

Contributions des recherches en
mécanobiologie à la compréhension des
mécanismes de la L.T.R. en ostéopathie
structurelle

GLASSER

Géraldine

PROMOTION 3

Année 2011-2012

SOMMAIRE

1. REMERCIEMENTS.....	5
2. PREAMBULE.....	6
3. INTRODUCTION	7
4. MATERIEL ET METHODE.....	8
4.1. Matériel.....	8
4.2. Méthode.....	8
4.2.1. Critères de choix concernant les monographies	8
4.2.2. Critères de choix concernant les articles	8
5. CONTEXTE BIOMECHANIQUE DE L'ETUDE	10
5.1. Introduction.....	10
5.2. Adhérence cellulaire et mécanotransduction	11
5.2.1. Mécanismes de la mécanotransduction.....	12
5.2.1.1. Base de l'adhérence cellule-matrice : les intégrines.....	12
5.2.1.2. Etalement cellulaire – Adhésions focales – Migration cellulaire.....	13
5.2.1.3. Les cellules « sondent » véritablement leur environnement	14
5.2.1.4. Limitations physiologiques de l'utilisation de substrats à 2D - Utilisation de substrats à 3D.....	16
5.2.2. Influences de la rigidité du substrat dans les mécanismes cellulaires.....	17
5.2.2.1. Sur l'adhésion cellulaire	17
5.2.2.2. Durotaxie	18
5.2.2.3. Anisotropie.....	18
5.2.2.4. Différenciation cellulaire.....	19
5.2.3. Influences de l'application de contraintes extérieures sur la cellule	19
5.2.3.1. Renforcement du cytosquelette d'actine	19
5.2.3.2. Renforcement des adhésions focales	20
5.2.3.2.1. Scénario de mécano-sensation.....	20
5.2.3.2.2. Intégration des forces au niveau de l'ensemble de la cellule	20
5.2.4. La viscoélasticité cellulaire	20
5.2.4.1. Quelques notions de viscoélasticité cellulaire : module d'Young E, Fonction de fluage	21
5.2.4.2. Quel(s) modèle(s) viscoélastique(s) pour la cellule ?	23
5.2.4.2.1. Les modèles comportementaux	24
5.2.4.2.2. Les modèles structuraux	24
5.2.4.3. Influence de l'application d'une force sur les propriétés viscoélastiques des cellules.....	25
5.3. Le modèle structural de la tenségrité.....	27
5.3.1. La tenségrité : késaco ?	27
5.3.1.1. Courbes de charge	29

5.3.1.1.1.	Non linéarité.....	30
5.3.1.1.2.	Résilience	30
5.3.1.1.3.	Alignement des composants de la structure	31
5.3.2.	La tenségrité au niveau cellulaire – Donald E. Ingber	31
5.3.3.	La tenségrité au niveau tissulaire	34
5.3.4.	La biotenségrité appliquée à l'organisme par Stephen Levin	35
6.	CONFRONTATION DES CONNAISSANCES EN MECANOBILOGIE CELLULAIRE ET TENSEGRITE AU CONCEPT STRUCTUREL DE LA LESION	36
6.1.	Le concept théorique de l'Ecole	36
6.1.1.	La lésion est incarnée.....	36
6.1.2.	Que signifie le terme de lésion ?	37
6.1.3.	Mode d'installation de la L.T.R.	37
6.1.4.	La L.T.R. est « stable » dans le temps	38
6.1.5.	Le Test de Résistance ou <i>Slack</i>	39
6.1.6.	Le geste thérapeutique : le <i>Thrust</i>	39
6.2.	Le modèle théorique de l'Ecole sous l'éclairage des récentes recherches scientifiques.....	40
6.2.1.	La L.T.R. structurée au sein de la M.E.C. ?	40
6.2.2.	Interaction structure – formeS – fonction	40
6.2.1.	Point de résilience	42
6.2.2.	Caractéristiques du stimulus nécessaire à la réversibilité de la rigidité cellulaire	43
7.	DISCUSSION	45
8.	CONCLUSION – PERSPECTIVES.....	46
9.	BIBLIOGRAPHIE	47
10.	ANNEXES.....	51
10.1.	Annexe 1 : Courrier International n°1012 du 25 au 31 mars 2010.....	51
10.2.	Annexe 2 : Les acteurs histologiques des propriétés mécaniques des TC.....	52
10.2.1.	Organisation des cellules du Tissu Conjonctif (T.C.).....	53
10.2.1.1.	Les cellules du T.C. en « guest star » : les fibroblastes.....	54
10.2.1.2.	La membrane cytoplasmique: lien entre la cellule et son environnement.....	55
10.2.1.3.	Le Cytosquelette : un réseau de polymères enchevêtrés et réticulés	56
10.2.1.3.1.	Les microfilaments d'actine : Fibres de stress / Actine corticale / Filopodes	57
10.2.1.3.2.	Les microtubules ou filaments épais	59
10.2.2.	La Matrice Extracellulaire	59
10.2.2.1.	Les protéoglycanes (P.G.), les glycosaminoglycanes (G.A.G.)	60
10.2.2.2.	Les fibres : collagènes, élastine et réticuline	60
10.2.2.3.	Les glycoprotéines de structure.....	60
10.2.3.	Références Annexe 2	61
10.3.	Annexe 3 : Techniques de nanomanipulations cellulaires	62

*La science ? Après tout, qu'est-elle,
sinon une longue et systématique curiosité !*

André Maurois, La Terre promise

1. REMERCIEMENTS

Je souhaite ici exprimer toute ma gratitude et mon affection à ceux qui ont été présents tout au long de ce cheminement qui aura duré cinq ans et qui continuera je l'espère encore longtemps. C'est à Victor Hugo que j'emprunte cette citation si éloquente : *Les mots manquent aux émotions...*

A l'ensemble de l'équipe enseignante de l' « Institut de Formation Supérieure en Ostéopathie de Rennes » pour nous avoir transmis leur science avec une belle énergie. A Silvère Pinto pour son si grand savoir et sa patience...A Jean-François Terramorsi qui m'a ouvert les portes du monde ostéopathique (les yeux aussi d'ailleurs...). A Gilles Boudéhen pour sa passion de transmettre et sa sincérité. A Pascale Gosselin qui a toujours su être disponible malgré parfois nos inconstances.

A la sérendipité... l'achat et la lecture du magazine « Courrier International » (n° 1012 du 25 au 31 mars 2010) ont été motivés par l'intérêt d'un dossier consacré à l'Alsace – chère à mon cœur – et au détour des pages de cet hebdomadaire, j'ai découvert par l'article signé par Bob Homes « Nos cellules ont-elles le sens du toucher? » l'univers passionnant de la mécanobiologie qui a su si bien piquer ma curiosité jusqu'à en faire mon sujet de travail de fin d'études...(vous découvrirez dans l'Annexe n°1 la couverture du magazine ainsi que l'article dont il est question).

A l'ensemble de mes compagnons de route, ceux qui nous ont quitté et ceux qui nous ont rejoints. J'ai rencontré des gens merveilleux qui ont aussi su me « thruster » quand j'en ai eu besoin. Merci Anne, merci Juju.

A ma famille et mes amis qui m'ont toujours su me réchauffer le cœur, même au loin.

Et le meilleur pour la fin,

A Vincent qui a toujours été à mes côtés et qui a parfois dû supporter mes crises de « mégère » attitude...

2. PREAMBULE

D'Aristote à nos jours, l'Homme se passionne depuis plus de 20 siècles pour la compréhension du comportement du vivant. Cette riche histoