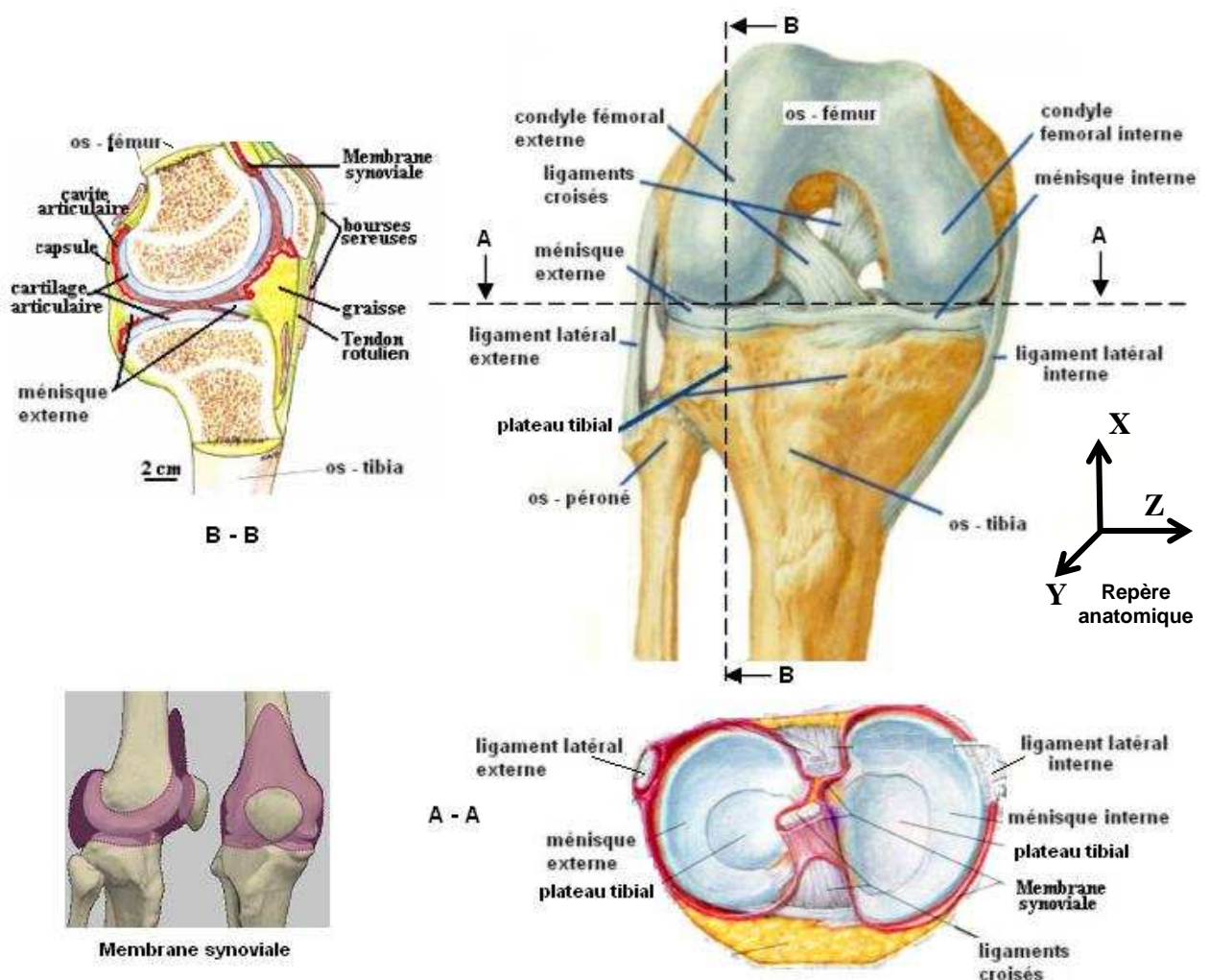


Fig. 5. Représentation anatomique de l'articulation du genou

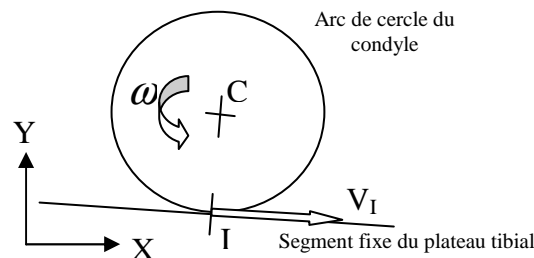
## 4. Cinématique du genou

### 4.1. Modèle de calcul des vitesses

Pour étudier la cinématique du genou, nous avons utilisé l'hypothèse classique de rattachement ferme des ménisques au plateau tibial. Ainsi, la cinématique simplifiée du genou, consiste en la composition de deux mouvements entre le condyle fémoral et la glène tibiale :

- du roulement, influencé par les courbures des corps en contact,
- du glissement correspondant à des translations relatives entre les deux extrémités osseuses.

Un modèle géométrique simple a été utilisé pour les condyles. Ils sont représentés chacun par un arc de cercle. Le plateau tibial est représenté par deux segments de droite (fig. 8). Ce modèle, de type cylindre sur plan, permet de quantifier rapidement les vitesses tangentielles entre les surfaces.



**Fig. 8.** Modèle géométrique de condyle pour le calcul des vitesses

Selon les conventions de signe utilisées (vitesses positives selon les X positifs), la vitesse relative au point de contact de la surface du cartilage d'un condyle du fémur par rapport à la surface du cartilage du tibia est donnée en prenant le tibia comme solide fixe de référence. La vitesse relative tangentielle au point de contact du fémur par rapport au tibia est la somme de la vitesse du fémur en ce point avec la vitesse du point géométrique de contact :

$$V_{\text{fémur/tibia}}(I) = V_I + \omega \cdot R$$

R est le rayon du condyle considéré,

$V_I$  la vitesse du point de contact I,

$\omega$  la vitesse angulaire.

Les valeurs de rayons de courbure retenues correspondent à 10° de flexion du genou, et sont issues de l'ouvrage de référence de Kapandji [157]: 55 mm pour le condyle externe et 35mm pour le condyle interne.

Le déplacement des points de contact en fonction de l'angle de flexion, est donné par Li et al. [158] pour le cas des genoux sains en flexion passive. La bibliographie démontre, malgré tout, que les déplacements des condyles sont modifiés suivant que le pied est chargé ou non.

Deux vitesses tangentielles sont calculées aux deux « points de contact ». Enfin, une idée de la réaction du contact articulaire du genou est donnée par les calculs de dynamique

inverse. Cet effort n'est qu'une estimation qualitative de l'effort de contact, permettant d'avoir une idée des conditions interactionnelles entre la cinématique et la pression de contact.

#### 4.2. Résultats :

Les résultats des essais sur la cinématique du genou sont présentés dans la figure 9.

Les vitesses relatives de roulement entre les surfaces au niveau du contact du condyle interne varient cycliquement de 0 mm/sec à **200 mm/s** au cours d'une marche effectuée à **5 km/h**. Pendant la phase d'appui, la vitesse relative change deux fois de signe et sa valeur maximale dans cette phase est de 80 mm / s pour le contact interne et de 130 mm / s pour le contact externe. Pendant la phase d'oscillation (faibles pressions de contact), les vitesses relatives sont plus importantes (interne : 200 mm / s ; externe : 300 mm / s) et changent également deux fois du signe.

Les vitesses de **glissement du contact vers l'arrière du plateau tibial** (25 mm / s au maximum) ne compensent pas les vitesses relatives induites par la rotation du fémur par rapport au tibia car les rayons de courbure des condyles sont assez importants. Le condyle externe, dont la surface de contact se déplace plus vers l'arrière que le condyle interne, a un rayon de courbure supérieur, ce qui augmente la vitesse relative tangentielle entre les surfaces en contact à 300 mm/s au maximum.

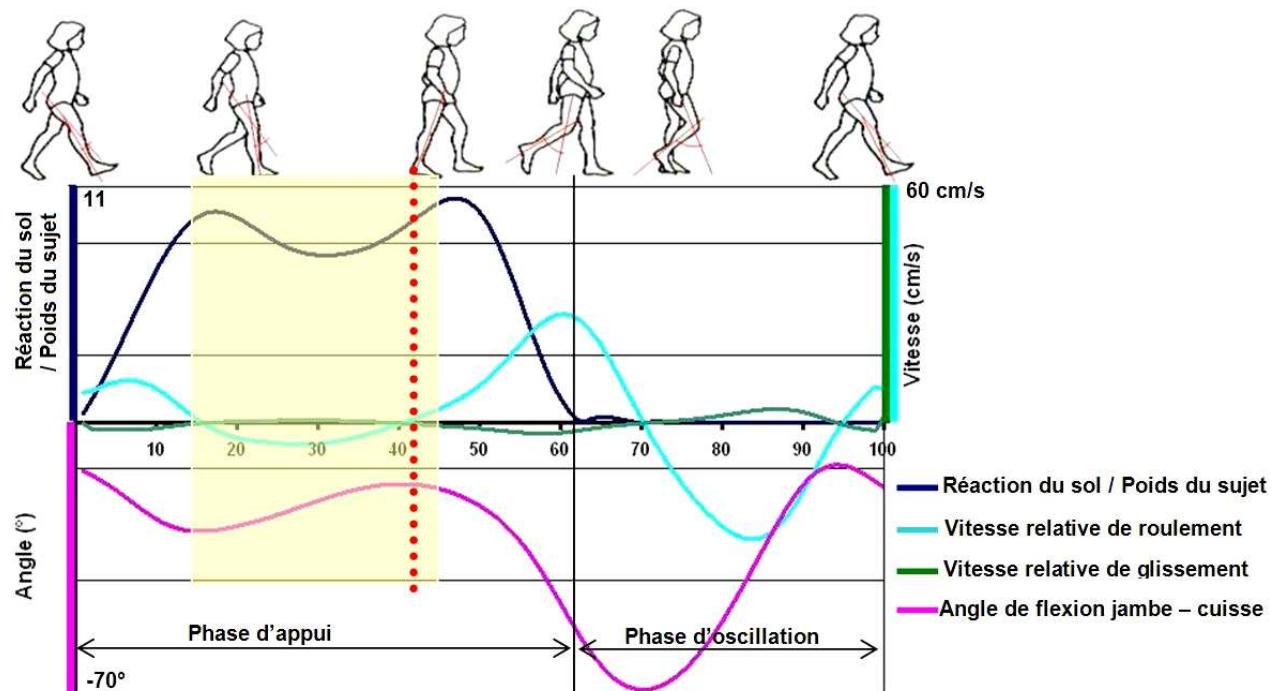


Fig. 9. Résultats des essais sur la cinématique du genou

Ces résultats sont **très sensibles aux rayons des condyles** retenus. Par contre, l'amplitude de la translation des points de contact vers l'arrière du plateau tibial (de 0° à 60° de flexion), n'influence pas significativement le calcul. Cette translation a une valeur maximale de 10 mm.

## 5. Dynamique du genou

### 5.1. Modèle de calcul des déformées des cartilages articulaires (fémur et tibia)

La stratégie consiste à évaluer la déformée in vivo du cartilage des deux condyles fémoraux en faisant une différence entre les épaisseurs de cartilage mesurées avant et après la compression de l'articulation.

Pour obtenir les épaisseurs de cartilage in vivo nous avons utilisé le scanner (rayons X) du CHU de Lyon Sud. La technique de scanner utilisée est nommée « **arthro scanner** ». Elle comporte l'injection intra articulaire d'un produit à base d'iode qui permet de faire ressortir sur des images radiologiques les parties cartilagineuses de l'articulation. Le volume scanné par les rayons X est de  $15 \times 23 \times 20 \text{ cm}^3$  et il permet d'avoir  $44 + 77 + 66$  coupes de genou dans les trois plans du repère anatomique.

Un montage a été réalisé pour comprimer le membre inférieur du sujet lors de la prise d'images par irradiation X.

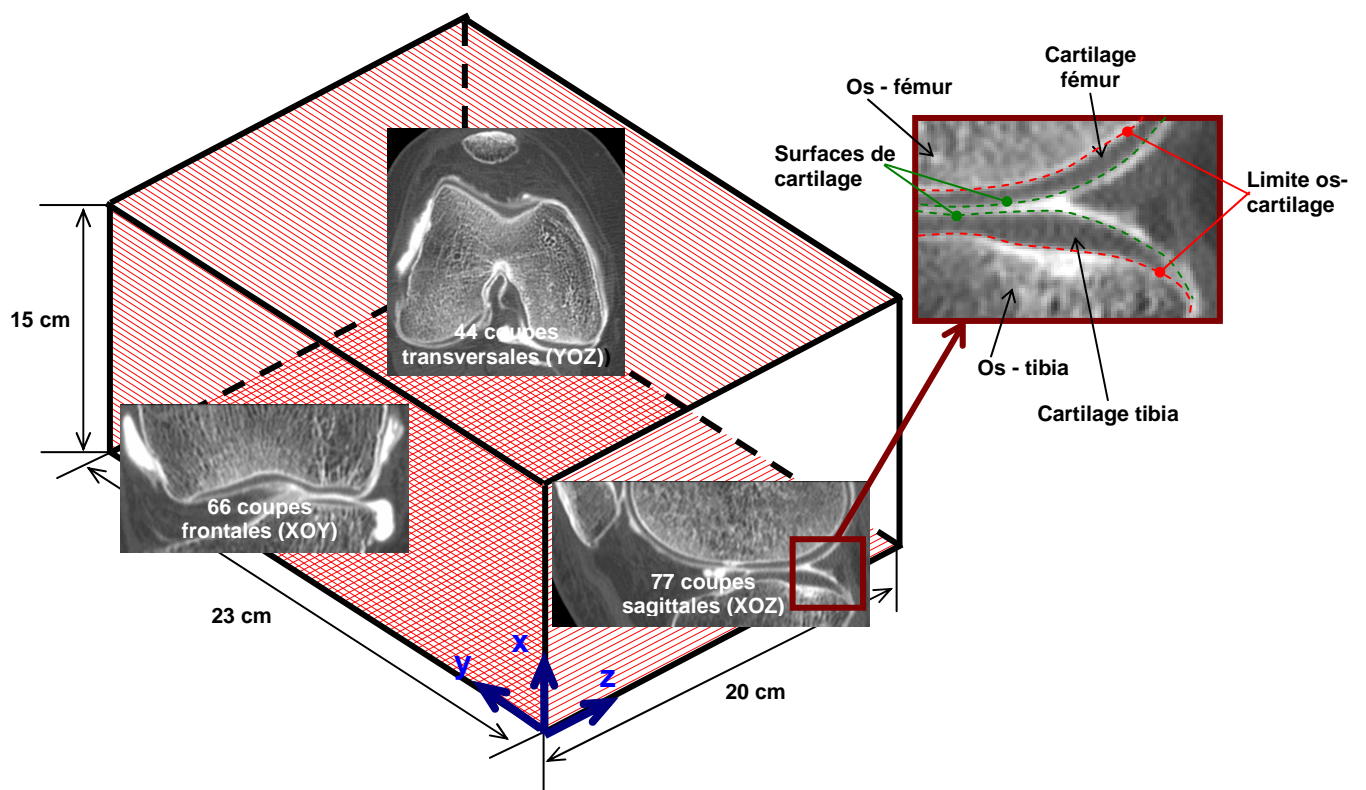


Fig. 10. Reconstitution du volume de cartilage en ArthroScanner



Le traitement des deux lots d'images (chargé / non-chargé) a consisté tout d'abord en une reconstitution des volumes du cartilage du fémur. Cette reconstruction a été réalisée en utilisant le logiciel AutoCAD (fig. 11), et a permis de repérer les zones de contact et mesurer les aires de contact extérieurement chargé ou non. Un recalage spatial, a été nécessaire pour superposer le volume du cartilage comprimé sur le volume du cartilage non comprimé, en faisant coïncider des points de repère définis sur l'os.

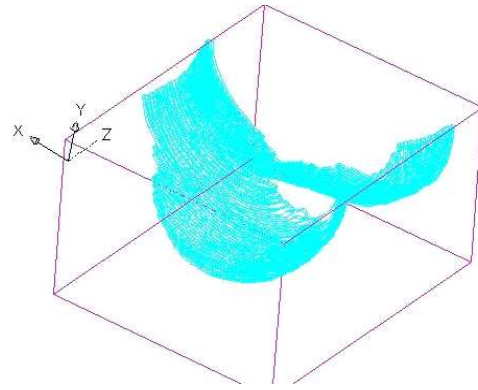


Fig. 11. **Volume du cartilage comprimé, AutoCAD**

Une **carte de la déformée du cartilage du fémur** a été ainsi réalisée.

Le calcul de l'effort de contact a été fait en adaptant le modèle de dynamique inverse à notre étude. Ainsi, dans le cadre de notre étude, les accélérations sont nulles (quasi statique), et le torseur au niveau du pied se limite à une force à deux composantes ( $F_{\text{impact}}$ ). Un capteur force permet de mesurer les deux composantes de cette force sur le pied (suivant X et Y). Le problème est donc plan, et ne permet que le mouvement de flexion – extension au niveau du genou. Les quatre groupes de muscles inter articulaires du genou les plus importants pour la flexion – extension sont inclus dans le modèle : le quadriceps, le biceps femoris, le semitendinosus et le gastrocnemius. Les bras de leviers articulaires sont mesurés in vivo grâce aux images d'arthroscanner. Ces données sont introduites dans le modèle de calcul en dynamique inverse qui évalue les efforts musculaires développés par le membre inférieur. (fig. 12)

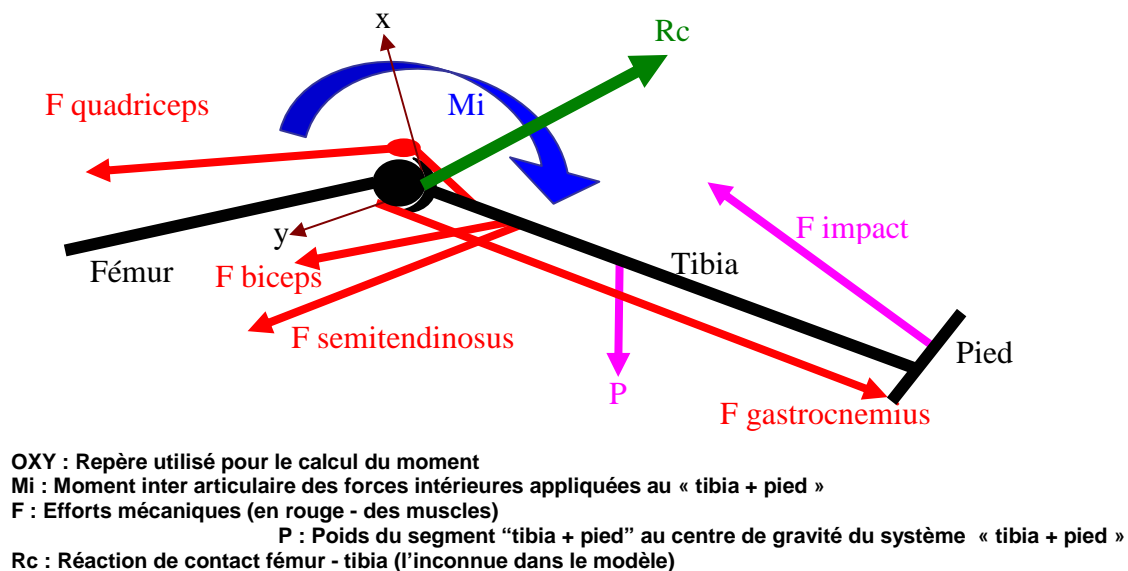


Fig. 12. **Modèle de dynamique inverse pour calculer les efforts musculaires et la réaction de contact**

Pour le calcul en dynamique inverse, deux critères physiologiques ont été retenus : on minimise la réaction de contact, ainsi que la norme quadratique des contraintes des muscles.

Pour vérifier de manière expérimentale si les muscles sont contractés ou non, un dispositif électromyographique a été utilisé. Par contre, ce dispositif permet seulement d'évaluer de manière qualitative la contracture musculaire.

Deux patients ont participé à notre étude :

- Une patiente de 29 ans, pesant 60 kg. Elle n'a plus de ménisques sur le genou droit, duquel est effectué le scanner. Le fait qu'elle n'ait plus de ménisques augmente les déformations. L'effort de compression a été de 300 N. Nous avons réalisé une carte de déformées du cartilage du fémur, une analyse d'aires de contact fémur - tibia (avant et après compression).
- Un patient de 36 ans qui pèse 62 kg. Il a une lésion au niveau des ménisques sur le genou gauche où est effectué le scanner, en revanche, les ménisques sont en très grande partie sains. L'effort de compression a été de 310 N. Pour cette étude, nous avons effectué un calcul d'effort de contact en prenant en compte l'action musculaire.

## 5.2. Résultats

Les efforts extérieurs au niveau du pied qui ont été considérés dans ce travail, avec des vitesses nulles entre les surfaces articulaires et un angle presque nul entre le fémur et le tibia correspondent à la fin de la phase d'appui de la marche (points rouges de la figure 9).

Dans ces conditions, la pression moyenne au niveau du contact articulaire du genou avec ménisques, a été évaluée entre  $10^5$  et  $10^6$  MPa. On a constaté que cette pression est augmentée de 50% s'il n'y a pas de ménisques.

De plus, cette étude nous a permis de montrer l'influence des muscles sur les conditions de contact articulaire, cela est schématisé dans la figure 10. Ainsi :

- Le rôle principal des muscles au niveau d'une articulation est de générer des couples internes permettant d'assurer le mouvement et/ou l'équilibre. Il a été montré que les efforts externes (poids propre de 40 N et effort de 330 N au bout du pied) appliqués au membre inférieur tendent à réduire la flexion au niveau du genou. Dans ce cas, les fléchisseurs développent un effort de l'ordre de 1200 N pour compenser les efforts externes. Grâce à un enregistrement des efforts musculaires au cours de la compression de la jambe (électromyogramme), il a été conclu que le quadriceps est également actif. L'activité musculaire du quadriceps n'est cependant pas nécessaire en terme de couple. Cette activité, qu'il nous est impossible de quantifier grâce au code de calcul utilisé pour évaluer l'activité musculaire des autres muscles, doit probablement permettre de « stabiliser » l'articulation. Ainsi, la valeur de 200 N indiquée figure 13 (en opposition à 0 N), pour l'action du quadriceps est totalement arbitraire. Plus l'effort du quadriceps est important, plus l'effort des fléchisseurs doit être important pour compenser le couple interne développé par le quadriceps. Ainsi,



si un effort de 200 N est considéré au niveau du quadriceps, l'effort développé par l'ensemble des muscles fléchisseurs est de 1500 N.

- Un rôle secondaire des muscles est de modifier les positions relatives du tibia par rapport au fémur, ce qui provoque une tension du ligament croisé postérieur et une compression de la partie antérieure des ménisques. Ce mouvement modifie la répartition de pression et donc les conditions du contact.

Dans le cadre de cette thèse, nous nous sommes placés dans les conditions de fonctionnement défavorables pour la lubrification articulaire par effets de type hydrodynamique, qui correspondent à la phase située entre 15% et 45% du cycle de marche (rectangle jaune de la figure 9). Dans cette phase, on peut considérer que les pressions de contact atteignent entre  $10^5$  et  $10^6$  MPa, avec des vitesses relatives variant de 0 à 5 cm/s.

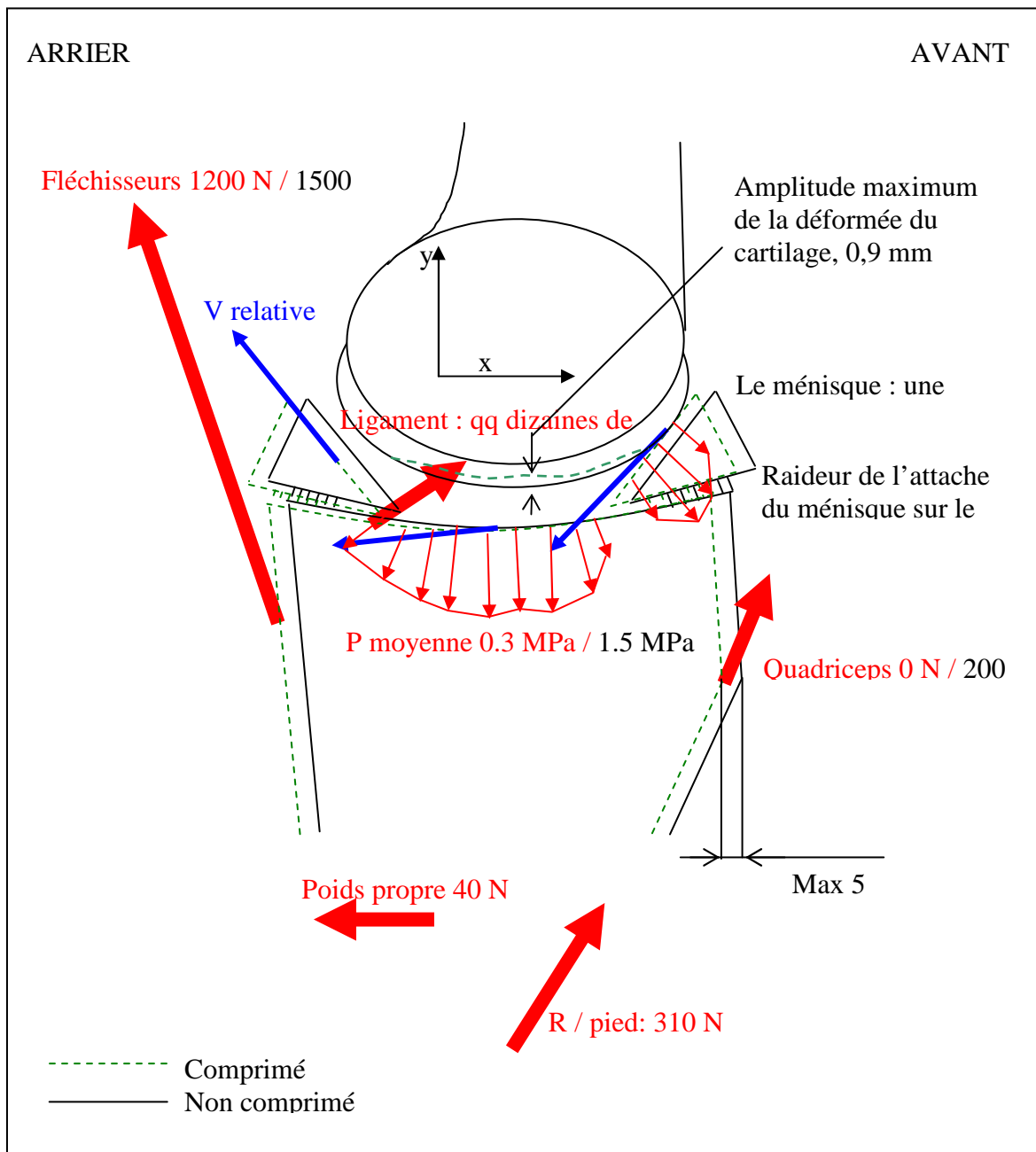


Fig. 13. Schéma d'ensemble du rôle du mécanisme dans les conditions du contact articulaire du genou (Avec ménisques / sans ménisque)

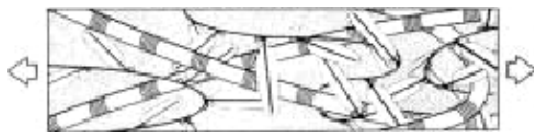
## Annexe 4

### Propriétés du cartilage articulaire

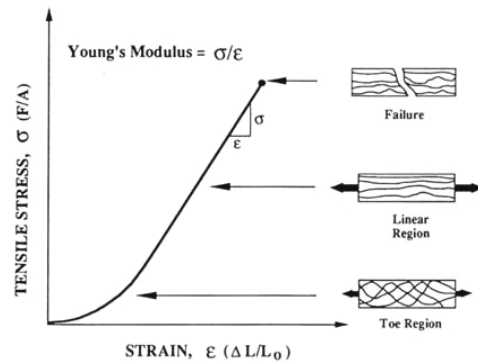
#### 1. Propriétés mécaniques du cartilage

##### 1.1. Résistance en traction

Les essais de traction, présentés dans la bibliographie, montrent que la résistance en traction du cartilage articulaire est liée à la présence des fibres de collagène (fig. 14). Ainsi, les courbes effort / déformation (fig. 15) présentent un pied initial correspondant à la réorientation des fibres de collagène selon l'axe de traction, ensuite les fibres se déforment en régime élastique linéaire jusqu'à la rupture [82].



**Fig. 14.** Comportement en traction de la matrice cartilagineuse.



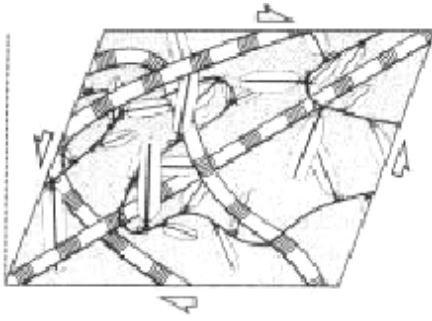
**Fig. 15.** Relation entre la contrainte et la déformation au cours de la traction uni axiale.

La structure fibrillaire du cartilage varie en fonction de la profondeur de prélèvement de l'échantillon. En conséquence, sa résistance en traction diminue avec la profondeur de la couche cartilagineuse testée. Partant de ces résultats, plusieurs auteurs considèrent le cartilage articulaire comme un matériau multicouches élastique, ayant un module d'Young variant de 5 MPa (pour les couches situées en profondeur) à 30 MPa (pour les couches situées en surface).

##### 1.2. Résistance en cisaillement

Des expériences de torsion harmonique faites sur des morceaux cylindriques de cartilage articulaire montrent un comportement viscoélastique. Elles donnent, en fonction de la profondeur de la couche testée, un module de cisaillement global entre 0.3 et 3 MPa et un angle de déphasage entre la composante élastique et la composante visqueuse de 9° à 20°.

Ces expérimentations ont mis en évidence que, lorsque le cartilage est déformé en cisaillement, il n'y a pas d'exsudation de la phase fluide (Fig. 16.). La comparaison de ce résultat avec les propriétés d'une solution de protéoglycanes en concentration équivalente à celle connue dans la matrice extracellulaire démontre que les protéoglycanes ne jouent pas un rôle central dans la résistance du cartilage au cisaillement.

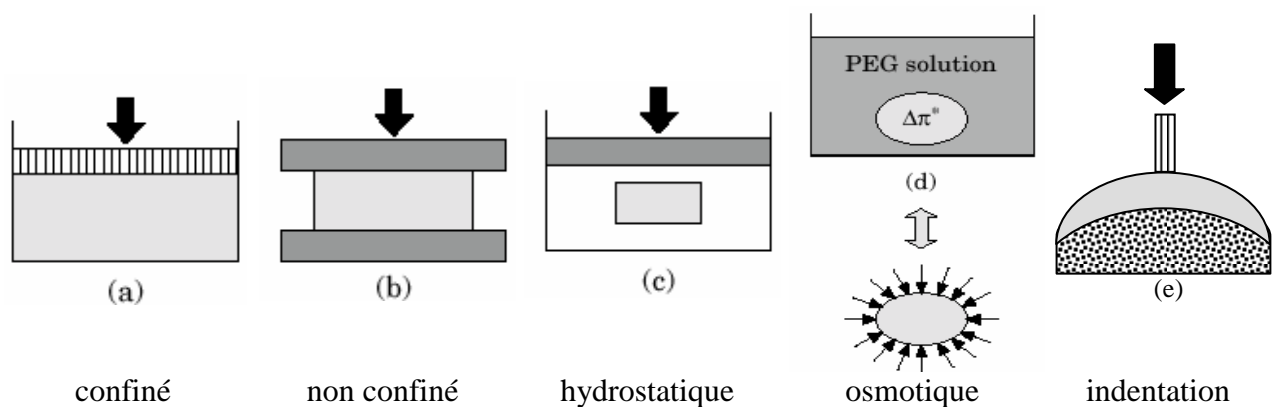


**Fig. 16.** Déformation de la matrice extracellulaire en cisaillement. Le volume étant constant, la phase fluide n'est pas déplacée

### 1.3. Résistance en compression

La bibliographie relate cinq types d'essais de compression ex-vivo sur le cartilage (fig 17) :

- compression confinée : le cartilage ne se déforme pas librement, il est confiné dans un volume qui laisse uniquement filtrer la phase fluide par l'intermédiaire d'une plaque poreuse (fig 17a)
- compression non confinée : le cartilage peut se déformer librement, et la phase fluide peut s'exsuder librement du volume du cartilage (fig 17b)
- compression hydrostatique : le cartilage articulaire est immergé dans un fluide par l'intermédiaire duquel est appliquée une pression hydrostatique (fig 17c)
- compression chimique – osmotique : le cartilage est immergé dans une solution macromoléculaire très concentrée (souvent PEG) qui génère une compression par effet osmotique (fig 17d)
- compression par indentation : la charge est appliquée à un petit secteur du cartilage par l'intermédiaire d'un milieu poreux. L'avantage de ce type de compression est qu'il n'est pas nécessaire de séparer le cartilage de l'os. (fig. 17e).

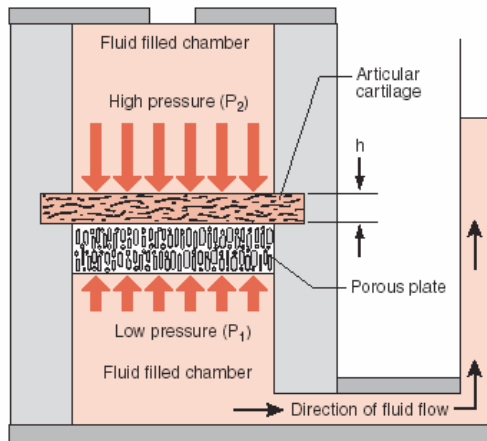


**Fig. 17.** Différent types d'essais de compression pour le cartilage articulaire

La méthode expérimentale la plus utilisée, et qui constitue la référence, est la méthode de compression confinée. Un échantillon de cartilage cylindrique est soutenu par une plaque poreuse dans une chambre remplie de fluide (fig. 18). Un différentiel de pression est appliqué entre les extrémités de l'échantillon.

La bibliographie présente deux façons de conduire cet essai :

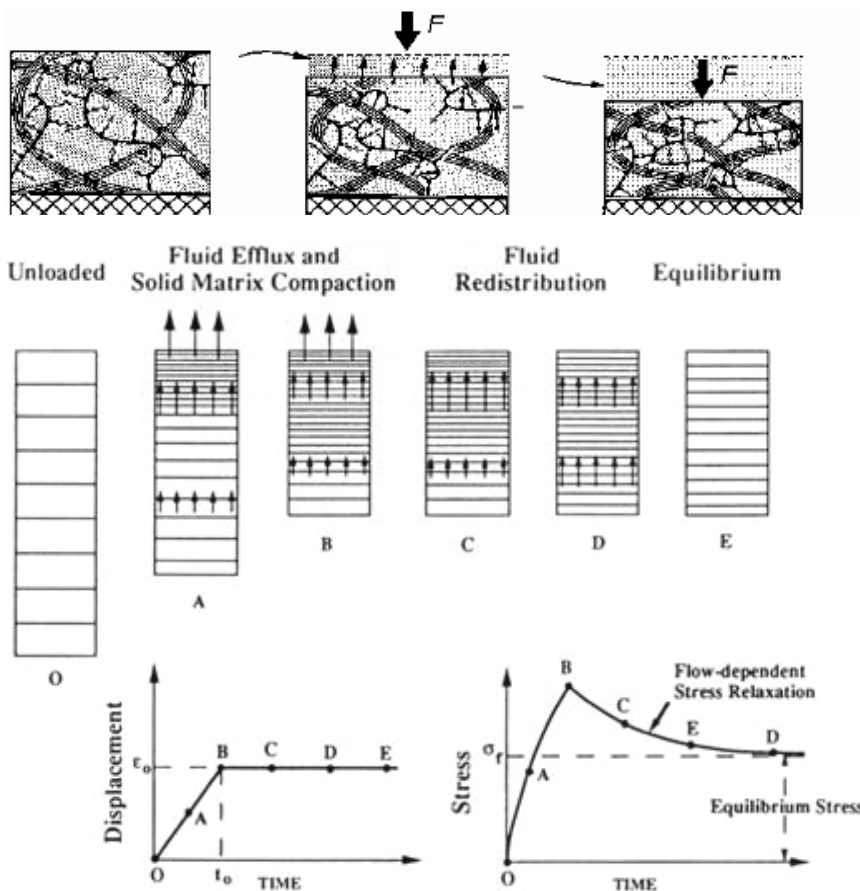
- En *mode fluage*, une charge constante est appliquée au cartilage par la plaque poreuse, et la variation d'épaisseur du tissu est mesurée en fonction du temps.
- En *mode relaxation*, une déformation est imposée au tissu, l'effort nécessaire pour maintenir cette déformation est mesuré.



**Fig. 18** Représentation schématique d'un dispositif de compression confinée mesurant la perméabilité du cartilage.

Ces expérimentations ont permis de mettre en évidence deux phases cartilagineuses, l'une solide et l'autre fluide, qui confèrent au cartilage articulaire un comportement en compression, similaire à celui d'un milieu poreux. La structure poreuse permet à la phase fluide de traverser le cartilage, avec une vitesse proportionnelle au gradient de pression (la constante de proportionnalité étant la perméabilité du cartilage).

La figure 19 montre les résultats d'un essai de compression, en mode fluage. On remarque que la *déformée* du cartilage est fonction du temps, car le fluide ne peut s'échapper instantanément de la matrice. Au début de l'essai, la déformation est rapide et linéaire, avec un débit de fuite relativement grand du fluide hors du cartilage. Puis le débit de fluide diminue, et la déformée atteint une valeur d'équilibre, pour laquelle le flux externe est nul ( $t_0$ ).



**Fig. 19.** Comportement compressif du cartilage au cours d'une expérience de fluage.

A : phase de compression linéaire dans le temps,  
 B : début de la phase de déformation constante,  
 C, D et E : phase de relaxation

La contrainte dans le cartilage articulaire soumis au fluage présente deux phases :

- une phase de compression où la contrainte augmente jusqu'à son maximum correspondant au moment où la déformée devient constante (point B),
- puis une phase de relaxation où la contrainte diminue de manière asymptotique vers une valeur d'équilibre, non nulle.

La phase de compression coïncide avec l'exsudation du fluide à la surface de l'échantillon, alors que la relaxation correspond à une redistribution du fluide dans la profondeur de l'échantillon. La valeur élevée de la contrainte au début de la phase de relaxation (le point B de la fig 19) est expliquée par l'accumulation de contraintes dans la phase fluide qui n'a pas eu du temps d'exsuder.

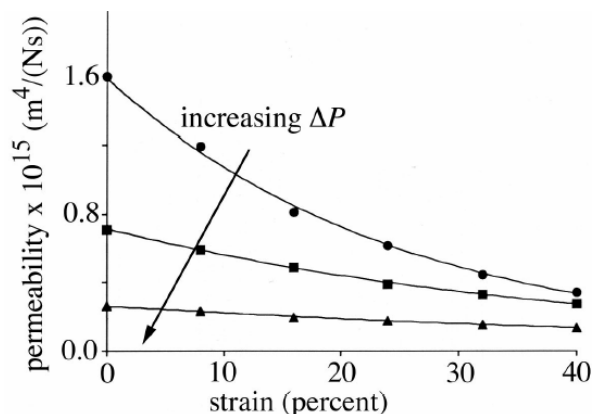
Si le tissu est immergé dans un bain de fluide physiologique (0.9% NaCl), on observe un retour à déformation nulle lorsqu'on supprime la contrainte compressive, ce qui n'est pas le cas lorsque l'échantillon n'est pas hydraté.

Ces essais permettent de déterminer deux propriétés globales du cartilage articulaire: la perméabilité et le module de compression.

La **perméabilité** représente la résistance rencontrée par le fluide pour traverser la matrice de cartilage. Elle peut être calculé par la loi de Darcy:  $Q = \frac{kA\Delta P}{h}$  où :

- Q est le débit volumétrique de fluide
- k est la perméabilité
- A est l'aire d'échantillon du cartilage
- $\Delta P$  est l'écart de pression
- h est l'épaisseur du cartilage

Typiquement, pour une différence de pression de 2 MPa appliquée à travers une tranche de cartilage de 1 mm d'épaisseur la perméabilité du cartilage est dans la gamme de  $10^{-16}$  à  $10^{-15}$  m<sup>4</sup>/N.s. La perméabilité varie en fonction de la profondeur du cartilage articulaire où a été prélevé l'échantillon. Elle est plus grande près de la surface articulaire, et plus petite dans la zone profonde [1,34,52]. La perméabilité diminue avec l'augmentation de la différence de pression appliquée d'un coté et d'autre de l'échantillon du cartilage testé. (Fig. 20).



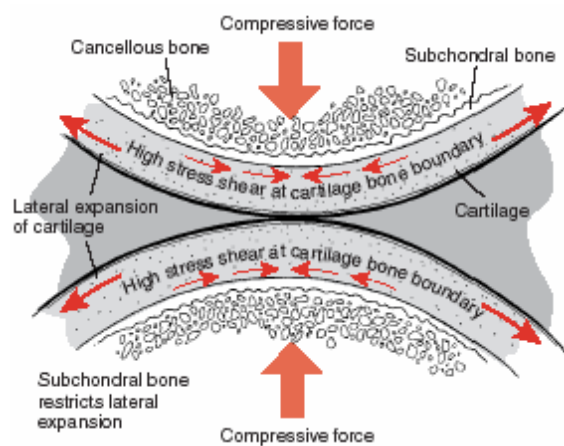
**Fig. 20.** Variation de la perméabilité du cartilage en fonction de la profondeur du prélèvement du cartilage articulaire et de la différence de pression appliquée.

Le **module d'élasticité en compression** est obtenu en divisant la contrainte à l'équilibre par la déformation à l'équilibre (point E sur la figure 19). Le module ainsi calculé présente des valeurs comprises entre 0,5 et 0,9 MPa [1].

#### 1.4. Résistance à la fissuration

Des essais expérimentaux ont étudié la fissuration produite sur la surface articulaire cartilagineuse par la chute de billes de trois tailles différentes : 2, 4, et 8 mm de diamètre [159], et montré que la formation de fissures pouvait être corrélée à la contrainte de cisaillement.

D'autres essais étudient plutôt la fissuration à l'interface cartilage/os. En effet, sous les charges normales d'impact, le cartilage montre un déplacement latéral relativement grand dû à son coefficient de Poisson élevé. Cette expansion est retenue par l'os sousjacent, beaucoup plus raide, causant un effort de cisaillement élevé à l'interface os/cartilage. (fig.21). Dans ces conditions, les fissures se développent à la frontière cartilage/os.



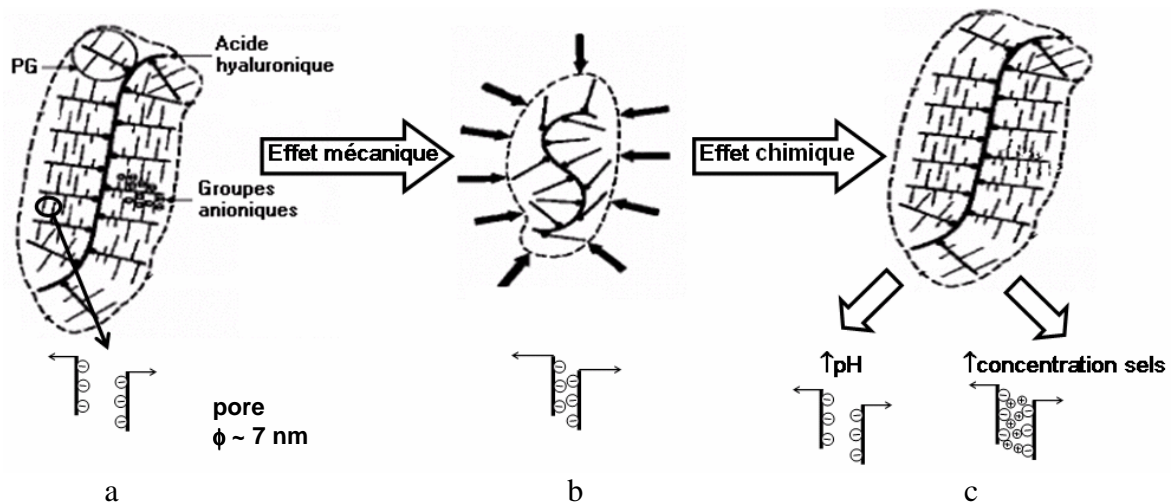
**Fig. 21.** Développement d'un effort de cisaillement élevé à la frontière cartilage/os

## 2. Propriétés physico-chimiques

Les propriétés physico-chimiques du cartilage sont liées à la présence d'assemblages glucidiques (assemblages PG), qui, en environnement aqueux sont poly-anioniques : les macromolécules PG sont chargées négativement par les groupes ioniques carboxyliques et sulfates.

La présence de ces groupes négatifs génère des forces de répulsion entre les chaînes moléculaires des PG. Les chaînes moléculaires PG s'écartent alors, créant des porosités de l'ordre de quelques nanomètres de diamètre (fig. 22a), et attirant à l'intérieur du cartilage les ions positifs comme le calcium et le sodium (effet osmotique). Les fibres rigides du réseau de collagène jouent alors un rôle limitant l'extension naturelle des protéoglycanes.

Sous l'effet d'un chargement mécanique, les porosités permettent la circulation d'eau et d'ions à l'intérieur et à l'extérieur du cartilage articulaire. L'effet physico-chimique actionné par des forces électrostatiques s'oppose à la diminution de diamètre des pores due à la déformation mécanique (fig 22b), et tend à ramener l'eau et les ions positifs à l'intérieur du cartilage après le déchargement (fig 22c).



**Fig. 22.** Couplage entre l'effet mécanique et physico-chimique des assemblages de PG

Cet effet physico-chimique est indispensable à la vie du cartilage ; il assure le transport des nutriments dissous dans l'eau. Il est caractérisé par deux paramètres : la pression osmotique ( $\pi$ ) et le potentiel électrocinétique ( $\psi$ ).

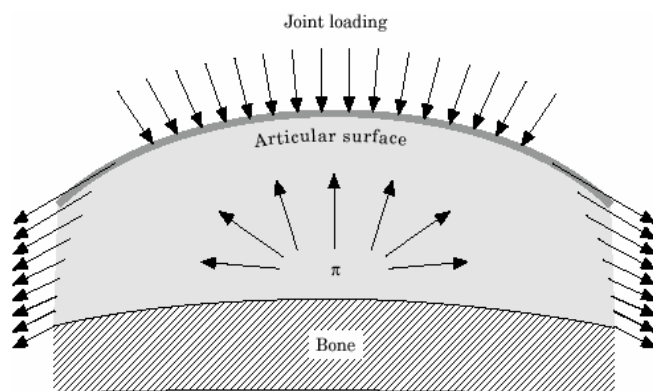
### 2.1. Pression osmotique

La pression osmotique est définie comme la différence de pression s'exerçant sur les deux faces d'une membrane perméable ou semi-perméable lors des phénomènes d'osmose<sup>8</sup>.

Dans le cas d'un milieu poreux comme le cartilage articulaire (fig 23), la pression osmotique est donnée par la loi de van't Hoff ::  $\pi = k.n.c.T.R$  où :

- k est la perméabilité du cartilage,
- n le nombre des particules dissociables par molécule du soluté,
- c est la concentration molaire
- T est la température absolue et R la constante de gaz molaire (0.0821 J/mmol.K)

La valeur de la pression osmotique ainsi calculée est comprise entre 0.1 et 0.2 MPa.



**Fig. 23.** Pression osmotique du cartilage [52]

<sup>8</sup> **Osmose** - terme issu du grec ôsmos : action de pousser. L'osmose est la diffusion d'un solvant à travers une membrane semi-perméable qui sépare 2 solutions de concentrations différentes. C'est l'osmose qui crée progressivement l'égalité de concentration des deux côtés de la membrane semi-perméable.



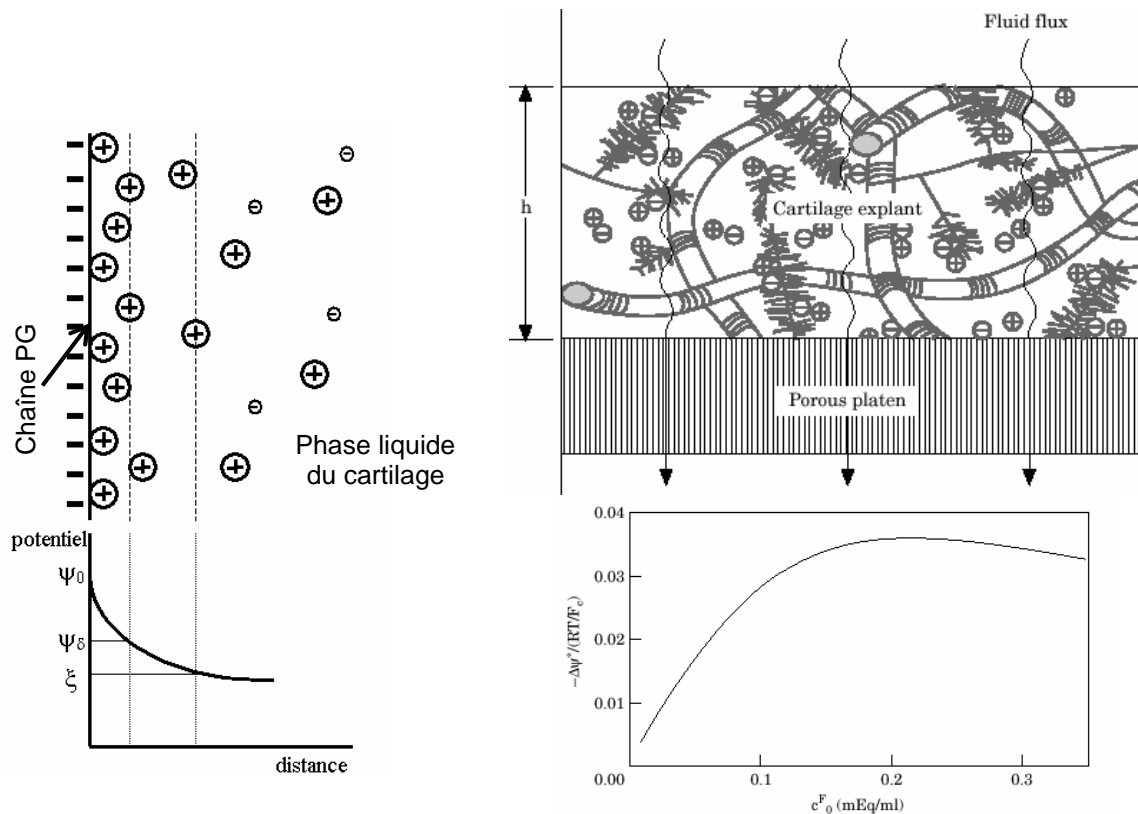
## 2.2. Potentiel électrocinétique

L'origine du potentiel électrocinétique se situe à l'échelle moléculaire. Les charges électro-négatives des chaînes PG créent une différence de potentiel électrique entre la phase fluide du cartilage, qui est neutre, et la phase solide qui est très électro-négative (fig 24). Cette différence de potentiel génère une migration des ions positifs ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{Ca}^{++}$ ) de la phase fluide vers la chaîne PG. L'épaisseur de cette accumulation d'ions positifs à coté des chaînes macromoléculaires est de l'ordre de quelques longueurs de Debye, la longueur de Debye ( $\lambda_D$ ) pouvant être calculée à l'aide de formule :

$$\lambda_D = \sqrt{\frac{\epsilon_0 \epsilon_r k_B T}{\sum_i z_i^2 e^2 \rho_i(\infty)}} \quad \text{où :}$$

- $\epsilon_0$  et  $\epsilon_r$  sont respectivement la permittivité du vide et la permittivité relative de la phase liquide du cartilage
- $z_i$  et  $\rho_i(\infty)$  sont respectivement la valence des ions  $i$  ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{Ca}^{++}$  ...) et leur concentration dans le volume de la phase liquide, loin de la chaîne PG.

Pour le cartilage articulaire, cette épaisseur est représentative du diamètre des pores, qui est de quelques nanomètres.



**Fig. 24.** Potentiel électrocinétique à l'échelle moléculaire

**Fig. 25.** Potentiel électrocinétique à l'échelle macroscopique [1]

A l'échelle macroscopique (fig. 25) le potentiel électrocinétique moléculaire génère une différence de potentiel électrique entre les deux faces d'un morceau de cartilage soumis à une différence de pression. En effet la différence de pression génère une migration de la phase

fluide qui entraîne un flux de charges électriques perturbant l'équilibre du potentiel à l'échelle moléculaire. Ainsi la bibliographie montre une différence de potentiel d'environ 0,03V pour une différence de pression de 0.05 MPa.

Les phénomènes physico-chimiques rendent le cartilage articulaire peu perméable. Des expérimentations ont montré une perméabilité à l'eau de  $10^{-16} \text{ m}^4/\text{N.s}$  à  $10^{-15} \text{ m}^4/\text{N.s}$  pour une pression mécanique de 2 MPa [1], par rapport à  $10^{-10} - 10^{-12} \text{ m}^4/\text{N.s}$  pour un matériau de même porosité et élasticité comme le cartilage mais qui ne présente pas d'effet chimiques.

### 3. Propriétés biologiques du cartilage

#### 3.1. Mécanisme de compensation de l'usure

Au cours de la vie, le cartilage articulaire sain perd de l'épaisseur mais il garde sa structure fibrillaire. Cela est possible grâce à son métabolisme très actif qui reconstruit la structure fibrillaire endommagée.

Dans la figure 26 est schématisé le métabolisme des fibres de collagène.

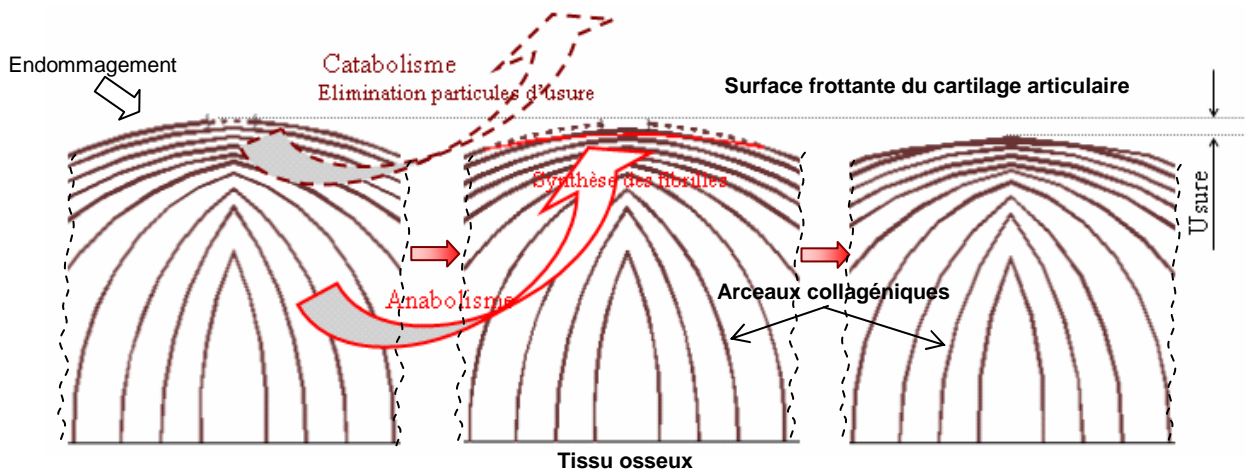


Fig. 26. Métabolisme des fibres de collagène

La figure 26 montre que l'endommagement de la surface du cartilage articulaire détruit l'intégrité de l'arceau collagénique qui se trouve sur cette surface. Si cette destruction n'est pas stoppée (cas du cartilage arthrosique), cet endommagement se propage rapidement dans la profondeur du cartilage (fig. 27). Mais, dans le cartilage sain, les cellules cartilagineuses synthétisent des nouvelles fibrilles de collagène (fig 26b) qui sont dirigées par des effets physico-chimiques de diffusion vers la région endommagée où elles vont reconstruire la structure d'arceau fibrillaire du collagène périmé (fig. 26c).

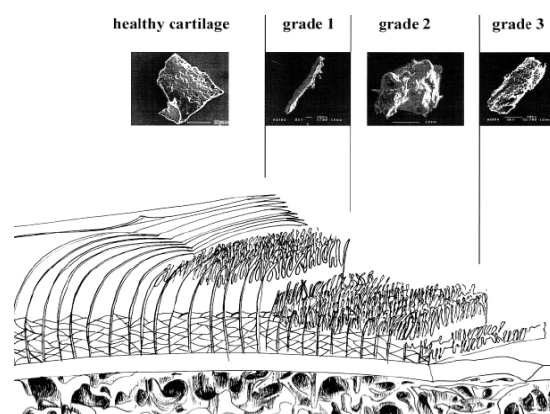


Fig. 27. Destruction de l'intégrité des arceaux collagéniques dans le cas d'une articulation arthrosique

### **3.2. Mécanisme de remodelage osseux**

La pression mécanique transmise par les mouvements articulaires dans la zone de contact os -cartilage règle les processus du remodelage osseux, qui modifie les propriétés du cartilage articulaire. Ce processus est caractérisé par un équilibre entre la formation du tissu osseux (ostéogenèse = ossification du cartilage) et la destruction du tissu osseux (ostéolyse). Ce processus est actif toute la vie mais son développement commence dans la période embryonnaire quand le tissu cartilagineux (le modèle d'os embryonnaire) est transformé en tissu osseux. Cette transformation est liée à l'invasion des capillaires sanguins dans le tissu cartilagineux (processus d'ossification). L'ossification est stoppée au niveau articulaire dans la zone d'équilibre entre la pression mécanique due aux mouvements articulaires, et la pression de perfusion des capillaires sanguins. Cette zone d'équilibre des pressions marque la zone de contact entre l'os et le cartilage articulaire, et devient la zone de remodelage osseux. Elle est spécifique pour chaque individu et évolue au cours de la vie en fonction de l'intensité de l'effort mécanique transmis dans l'articulation (condition physique de chaque individu). Ainsi, le manque de mouvement diminue l'épaisseur du cartilage articulaire en favorisant le processus d'ostéogenèse qui augmente la raideur du cartilage articulaire et le transforme petit à petit en tissu osseux. Par contre les efforts physiques soutenus augmentent l'épaisseur du cartilage en stimulant la synthèse des PG et en diminuant la raideur du cartilage articulaire.

## Annexe 5

### Propriétés des interfaces lipidiques

Les propriétés des interfaces lipidiques peuvent être séparées en deux catégories: les propriétés intrinsèques d'une bicouche phospholipidique et les propriétés d'interaction entre deux bicouches.

#### 1. Propriétés intrinsèques d'une bicouche phospholipidique

##### 1.1. Cinétique lipidique à l'intérieur d'une bicouche

Les lipides tournent autour de leur axe, perpendiculairement au plan de la membrane (fig 30A). Les chaînes hydrocarbonées sont flexibles et animées d'un mouvement de balancier plus ou moins prononcé; ces mouvements confèrent à la membrane une certaine fluidité et un mouvement de *diffusion latérale* (fig 30B); cette diffusion est relativement lente (Kornberg, McConnell, 1971a ; Devaux, McConnell, 1972 ; Gaede, Gawrisch, 2003).

Les lipides sont aussi capables de passer d'une monocouche à l'autre. Il s'agit d'une *diffusion transversale* également appelée "flip-flop" (fig 30). Un lipide diffuse d'une monocouche à l'autre ; la diffusion transversale d'un lipide implique le passage de sa partie polaire à travers la membrane d'une interface à l'autre (Kornberg, McConnell, 1971b ; Kirby, Green, 1977 ; Middelkoop *et al.*, 1986). Le "flip-flop" est un processus peu fréquent; on estime qu'il faut plusieurs jours pour qu'un flip-flop se produise (Rothman, Dawidowicz, 1975). Cette diffusion peut être facilitée par des protéines membranaires intégrales, la partie polaire du lipide évitant le contact avec la partie hydrophobe de la membrane (Barsukov *et al.*, 1982).

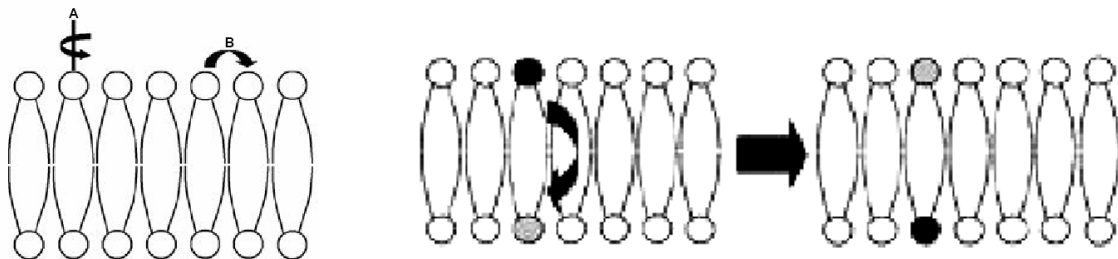


Fig. 30. Cinétique des lipides à l'intérieur d'une bicouche []

##### 1.2. Transition de phase

Certains phospholipides tels le DPPC peuvent exister en trois phases différentes dans les membranes (fig. 31) :

- phase fluide ou liquide expansé ( $L_{\alpha}$ ) – les molécules lipidiques ne subissent aucune contrainte, elles sont libres d'occuper la surface maximale possible, les chaînes hydrophobes sont bien écartées, la bicouche est perméable pour les molécules d'eau

- phase de gel ou liquide comprimé ( $P_{\beta'}$ ) – les lipides sont plus serrés entre eux, les queues lipidiques sont moins écartées, ils peuvent néanmoins se décaler verticalement les uns par rapport aux autres, voire créer une organisation selon cette direction (phase « ripple », fig. 31)
- phase de gel ou de cristal liquide ( $L_{\beta'}$ ) - les lipides sont très serrés, les queues lipidiques sont parallèles entre elles, inclinées ou non.

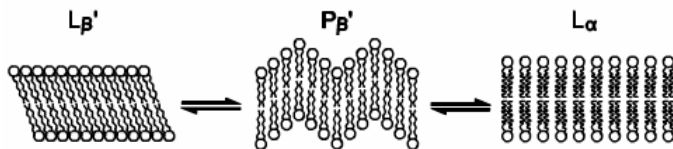


Fig. 31. Transition de phase d'une couche lipidique

La transition entre ces trois phases est facile, elle peut être induite par effet :

- thermique – l'augmentation de la température favorise la phase fluide. Les bicouches de phospholipides biologiques (famille du DPPC) subissent une transition de phase autour d'une température qui varie entre 35 et 45°C.
- chimique – l'augmentation de la différence de pression osmotique d'un côté et de l'autre de la couche lipidique favorise la phase cristalline. Cette transition augmente la perméabilité de molécules d'eau au travers de la bicouche lipidique. Ceci est utilisé dans la fabrication des liposomes pharmaceutiques (bicouches lipidiques sphériques remplies des substances actives). Ainsi, si les liposomes sont plongés dans des solutions avec une pression osmotiques très faible (milieux inflammatoires), la bicouche lipidique qui forme le liposome se tend jusqu'à dépasser sa limite d'élasticité et elle est rompue par choc osmotique. Ainsi le liposome peut libérer les substances actives.
- mécanique – l'application d'une pression latérale sur la couche lipidique favorise la phase cristalline. La figure 32 présente une courbe de compression latérale d'une monocouche lipidique à la surface de l'eau. Cette courbe montre le passage par différentes phases :
  - des plateaux – qui correspondent aux transitions de phase du premier ordre (liquide expansé – liquide condensé)
  - des changements de pente – dans le cas des transitions de phase du second ordre (liquide condensé– solide).

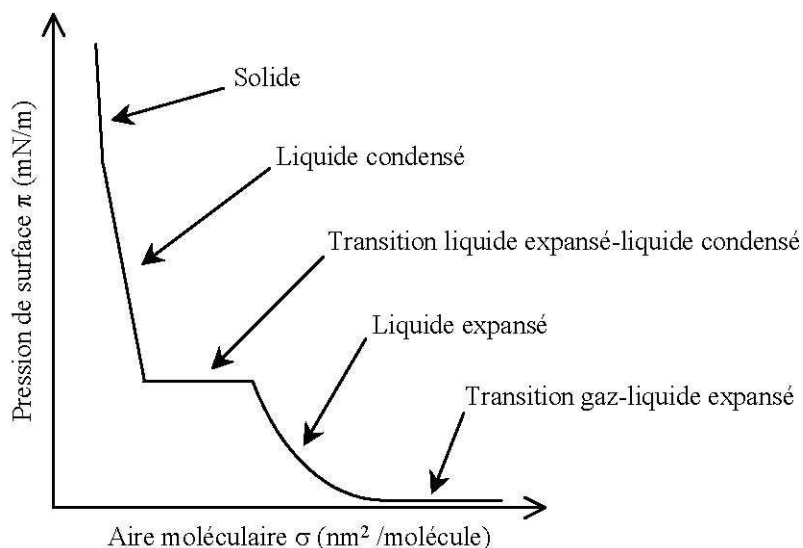
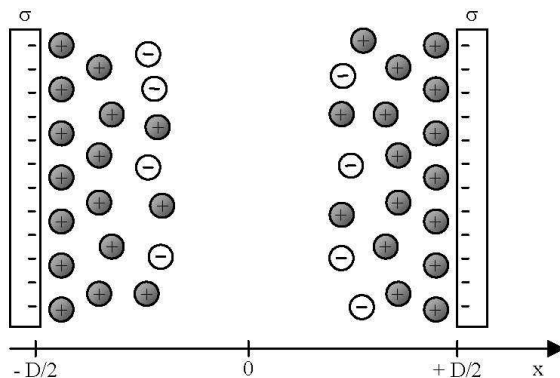


Fig. 32. Isotherme standard d'une monocouche d'amphiphiles

## 2. Propriétés d'interaction entre deux bicouches

### Les forces électrostatiques entre deux bicouches

La surface d'une bicouche peut être chargée suite à l'ionisation de la tête hydrophile des molécules amphiphiles qui la composent, ou suite à l'adsorption d'ions provenant de la solution. Si l'on rapproche l'une de l'autre deux bicouches chargées, il apparaît entre elles une répulsion de nature électrostatique dont la portée dépend de la concentration des ions en solution.



**Fig. 33.** Deux surfaces chargées négativement plongées dans une solution d'électrolyte.

En utilisant les lois physiques qui caractérisent l'énergie électrostatique dépendant de la présence de la couche de contre-ions, et de l'énergie entropique répulsive qui s'oppose à l'approche des deux surfaces chargées, une formule pour calculer l'énergie globale d'interaction entre les deux surfaces a été proposée (Israelachvili, 1992) :

$$E_{DC}(D) = \frac{2 \lambda_D \sigma^2}{\epsilon_0 \epsilon_r} \exp\left(\frac{-D}{\lambda_D}\right)$$

où

- $\sigma$  est la densité de charge des surfaces
- la longueur de Debye  $\lambda_D$  caractérise l'épaisseur de la couche de contre-ions qui se développe au voisinage des surfaces chargées, elle peut être calculée :

$$\lambda_D = \sqrt{\frac{\epsilon_0 \epsilon_r k_B T}{\sum_i z_i^2 e^2 \rho_i(\infty)}}$$

- $\epsilon_0$  et  $\epsilon_r$  sont respectivement la permittivité du vide et la permittivité relative de la solution d'électrolyte
- $z_i$  et  $\rho_i(\infty)$  sont respectivement la valence des ions  $i$  et leur concentration loin des surfaces (en volume).

### Les forces de van der Waals

Deux bicouches phospholipidiques interagissent également par l'intermédiaire d'une force attractive de Van der Waals. Cette force, qui apparaît quelque soit l'état de charge des

bicouches, a pour origine des interactions de type dipolaire. Il existe trois types d'interactions dipolaires :

- l'interaction de type dipôle instantané – dipôle instantané appelée interaction de dispersion ou interaction de London.
- l'interaction qui apparaît dès que l'une des deux molécules est polaire, est une interaction type dipôle permanent – dipôle induit ; elle est appelée interaction d'induction ou interaction de Debye.
- l'interaction qui est présente si les deux molécules sont polaires, est une interaction type dipôle permanent – dipôle permanent ; elle est appelée interaction d'orientation ou interaction de Keesom.

Pour toutes ces interactions, la dépendance de l'énergie d'interaction par rapport à la distance  $r$  entre les molécules est la même (en  $1/r^6$ ), c'est pourquoi elles sont regroupées sous le terme d'interaction de Van der Waals. L'interaction de Van der Waals entre deux molécules 1 et 2 séparées d'une distance  $r$  peut donc s'écrire:

$$e_{VDW}(r) = \frac{a}{r^6}$$

L'interaction de Van der Waals à l'échelle macroscopique entre deux surfaces solides peut-être déduite des interactions de Van der Waals entre les molécules qui les composent. En première approximation, on peut supposer qu'elles sont additives, et sommer toutes les interactions existant entre les molécules de la première surface et les molécules de la deuxième surface. Le résultat dépend des géométries des deux surfaces considérées. Pour deux corps de densité moléculaire  $\rho_1$  et  $\rho_2$  séparés d'une distance  $D$  et dont les molécules interagissent selon  $e_{VDW}(r) = a/r^6$ , on obtient dans le cas de l'interaction entre deux plans macroscopiques (Hamaker, 1937) :

$$E_{VDW}(D) = \frac{A}{12\pi D^2}$$

Où :  $A$  est la constante de Hamaker associée à l'interaction entre les deux interfaces considérées :  $A = \pi^2 a \rho_1 \rho_2$

### **Les forces de nature stérique**

Les bicouches d'amphiphiles sont des objets mous qui se déforment sous l'effet de l'agitation thermique. Lorsque deux bicouches se rapprochent l'une de l'autre, les oscillations qui en découlent génèrent inévitablement des chocs et les bicouches se repoussent. Ces répulsions de nature entropique se présentent sous différentes formes, correspondant chacune à un mode d'oscillation particulier de la bicouche. On distingue trois types d'interactions stériques (fig. 35) (Israelachvili, 1992) :

- Interactions d'ondulation d'Helfrich – ce sont des ondulations de grande amplitude correspondant à un mouvement d'ensemble de la structure macroscopique
- Interactions péristaltiques dues aux fluctuations d'épaisseur,
- Interactions de protrusion caractérisant le mouvement des molécules amphiphiles dans l'intérieur de la bicouche



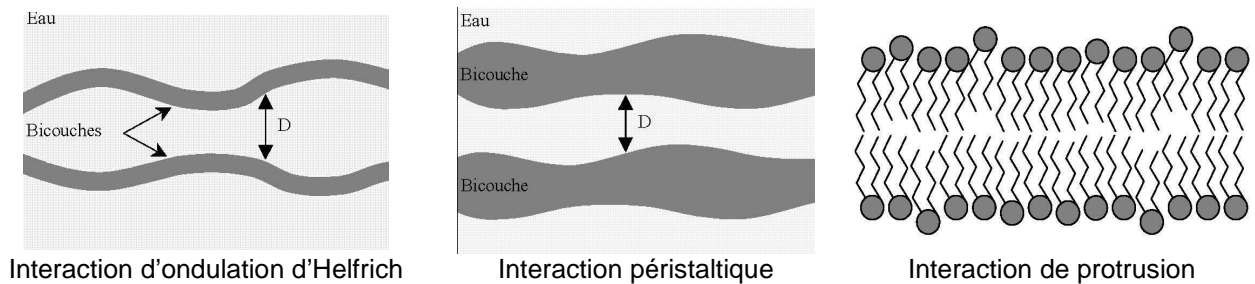


Fig. 35. Interactions de nature stérique entre les bicouches lipidiques.

Des répulsions peuvent également apparaître lorsque des objets de type polymère sont adsorbés à la surface des bicouches.

### Théorie DLVO

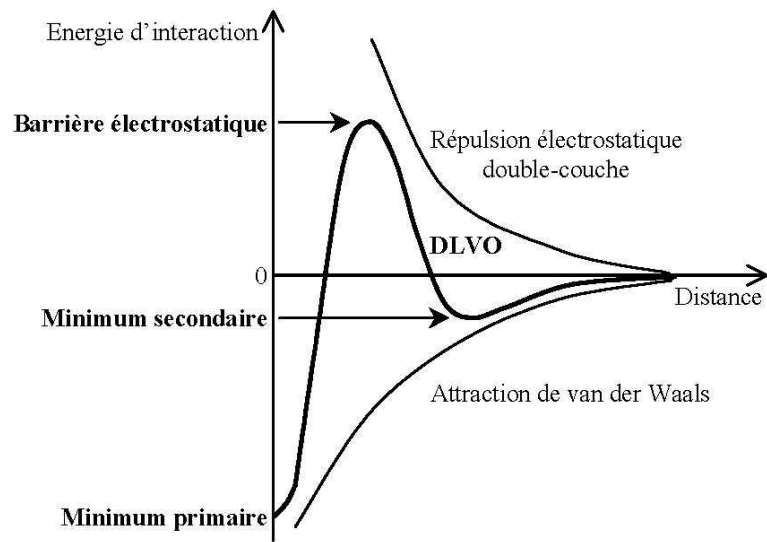
La bibliographie [Engel, Mueller, 1996 ou 97 Biophys J ] montre que le profil d'interaction entre deux bicouches lipidiques plongées dans une solution aqueuse peut être obtenu en se limitant aux effets de répulsion électrostatique et d'attraction de Van der Waals.

La théorie dite DLVO - d'après le nom des chercheurs qui ont participé à son élaboration, Derjaguin et Landau (Derjaguin, 1941), Verwey et Overbeek (Verwey, 1948) - détermine l'importance relative de ces deux effets. Le profil de l'énergie d'interaction (fig.36.) entre les deux bicouches dépend de la distance entre ces bicouches. Ainsi :

- aux longues distances c'est la répulsion électrostatique qui domine,
- aux courtes distances, la répulsion électrostatique tend vers une valeur finie et c'est l'attraction de Van der Waals qui détermine le profil de force.

Les seuils sont fonction de la polarité de la tête lipidique et de la concentration en électrolytes des solutions d'immersion des deux bicouches. Ainsi, différents cas peuvent se présenter, en fonction de la concentration de l'électrolyte et de la densité de charge des surfaces :

- Quand les surfaces sont très chargées et plongées dans un électrolyte très dilué, la répulsion électrostatique est très forte et domine le profil de force. Elle atteint un maximum (barrière électrostatique d'énergie) aux alentours de 1 à 4 nm ; dans ce cas, les deux surfaces se repoussent fortement.
- Si l'électrolyte est plus concentré, les surfaces peuvent adhérer très faiblement l'une à l'autre, d'une façon réversible ; on dit alors qu'elles se trouvent dans un minimum secondaire d'énergie.
- A densité de charge de surfaces plus faible, la barrière d'énergie imposée par la répulsion électrostatique est moins difficile à franchir; les surfaces restent dans le minimum secondaire d'énergie ou bien passent dans le minimum primaire d'énergie et adhèrent fortement l'une à l'autre.
- Lorsque les surfaces ne sont quasiment pas chargées, l'attraction de Van der Waals domine le profil de force ; dans ce cas, les deux surfaces s'attirent fortement.



**Fig. 36. Représentation schématique du profil d'interaction de type DLVO.**

## Annexe 6

### Revue bibliographique des paramètres rhéologiques du fluide synovial

Une synthèse des données bibliographiques sur le comportement rhéologique de la synovie est présentée dans les tableaux 1 et 2.

**Tableau 1.** Données bibliographiques sur la rhéologie du fluide synovial

Study	Temp (C)	Viscometer	Source of Fluid	Subject Condition	Shear Rate (1/s)	Viscosity (cp)
Wright (1975)	?	?	?	Normal	10	1000
				OA	10	80-150
Davis (1978)	35	Couette	Post-mortem	OA	40	85-505
Schurz (1987)	25	Contraves Rotational	Post-mortem	Normal	10	1000-40,000
			Diseased human knee	OA	10	100-1000
Caygill (1969)	28	Weissenberg Rheogoniometer	Post-mortem	Normal	0.05-0.08	20,000-60,000
Reimann (1976)	22	Custom made	Patients with torn meniscus	Near Normal	.15-2.5	30-170 (complex)
			Diseased human knee	OA	.15-2.5	22-108 (complex)
Anadere (1979)	23	Oscillating Capillary	Patients with meniscus defects	Near Normal	10	40 (complex)
			Diseased Human knee	OA	10	31 (complex)
Safari (1990)	27	Bohlin VOR Parallel Plate	Arthroscopy not related to OA (ACL, meniscus)	Normal	2	366-513 (complex)
			Diseased human knee	OA	2	137-262 (complex)
Ogston (1953)	25	Couette Viscometer	Bovine	Normal	10	8,000-80,000

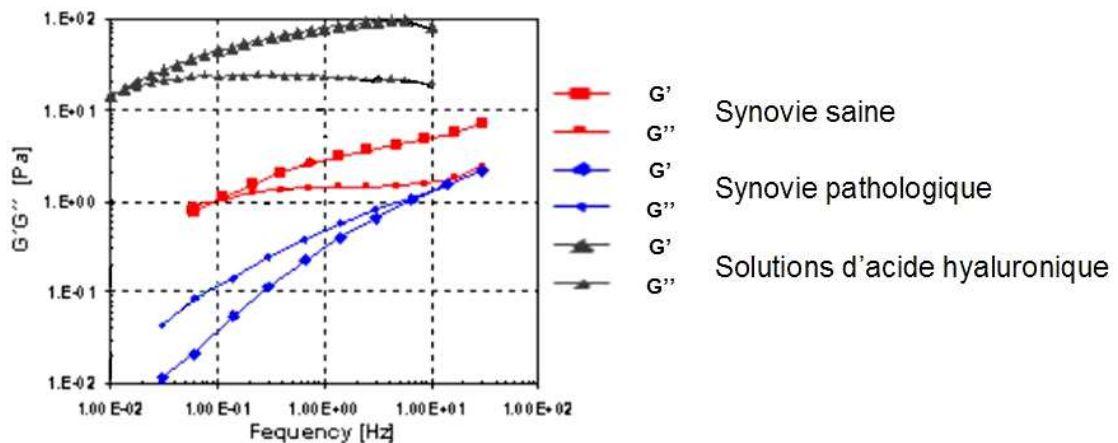
**Tableau 2.** Propriétés rhéologiques des différentes solutions d'acide hyaluronique

Fluid	MR		CP							
	Shear Rate (1/s)	Viscosity (cp)	Shear Rate (1/s)							
			1	2	5	10	20	40	100	200
0.75M MW Hylan A (1.1% Polymer Content)	4.82	296.5	393.2	294.9	275.2	275.2	265.4	250.7	214.3	179.9
2M MW Hylan A (1.0% Polymer Content)	0.162	8985	10810	8650	5780	3952	2536	1558	792.3	466.9
4M MW Hylan A (1.0% Polymer Content)	0.0105	170200	79030	43350	18830	9339	4925	2644	1121	581
5M MW Hylan A (1.0% Polymer Content)	0.0064	244000	81890	46690	20960	10640	5583	3018	1292	670.4

Ces données portent sur trois catégories de fluides:

- le fluide synovial pathologique, souvent étudié du côté médical, facilement prélevé grâce à l'augmentation de son volume dans l'articulation pathologique, mais qui possède des caractéristiques très différentes de celles de la synovie saine,
- le fluide synovial post-mortem, qui a des caractéristiques rhéologiques plus réalistes, mais dont il est difficile d'obtenir une quantité suffisante pour faire des essais rhéologiques. De plus, du fait de l'autolyse enzymatique post mortem il peut y avoir disparition de certains composants comme la lubricine,
- le fluide synovial de substitution, souvent étudié d'un point de vue pharmacologique et biochimique, est habituellement une solution d'acide hyaluronique de différents poids moléculaires. Il peut reconstituer les propriétés rhéologiques de la vraie synovie mais du fait de l'absence de lipides, n'est pas capable de restituer son comportement aux interfaces

La différence de comportement rhéologique entre ces trois types de fluide est montrée dans la figure 40.



**Fig. 40.** Comportement rhéologique des trois fluides utilisés dans la bibliographie pour simuler le comportement tribologique de la synovie

L'ensemble de ces données montre que la synovie a un comportement rhéofluidifiant (la viscosité baisse de qq dizaines de Pa.s à qq. centièmes de Pa.s en fonction du taux de cisaillement). La viscosité est très dépendante du poids moléculaire de l'acide hyaluronique, une dépolymérisation de l'acide hyaluronique conduit à une baisse importante de la viscosité.



## Bibliographie

1. **MOW C. Van, RATCLIFFE Anthony**, Structure and Function of Articular Cartilage and Meniscus, Ch 4. In : *Basic orthopaedic biomechanics*. Philadelphia : Lippincott-Raven publishers, 1997, p. 113-179.
2. **DOWSON D., MEDLEY J.B. and WRIGHT V.**, Transient elastohydrodynamic lubrication models for the human ankle joint. *Engineering in Medicine*, 1984, vol 13, p. 137-151.
3. **DOWSON D. and JIN Z.M.**, Micro-elastohydrodynamic lubrication of soft solids. *Engineering in Medicine*, 1986, vol 15, p. 63-65.
4. **MOW C., RATCLIFFE A., WOO S.L.**: Biomechanics of Diarthrodial Joints, Vol. 2. Paris : Springer-Verlag, 1990, p. 305-322.
5. **UNSWORTH A. DOWSON D. and WRINGHT V.**, The Frictional of Human Synovial Joints – Part I: Natural Joints. *ASME publication. Lubrication*, 1974, vol 38, p. 1-8.
6. **LONGFIELD M.D., DOWSON D., WALKER P.S., et all.**, Boosted lubrication of human joints by fluid enrichment and entrapment. *Ann Rheum Dis.*, 1968, vol 27, p. 512-520.
7. **LINN F.C.**, Lubrication of animal joints II. The mechanism, *J. Biomech.*, 1968, p. 193-205.
8. **LINN F.C., RADIN E.L.**, Lubrication of animal joints III. The effect of certain chemical alteration of the cartilage and lubricant, *Arthritis Rheum.*, 1968, vol 11, p. 674-682.
9. **SWANN D.A. and RADIN E.L.**, The Molecular Basis of Articular Lubrication I. Purification and properties of a lubricating fraction from bovine synovial fluid, *The Journal of biological chemistry*, 1972, vol 247, N° 24, p. 8069-8073.
10. **REYES Laurence**, *Etude par méthodes optiques de la conformation/déconformation d'une protéine (BSA) soumise à des contraintes physiques et chimiques : application au comportement tribologique des prothèses articulaires*. Thèse en Physique des matériaux. Lyon : Université Claude Bernard Lyon 1, 20 décembre 2000, 167p.
11. **WIMMER M.A., SPRECHER C.S., HAUERT R., et all.** Tribochemical reaction on metal-on-metal hip joint bearings. A comparison between in-vitro and in-vivo results, *Wear*, 2003, vol 255, p. 1007–1014.
12. **CAYGILL J.C. and WEST G.H.**, The rheological behavior of synovial fluid and its possible relation to joint lubrication., *Med Biol Eng*, 1969, vol 7, n° 5, p. 507-523.
13. **SWANN D.A., SILVER F.H., SLAYTER H.S., at all.**, The molecular structure and lubricating activity of lubricin isolated from bovine and human synovial fluids, *Biochem. J.*, 1985, vol 225, p. 195-201.
14. **SCHWARZ I.M. and HILLS B.A.**, Surface-active phospholipid as the lubricating component of lubricin, *British Journal of Rheumatology*, 1998, vol 37, p. 21-26.
15. **OATES K.M.N., KRAUSE W.E., JONES R.L. et all.**, Rheopexy of synovial fluid and protein aggregation, *Journal of the royal society Interface*, 2005, p. 1-8.

16. **PASQUALI-RONCHETTI I., QUAGLINO D., MORI G., et al.**, Hyaluronan–Phospholipid Interactions, *Journal of structural biology*, 1997, vol 120, p. 1–10.
17. **CRESCENZIA V., TAGLIENTI A., PASQUALI-RONCHETTI I.**, Supramolecular structures prevailing in aqueous hyaluronic acid and phospholipid vesicles mixtures: an electron microscopy and rheometric study, *Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects*, 2004, vol 245, p. 133–135.
18. **RHEE D.K., MARCELINO J., BAKER M.A. et al.**, The secreted glycoprotein lubricin protects cartilage surfaces and inhibits synovial cell overgrowth of synovial cell growth, *The Journal of Clinical Investigation*, 2005, vol 115, N° 3, p. 622–631
19. **SCHVARTZ I., SEGER D., SHALTIEL S.**, Molecules in focus : Vitronectin, The International, *Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 1999, vol 31, p. 539-544.
20. **TOLOSANO E. and ALTRUDA F.**, Hemopexin: Structure, Function, and Regulation, *DNA and cell biology.*, 2002, vol 21, n° 4, p. 297-306.
21. **BERTHIER Y.**, Systèmes tribologiques. Chapitre 1. In *Matériaux et contacts : une approche tribologique*, Paris, G. Zambelli et L. Vincent Presses Polytechniques et Universitaires Romandes, 1998, p.4-12.
22. **OSBORNE A.C., LAMB K.J., LEWTHWAITE J.C., et al.**, Short-term rigid and fleccid paralyse diminish growth of embryonic chick limbs and abrogate joint cavity formation but differentially preserve pre-cavitated joints, *J Musculoskel Neuron Interact*, 2002, vol 2, n° 5, p. 448-456.
23. **MIKIC B., JOHNSON T.L., CHHABRA A.B. et al.**, Differential effects of embryonic immobilization on the development of fibrocartilaginous skeletal elements. *Journal of Rehabilitation Research and Development*, 2000, vol. 37, n° 2.
24. **HALL K. Brian**, *Cartilage. Volume 1: Structure, Function and Biochemistry*, London: Academic Press, 1983, 385 p.
25. **ANTONESCU Dinu, BUGA Mihail, CONSTANTINESCU Ioan, ILIESCU Nicolai**e. *Metode de calcul si tehnici experimentale de analiza tensiunilor in biomecanica*. Bucuresti : Editura Tehnica, 1986, 256 p.
26. **AMIS A.A., DOWSON D., and WRINGHT V.**, Analysis of elbow joint forces due to high speed forearm movements. *Journal of Biomechanics*, 1980, vol 13, p. 825-831.
27. **AMIS A.A., DOWSON D., and WRINGHT V.**, Elbow joint force prediction for some strenuous action. *Journal of Biomechanics*, 1980, vol 13, p. 765-775.
28. **BERGMANN G., DEURETZBACHER G., HELLER M., and all.**, Hip contact forces and gait patterns from routine activities, *Journal of Biomechanics*, 2001, Vol. 34, p. 859-871.
29. **ZOHARA A.C., MCCARTHY D.M., KWAK S.D., and all.**, Knee cartilage topography, thickness, and contact areas from MRI: in-vivo calibration and in-vivo measurements, *Osearthristis and Cartilage*, 1999, Vol. 7, p. 95–109.
30. **CHEZE L.**, Comparison of different calculations of three-dimensional joint kinematics from video-based system data, *Journal of Biomechanics*, 2000, n°33, p. 1695-1699.
31. **AHMED A.M., BURJE A.**, In-vitro measurement of static pressure distribution in synovial joints-Part I: Tibial surface of the knee, *J Biomech Eng.*, 1983, vol 105, n° 3, p. 216-25.



32. **PATEL V.V., HALL K.; RIES M., and all.,** A three dimensional MRI analysis of the knee kinematics, *Journal of Orthopaedic Research*, 2004, Vol. 22, n° 2, p. 283-292.
33. **LIAU J.J., HU C.C., CHENG C.K., and all.,** The influence of inserting a Fuji pressure sensitive film between the tiobiofemoral joint of the knee prosthesis on the actual contact characteristics, *Clinical Biomechanics*, 2001, Vol. 16, n° 2, p.160-166.
34. **MOW V.C. and RATCLIFFE A.,** Cartilage and diarthrodial joints as paradigms for hierarchical materials and structures, *Biomaterials*, 1992, vol 13, n° 2, p. 67-97.
35. **MAROUDAS A., KUETTNER A.,** *Methods in cartilage research*, San Diego: Academic Press Inc., 1990, 370p.
36. **DEAN D., HAN L., GRODZINSKY A.J. and all.,** Compressive nanomechanics of opposing aggrecan macromolecules, *Journal of Biomechanics*, 2006, vol 39, n° 14, p. 2555-2565.
37. **MOW V.C., KUEI S.C., LAI W.M. et all,** Biphasic Creep and Stress Relaxation of Articular Cartilage: Theory and Experiment, *ASME J. Biomech. Eng.*, 1980, n° 102, p. 73–84.
38. **ATESHIAN G.A., WANG H., and LAI W.M.,** The role of interstitial fluid pressurization and surface porosities on the boundary friction of articular cartilage. *ASME, Journal of Tribology*, 1998, n° 120, p. 241-251.
39. **MAROUDAS A.,** Physiochemical properties of cartilage in the light of ion exchange theory. *Biophysics Journal*, 1968, n° 8, p. 575–595.
40. **LAI W.M., GU W.Y., MOW V.C.,** On the conditional equivalence of chemical loading and mechanical loading on articular cartilage, *Journal of Biomechanics*, 1998, vol 31, p. 1181–1185.
41. **MOW V.C., ATESHAN G.A., GU W.Y.,** Effects of fixed charges on the stress-relaxation behavior of hydrated soft tissue in confined compression problem, *Int. J. Solids Structures*, 1998, Vol 24, n° 23-24, p. 3834-3851.
42. **MOW V.C., ATESHAN G.A., and SPILKER R.L.,** Biomechanics of Diarthrodial Joints: A Review of Twenty Years of Progress, *Journal of biomedical engineering*, 1993, vol 115, n° 4B, p. 460-467.
43. **FUNG Y.C.,** *Biomechanics. Mecanical Properties of Living Tissues*. Second edition, New York: Spinger-Verlag, 1993, 568 p.
44. **BERME N., ENGIN A.E., CORREIA DA SILVA K.M.,** *Biomechanics of normal and pathological human articulating joints*. NATO ASI Series, No. 93, Dordrecht / Boston / Lancasrer : Martinus Nijhoff Publishers, 1990, 375 p.
45. **VERSTRAETE K.L., ALMGVIST F., VERDONK P., et all.** Magnetic resonance imaging of cartilage and cartilage repair, *Clinical Radiology*, 2004, vol 59, n° 8, p. 674-689.
46. **NIEMINEN Milka,** *Quantitative Magnetic Resonance Imaging of Articular Cartilage. Structural, Compositional and Functional Characterisation of Normal, Degenerated and Engineered Tissue*. Kuopio : Kuopio University Publications C. Natural and Environmental Sciences, n° 143, 2002, 79 p.
47. **BRUCKNER P., VAUGHAN L., and WINTERHALTER K.H.,** Type IX collagen from sternal cartilage of chicken embryo contains covalently bound glycosaminoglycans. *Proc Natl Acad Sci USA.*, 1985, vol 82, n° 9, p. 2608–2612.

48. **COURTEL R., BARQUINS M., MOW V.C.**, Sur certaines analogies observées entre les mécanismes du frottement sec et le frottement des joints articulaires. *Revue Mécanique*, 1975, n° 311-312.
49. **MOW V.C., CRISTOPHER C.W and HUNG C.**, The extracellular matrix, interstitial fluid and ions as a mechanical signal transducer in articular cartilage, *Osteoarthritis and Cartilage*, 1999, vol 7, p. 41–58.
50. **WONG M. and CARTER D.R.**, Articular cartilage functional histomorphology and mechanobiology: a research perspective, *Bone*, 2003, vol 33, p. 1–13.
51. **PRAJAPATI T.R., CHAVALLY-MIS B., HERBAGE D., et all.**, Mechanical loading regulates protease production by fibroblasts in three-dimensional collagen substrates, *Wound Repair and Regeneration*, 2000, vol 8, p. 226-234.
52. **MOW V.C., HOLMES M.H., LAI M.W.**, Fluid transport and mechanical proprieties of articular cartilage : a review, *Journal of Biomechanics*, 1984, vol. 17, n° 5, p. 377-394.
53. **CONRAD Brayan Preston**, *The effects of glucosamine and chondroitine on the viscosity of synovial fluid in patients with osteoarthritis*, a thesis presented to the graduates school of the University of Florida, 2001, 80 p.
54. **FERRER L.M., DUCHOWICZ R., CARRASCO B. et all.**, The Conformation of Serum Albumin in Solution: A Combined Phosphorescence Depolarization-Hydrodynamic Modeling Study, *Biophysical Journal*, 2001, vol. 80, p. 2422–2430.
55. RCSB Protein Data Bank, <URL: [http:// www.rcsb.org/pdb/](http://www.rcsb.org/pdb/) > (consulté le 17/11/2006)
56. **OGSTON A. and STANIER J.**, The physiological function of hyaluronic acid in synovial fluid: viscous, elastic and lubricant properties. *J. Physiol.*, 1953. vol 119, p. 244-260.
57. **ANADERE I., CHMIEL H. and LASCHNER W.**, Viscoelasticity of "normal" and pathological synovial fluid. *Biorheology*, 1979, vol 16, n° 3, p. 179-199.
58. **DAVIS J.W.H., LEE S.L., and SOKOLOFF L.**, Boundary lubricating ability of synovial fluid in degenerative joint disease. *Arthritis Rheum*, 1978, vol 21, n° 7, p. 754-760.
59. **SCHURZ J. and RIBITSCH V.**, Rheology of synovial fluid. *Biorheology*, 1987, vol 24, n° 4, p. 385-399.
60. **REIMANN I.**, Pathological human synovial fluids. Viscosity and boundary lubricating properties. *Clin Orthop*, 1976, vol 119, p. 237-241.
61. **SAFARI M., BJELLE A., GUDMUNDSSON et all.**, Clinical assessment of rheumatic diseases using viscoelastic parameters for synovial fluid. *Biorheology*, 1990, vol 27, n° 5, p. 659-674.
62. **SHIMIZU C., YOSHIOKA M., COUTTS R.D., et all.**, Long-term effects of hyaluronan on experimental osteoarthritis in the rabbit knee., *Osteoarthritis Cartilage*, 1998, n° 6, p.1-9.
63. **PEYRON J.G.**, A new approach to the treatment of osteoarthritis : viscosupplementation., *Osteoarthritis Cart.*, 1993, n° 1, p. 85 – 87.
64. Avanti polar Lipids. <URL: <http://www.avantilipids.com/CmcValuesForDiacylPhosphatidylcholine.asp>> (consulté le 17/11/2006)

65. **LECKBAND Deborah and ISRAELACHVILI Jacob**, Intermolecular forces in biology, *Cambridge University, Press Quarterly Reviews of Biophysics*, 2001, vol. 34, n° 2, p. 105–267.
66. **ISRAELACHVILI Jacob**. Intermolecular and surface forces. New York: Academic Press, 1992, 456p.
67. **SARMA A.V., POWELL L.G., LABREGE M.**, Phospholipids composition of articular cartilage boundary lubricant, *Journal of orthopaedic research*, 2001, vol 19, p. 671-676.
68. **HILLS B.A. and CRAWFORD R.W.**, Normal and Prosthetic Synovial Joints Are Lubricated by Surface-Active Phospholipid. A Hypothesis, *The Journal of Arthroplasty*, 2003, vol. 18, n° 4, p.
69. **CROSS B., STEINBERGER A., COTTIN-BIZONNE C. et all.**, Boundary flow of water on supported phospholipid films, *Europhys. Lett.*, 2006, vol 73, n° 3, p. 390-395
70. **SOLON Jérôme**, Interactions entre membranes lipidiques chargées : Instabilités, déformations et mouvement. Thèse de doctorat. Paris : Université Paris 6 - Pierre et Marie Curie, UFR de Physique, 2003, 217p.
71. **WATANABE M., LENG C.-G., TORIUMI H. et all.**, Ultrastructural study of upper surface layer in rat articular cartilage by « in vivo cryotechnique » combined with various treatments, *The Clinical Electron Microscopy Society of Japan*, 2000, vol 33, p. 16-24.
72. **FERY A., MOYA S., PUECH P.-H. et all.**, Interaction of polyelectrolyte coated beads with phospholipid vesicles C. R. Physique, Hydrodynamics and physics of soft objects 4 (2003) 259–264
73. **NOMURA F., INABA T., ISHIKAWA S. and all.**, Microscopic observations reveal that fusogenic peptides induce liposome shrinkage prior to membrane fusion, *PNAS*, 2004, vol. 101 no. 10, p. 3420–3425
74. **GE L., MOHWALD H. and LI J.**, Polymer-stabilized phospholipid vesicles formed on polyelectrolyte multilayer capsules, *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2003, vol 303, p. 653–659.
75. **TADMOR R., CHEN N., ISRAELACHVILI J.N.**, Thin film rheology and lubricity of hyaluronic acid solutions at a normal physiological concentration, *Wiley Periodicals, InterScience*, 2002, Available from internet : <URL: <http://www.interscience.wiley.com>> (consulté le 16/11/2006)
76. **NIZAN D.W., NIZAN U., DAN P. et all.**, The role of hyaluronic acid in protecting surface-active phospholipids from lysis by exogenous phospholipase A<sub>2</sub>. *Rheumatology*, 2001, vol 40, p. 336-340.
77. **OSTALOWSKA A., BIRKNER E., WIECHA M., et all.**, Lipid peroxidation and antioxidant enzymes in synovial fluid of patients with primary and secondary osteoarthritis of the knee joint., *OsteoArthritis and Cartilage*, 2005, Available from internet : <URL: <http://www.sciencedirect.com>> (consulté le 16/11/2006)
78. **CHARNLEY J.**, Lubrication of animal joint. *London: Inst Mech Engrs Proc Symp Biomech*, 1959, p. 12-22

79. **HIGGINSON G.R., NORMAN R.**, The lubrication of porous elastic solids with reference to the functioning of human joints, *Journal Mechanical Engineering Science ImechE*, 1974, vol 16, n° 4, p. 250 – 257.
80. **MOW V.C., KUEI SC, LAI W.M. et all.**, Biphasic creep and stress relaxation of articular cartilage in compression. Theory and experiments. *J Biomech Eng*, 1980, vol 102, p. 73–84.
81. **LAI W.M., HOU J.W., and MOW V.C.**, A triphasic theory for the swelling and deformation behaviors of articular cartilage in compression : theory and experiments, *J Biomech Eng*, 1991, vol 102, p. 73-84.
82. **NORDIN Margareta and FRANKEL H. Vicor**, *Basic Biomechanics of the Musculoskeletal System*. Third Edition, Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 1989, 467 p.
83. **KOVACH I.S.**, A molecular theory of cartilage viscoelasticity, *Biophysical Chemistry*, 1996, vol 59, p. 61-73.
84. **ATESHIAN G.A., SOLTZ M.A.**, Experimental verification and theoretical prediction of cartilage interstitial fluid pressurization at an impermeable contact interface in confined compression, *Journal of Biomechanics*, 1998, vol 31, p. 927–934.
85. **SOLTZ M.A., ATESHIAN G.A.**, Interstitial Fluid Pressurization During Confined Compression Cyclical Loading of Articular Cartilage, *Annals of Biomedical Engineering*, 2000, vol. 28, p. 150–159.
86. **KRISHNAN R., KOPACZ M., ATESHIAN G.**, Experimental verification of the role of interstitial fluid pressurization in cartilage lubrication, *Journal of Orthopaedic Research*, 2004, vol 22, p. 565–570.
87. **LEVICK J.R.**, Synovial fluid dynamics: the regulation of volume and pressure, ch. 5. In Edited by Maraudas A et Holborow EJ, *Studies in joint Disease 2. London : Pitman*, 1983, p. 153-240.
88. **AVIOLI V. Louis, KRANE M. Stephen**, *Metabolic bone disease. Volume 2: Structure, Function and Biochemistry*, London: Academic Press, 1978, 752 p.
89. **REIMANN I.**, Pathological Human Synovial Fluids, *Clinical Orthopaedics and Related Research*, 1976, vol. 119, p. 237-241.
90. **ZAMBELLI GERALD, VINCENT LEO**, Aspects tribologiques du joint naturel et des prothèses, Chapitre 26. In G. Zambelli et L. Vincent. Matériaux et contacts. Une approche tribologiques. Paris: Presses polytechniques et universitaires romandes, 1998, p. 312 – 326,
91. **DOWSON D., YAO J.Q.**, A full solution to the problem of film thickness prediction in natural synovial joints., In *Mechanics of Coatings, Proceedings of 16th Leeds/Lyon Symposium on Tribology, Lyon 1989* , Amsterdam: Elsevier, 1990, p. 91–102.
92. Orthoteers.org - The largest online orthopaedic database on the internet. <URL: <http://orthoteers.com>> (consulté le 17/11/2006)
93. **DOWSON D.**, Analysis of boosted lubrication in human joints, *J. Mec. Eng. Sci.* 1970, n° 12, p. 364–369.
94. **PASCOVICI M.D., CICONE T.**, Squeeze-film of unconformal, compliant and layered contacts, *Tribology International*, 2003, n° 36, p. 791–799.

95. **WALKER P.S., DOWSON D., LONGFIELD M.D., and WRIGHT V.,** Boosted lubrication in synovial joints by fluid entrapment and enrichment. *Annals of the Rheumatic Diseases* 1968, n° 27, p. 512–20.
96. **HLAVACEK M.,** Lubrication of the human ankle joint in walking with the synovial fluid filtrated by the cartilage with the surface zone worn out: steady pure sliding motion, *Journal of Biomechanics*, 1999, n° 32, p.1059-1069.
97. **HLAVACEK M.,** The role of synovial fluid filtration by cartilage in synovial joint – IV. Squeeze-film lubrication : the central film thickness for axial symmetry under hinh loding conditions., *Journal of Biomechanics*, 1995, vol 28, no. 10 : 1199-1205
98. **DOWSON D. and JIN Z.-M.** Micro-elastohydrodynamic lubrication of synovial joints. *Engineering in Medicine*, 1986, n° 15 , p. 63–65.
99. **MCCUTCHEN C. W.,** The Frictional Properties of Animal Joints, *Wear*, 1962, n° 5, p. 1-17.
100. **SOLTZ M.A. and ATESHIAN G.A.,** Interstitial Fluid Pressurization During Confined Compression Cyclical Loading of Articular Cartilage, *Annals of Biomedical Engineering*, 2000, n° 28, p. 150–159.
101. **DOWSON D.,** Modes of lubrication in human joints, *Proceedings of the Institution of Mechanical Engineers*, 1967, n° 181, p. 45–54.
102. **UNSWORTH A., DOWSON D., and WRIGHT V.,** The frictional behaviour of human synovial joints. Part 1: Natural Joints. *Trans. A.S.M.E. J. Lube. Tech.* 1975, n° 97, p. 369–376.
103. **SWANN D.A. and RADIN E.L.,** The Molecular Basis of Articular Lubrication I. Purification and properties of a lubricating fraction from bovine synovial fluid, *The Journal of biological chemistry*, 1972, Vol. 247, No. 24, Issue of December 25, pp. 8069-8073,
104. **SWANN D.A., SOTMAN S., DIXON M., et all.** The isolation and partial characterisation of the major glycoprotein (LGP-1) from the articular lubricating fraction from bovine synovial fluid. *Biochem J*, 1977, vol 161, p. 473-485.
105. **SWANN D.A., HENDREN R.B., RADIN E.L., et all.,** The lubricating activity of synovial fluid glycoproteins. *Arthritis Rheum*, 1981, n° 24, p. 22-30.
106. **HILLS B.A., BUTLER B.D.,** Surfactants identified in synovial fluid and their ability to act as boundary lubricants. *Ann Rheum Dis*, 1984, n° 48, p. 51-58.
107. **HILLS B.A.,** Oligolamellar lubrication of joints by surface-active phospholipid., *J Rheumatol*, 1989, n°16, p. 82-91.
108. **HILLS B.A.,** Synovial surfactant and the hydrophobic articular surface. *J Rheumatol*, 1996, n° 23, 1323-1328.
109. **OZTURK H.E., JONES C.F., STOFFEL K.K., et all.,** The effect of surface Active Phospholipids on the Lubrication of Osteoarthritic Sheep Knee Joints : Friction, *AUSTRIB 6th International Tribology Conference, Perth, Western Australia*, 2002, p. 293-299.
110. **BENZ M., CHEN N., ISRAELACHVILI J.,** Lubrication and wear properties of grafted polyelectrolytes, hyaluronan and hylan, measured in the surface forces apparatus. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, 2004, vol 71A, Issue 1, p. 6 – 15.

111. **OWELLEN C. Michael**, *Biotrybology: The Effect of Lubricant and Load on Articular Cartilage Wear and Friction*. Thesis submitted to the Faculty of Virginia Polytechnic Institute and State University, 1997, 99 p.
112. **GALOIS L., FREYRIA A.-M., HERBAGE D. et al.**, Cartilage tissue engineering: state-of-the-art and future approaches, *Pathologie Biologie*, 2005, vol 53, p. 590–598.
113. **HOFFMAN A.S.**, Hydrogels for biomedical applications., *Advanced Drug Delivery Reviews*, 2002, vol 54, n° 1, p. 3-12.
114. **PASSUTI N.**, *Cahiers d'enseignements de la SOFCOT, n° 57 : Biomatériaux de substitution de l'os et du cartilage*. Paris : Expansion Scientifique Française, 125 p.
115. **FREEMAN M.E., FUREY M.J., LOVE B.J. et al.**, Friction, wear, and lubrication of hydrogels as synthetic articular cartilage, *Wear*, 2000, vol 241, p. 129-135.
116. **COVERT R.J., OTT R.D., KU D.N.**, Friction characteristics of a potential articular cartilage biomaterial, *Wear*, 2003, vol 255, p. 1064–1068.
117. **MIGLIARESI C., NICODEMO L., NICOLAIS L. et al.**, Physical characterisation of microporous poly(2-hydroxyethyl methacrylat) gels, *Journal of Biomedical Materials Research*, 1981, vol 15, p. 307-317.
118. **BROOM N.D., OLOYEDE A.**, The importance of physicochemical swelling in cartilage illustrated with a model hydrogel system, *Biomaterials*, 1998, vol. 19, p. 1179-1188
119. **KORNBLATT J.A., KORNBLATT M.J.**, The effects of osmotic and hydrostatic pressures on macromolecular systems, *Biochimica et Biophysica Acta*, 2002, vol. 1595, p. 30-47.
120. **RAND R.P. and PARSEGHIAN V.A.**, Hydration forces between phospholipid bilayers *Biochimica et Biophysica Acta*, 1989, n° 988, p. 351-376.
121. **FERNANDEZ-PUENTE L., et al.**, Temperature and chain length effects on bending elasticity of phosphatidylcholine bilayers, *Europhys. Lett.* 1994, vol. 28, p. 181–186.
122. **PFEIFFER H., BINDER H., KLOSE G., et al.**, Hydration pressure and phase transitions of phospholipids, *Biochimica et Biophysica Acta*, 2003, vol. 1609, p. 144– 147
123. **LICHTENBERG D., OPATOWSKI Ella, KOZLOV M.M.** Phase boundaries in mixtures of membrane-forming amphiphiles and micelle-forming amphiphiles : Review. *Biochimica et Biophysica Acta*, 2000, n°1508, p. 1-19.
124. **GRANT L.M. and TIBERG F.**, Normal and Lateral Forces between Lipid Covered Solids in Solution: Correlation with Layer Packing and Structure. *Biophysical Journal*, 2002, n° 82, p.1373–1385.
125. **HE L., DEXTER A., MIDDELBERG A.** Biomolecular engineering at interfaces, *Chemical Engineering Science*, 2006, vol. 61, p. 989 – 1003.
126. **BAYERL T.M. and BLOOM M.**, Physical properties of single phospholipids bilayers adsorbed to micro glass beads: a new vesicular model system studied by <sup>2</sup>H-nuclear magnetic resonance. *Biophys. J.* 1990, n° 58, p. 357-367.
127. **HILLS B.A.** Boundary lubrication in vivo. *Proc Inst Mech Eng H-J Eng Med*, 2000, vol 214, n° 1, p. 83–94.

128. **SINN C.G., ANTONIETTI M., DIMOVA R.,** Binding of calcium to phosphatidylcholine–phosphatidylserine membranes, *Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects*, 2006, n° 282–283, p. 410–419.
129. **MEYUHAS D., BOR A., PINCHUK I., KAPLUN A., et all.,** Effect of Ionic Strength on the Self-Assembly in Mixtures of Phosphatidylcholine and Sodium Cholate, *Journal of colloid and interface science*, 1997, vol. 188, p. 351–362.
130. **KRUGER P., SCHALKE M., WANG Z., et all.,** Effect of Hydrophobic Surfactant Peptides SP-B and SP-C on Binary Phospholipid Monolayers. I. Fluorescence and Dark-Field Microscopy, *Biophysical Journal*, 1999, vol 77, p. 903–914.
131. **YEE C.K., AMWEG M.L., PARIKH A.N.,** Direct Photochemical Patterning and Refunctionalization of Supported Phospholipid Bilayers., *Journal of the American Chemical Society*, 2004, vol. 126, n° 43, p. 13962-13972.
132. Invitrogen. Available from internet: <URL: <http://probes.invitrogen.com>> (consulté le 17/11/2006)
133. Mortimer Abramowitz, Michael W. Davidson. Köhler Illumination and Reflected Light. Melville, New York : Olympus America, Inc. Available from internet: <URL: <http://www.olympusmicro.com/primer/anatomy/reflectkohler.html>> (consulté le 16/11/2006)
134. **MAZERAN Pierre-Emmanuel,** *Microscopie à force atomique et imagerie mécanique*. Thèse. Spécialité Mécanique. Lyon : Ecole Centrale de Lyon, 20 février 1998, 159 p.
135. **DECOSSAS Sébastien,** *Nano tribologie par microscopie à force atomique sur des nano tubes de carbone*. Thèse en Science et Structure des Matériaux. Grenoble : Université Grenoble I, 2001, 161 p.
136. **CAPPELLA B. and DIETLER G.,** Force-Distance Curves by Atomic Force Microscopy. A Review, *Surface Science Reports*, 1999, vol. 34, p. 1-104.
137. **HEINZ W.F. and HOH J.H.,** Spatially resolved force spectroscopy of biological surfaces using the atomic force microscope, *Tibtech Nanotechnology*, 1999, vol 17, p. 143 -150.
138. **GAVOILLE J. and TAKADOUM J.,** Study of Surface Forces Dependence on pH by Atomic Force Microscopy. *Journal of Colloid and Interface Science*, 2002, vol 250, p. 104–107.
139. **GAVOILLE J. and TAKADOUM J.,** Surface charges and adhesion measured by atomic force microscope influence on friction force, *Tribology International*, 2003, vol 36, p. 865–871.
140. **HUTTER J. L., BECHHOEFER, J.** Calibration of atomic-force microscope tips, *Rev. Sci. Instrum.*, 1993, vol 64, p. 1868–1873.
141. **LEVY R. et MAALOUM M.,** Measuring the spring constant of atomic force microscope cantilevers: thermal fluctuations and other methods, *Nanotechnology*, vol. 13, 2002, p. 33-37.
142. **SENDEN T.J. and DUCKERT W.A.,** Experimental Determination of Spring Constants in Atomic Force Microscopy, *Langmuir*, 1994, vol 10, p. 1003-1004.
143. **STEINBERGER Audrey,** Hydrodynamique à l'interface solide-liquide : étude par mesures de forces de surfaces et simulations de dynamique moléculaire. Thèse en



cours. Mention Physique. Lyon : Université de Lyon 1, soutenance prévue le 1 décembre 2006.

144. **PERA I., STARK D., KAPPL M., et al.,** Using the Atomic Force Microscope to Study the Interaction between Two Solid Supported Lipid Bilayers and the Influence of Synapsin I, *Biophysical Journal*, 2004, vol. 87, p. 2446–2455.
145. **BENZ M., GUTSMANN T., CHEN N., TADMOR R., ISTRAELACHVILI J.,** Corelation of AFM and SFA measurement concerning the stability of supported Lipid Bilayers, *Biophysical Journal*, 2004, vol. 86, p. 870-879.
146. **LEDUC C., CAMPAS O., ZELDOVICH K.B., et al.,** Cooperative extraction of membrane nanotubes by molecular motors, *PNAS*, 2004, vol 101, n° 49, p. 17096-17101.
147. **MAO Guangzhao, LIANG Xuemei, NG K.Y. Simon,** Direct Force Measurement of Liposomes by Atomic Force Microscopy, *Dekker Encyclopedia of Nanoscience and Nanotechnology*, 2004, n° 933, p. 933 – 942.
148. **TORCHILLIN V., WEISSIG V.,** Liposomes: A Practical Approach, Boston: *Oxford University Press, USA*, 2003, 396p.
149. **MUGABE C., OMRI A.,** La gentamicine sous la forme liposomale : aspects technologique et microbiologique, Premier prix de l'Acfas-Sudbury. *11e Journée Sciences et Savoirs*, Université Laurentienne, Sudbury, Ontario, 2004, p. 19-40.
150. **GALE L.R., COLLER R, HARGREAVES D.J., HILLS B.A., CRAWFORD R.** The role of SAPL as a boundary lubricant in prosthetic joints. *Tribology International*; Available online 18 January 2006. <URL: <http://www.sciencedirect.com/>>
151. **BERTHIER Y.** Background on friction and wear, Chap 8. In Lemaître J. *Handbook of materials behavior models*. San Diego, CA : Academic Press, 2001, p.676 -699.
152. **BERTHIER Y.,** Third body reality - Consequences and use of the third body concept to solve a friction and wear problems, Chap. 12. In Gwidon Stachowiack. *Wear, Materials, Mechanisms and Practice*. Chichester, England : Wiley, 2005
153. **LEIKIN S., PARSEGAN V.A, RAU D.C.,** Hydratation forces, *Annu. Rev. Phys. Chem*, 1993, n° 44, p. 369-395.
154. **IORDANOFF I., BERTHIER Y.,** First steps for a rheological model for the solid third body, *Proceedings of the 25th Leeds-Lyon Symposium "Lubrication at the Frontier : The role of the interface"*, Amsterdam ; New York ; Oxford [etc.] : Elsevier for the Institute of Tribology, the University of Leeds and Institut National des Sciences Appliquées de Lyon, 1999, p.551-560. (*Tribology Series*, Vol.36)
155. **RICHARD David,** *Modélisation d'une articulation saine de genou. Approche dynamique moléculaire*. Rapport de master MEGA (Mécanique, Energétique, Génie Civil, Acoustique). Lyon : INSA de Lyon, 2005, 52 p.
156. **LE FLOC'H Simon,** *Analyse des conditions tribologiques macroscopiques du fonctionnement du genou humain*. Rapport de master biomécanique Ecole doctorale MEGA. Lyon : INSA de Lyon, 2005, 97 p.
157. **KAPANDJI I.A.,** *Physiologie articulaire : schémas commentés de mécanique humaine. Fascicule II : Membre inférieur*. Paris : Maloine, 1965, 270 p.

158. **DEFRATE H., SUN T., GILL H. and all.,** In vivo tibiofemoral contact analysis using 3D MRI-based knee models. *Journal of Biomechanics*, 2004, vol 37, n° 10, p. 1499-1504.
159. **CHIN-PURCELL M.V., LEWIS J.L.,** Fracture of articular cartilage. *J. Biomech Eng*, 1996, vol 118, p. 545–556.
160. **HEINZ W.F. and HOH J.H.,** Spatially resolved force spectroscopy of biological surfaces using the atomic force microscope. *TIBTECH, Nanotechnology*, 1999, vol. 17, p. 142-150.
161. **DOWSON D.,** *Advances in Medical Tribology. Ortopedic implants and implant materials.* London: Published by Mechanical Engineering Publication Limited, 1998, 221p.
162. **WRIGHT V. and DOWSON D.,** Lubrication and cartilage. *J Anat*, 1976, vol 121, n° 1, p. 107-18.
163. **HUTCHINGS M. Ian,** *Friction, Lubrication and Wear of Artificial Joints*, London: Professional Engineering Publishing, 2003, 132 p.
164. **BEILLAS P., PAPAIOANNOU G., TASHMAN S., and all.,** A new method to investigate in vivo knee behaviour using a finite element model of the lower limb, *Journal of Biomechanics*, 2004, vol. 37, p. 1019-1030.
165. **HOBATHO M.C.,** In vivo determination of contact areas and pressure of the femorotibial joint using non-linear finite element analysis, *Clinical Biomechanics*, 1998, vol. 13, p. 394-402.
166. **SONNLEITNER A., SCHUTZ G.J., and SCHMIDT Th.,** Free Brownian Motion of Individual Lipid Molecules in Biomembranes. *Biophysical Journal*, 1999, vol 77, p. 2638–2642.
167. **BERTHIER Y.** Usure. Chapitre 4. In G. Zambelli et L. Vincent. *Matériaux et contacts : une approche tribologique.* Paris, Presses Polytechniques et Universitaires Romandes, 1998, p. 37-45.
168. **NOYER Daniel,** *Le cartilage articulaire. Cet inconnu de la chirurgie orthopédique.* Thèse en Médecine. Lyon : Université Claude Bernard Lyon 1, 22 septembre 1980, 298p.
169. **SAWAE Y., MURAKAMI T., CHEN J.,** Effect of synovia constituents on friction and wear of ultra-high molecular weight polyethylene sliding against prosthetic joint materials. *Wear*, 1998, vol. 216, p. 213-219.
170. **MAZZUCCO D., SPECTOR M.,** The John Charnley award paper. The role of joint fluid in the tribology of total joint arthroplasty. *Clinical orthopaedics and related research*, 2004, n° 429, p. 17-32.
171. **IKEUCHI K.,** Origin and future of hydration lubrication, *presentation at 33<sup>rd</sup> Leeds-Lyon Symposium on Tribology, September 12-15 2006.*
172. **JIN Z., WILLIAMS S., TIPPER J. and all.,** Tribology of hip joints from natural hip joints, cartilage substitution, artificial replacements to cartilage tissue engineering., *Journal of Biomedical Science and Engineering*, 2006, vol. 1, n° 1, p. 69-81.
173. **CROSS Benjamin,** Etude expérimentale des propriétés mécaniques de membranes supportées et en phase lamellaire. Thèse. Mention Physique. Lyon : Université de Lyon 1, soutenu le 16 décembre 2004.



## 174. FOLIO ADMINISTRATIF

### THESE SOUTENUE DEVANT L'INSTITUT NATIONAL DES SCIENCES APPLIQUEES DE LYON

NOM : **TRUNFIO SFARGHIU**

DATE de SOUTENANCE : **08/12/06**

(avec précision du nom de jeune fille, le cas échéant)

Prénoms : **Ana Maria**

TITRE : **Modele bio-tribologique des articulations. Rôle mécanique et physicochimique des assemblages moléculaires du fluide synovial.**

NATURE : Doctorat

Numéro d'ordre : 2006-ISAL-00108

Ecole doctorale : **MEGA**

Spécialité : **Biomécanique**

Cote B.I.U. - Lyon :

et bis

CLASSE :

RESUME :

Le but de ce travail est l'analyse du rôle des assemblages moléculaires du fluide synovial dans le fonctionnement tribologique d'une articulation naturelle saine et prothésée. Pour cela un modèle ex vivo réaliste reproduisant les caractéristiques mécaniques et physicochimiques d'une articulation naturelle a été conçu et exploité

Ce modèle reconstitue ex vivo les propriétés mécaniques et physico-chimiques des cartilages articulaires en utilisant un matériau polymérique de type hydrogel

Le modèle reconstitue aussi ex vivo les assemblages moléculaires du fluide synovial (multicouches lipidiques et vésicules du gel synovial) en utilisant des techniques de physique nanostructurale comme le dépôt lipidique par éclatement de vésicules et par la co-adsorption des micelles, la fabrication des liposomes et la microscopie de force atomique. L'évolution de ces assemblages moléculaires est visualisée in situ, au cours d'essais de frottement, par microscopie optique en fluorescence obtenue avec des marqueurs moléculaires.

Les résultats expérimentaux corrélés avec un modèle numérique des multicouches lipidiques (dynamique moléculaire) permettent de localiser où et comment s'effectue le glissement dans les assemblages moléculaires de la synovie ce qui contribue à expliquer l'origine des valeurs de frottement mesurées. Par exemple, si le glissement se localise dans le gel synovial le coefficient de frottement est de 0.15, alors qu'il n'est que de 0.0015 lorsqu'il se localise dans les multicouches lipidiques.

Sur le plan appliqué, d'autres résultats montrent que l'hydrogel, simulant le cartilage, favorise la formation et le maintien des multicouches lipidiques, ce qui n'est pas le cas avec l'acier et le polyéthylène des implants. Cela permet d'expliquer les différences de comportement tribologique dans les deux cas. Enfin, la mise en évidence d'une interdépendance entre les propriétés mécaniques et les propriétés physicochimiques de l'hydrogel a été exploitée pour comprendre des phénomènes mécaniques (variation du module d'élasticité, usure....) liées à l'évolution des pathologies.

MOTS-CLES : Modèle tribologique, articulation, assemblages moléculaires, caractérisation mécanique, caractérisation physicochimique, caractérisation biologique, accommodation des vitesses, implants, pathologies

Laboratoire (s) de recherche : **Laboratoire de Mécanique des Contacts et des Solides (L.A.M.C.O.S), Institut National des Sciences Appliquées de Lyon (I.N.S.A)**

Directeur de thèse: **BERTHIER Yves, MEURISSE Marie-Hélène**

Président de jury : **CARRET Jean-Paul**

Composition du jury : **BERTHIER Yves, CARRET Jean-Paul, CHARLAIX Elisabeth, KENNEDY Francis, LAGARDE Michel, MEURISSE Marie-Hélène, PEREZ Eric, TICHY John**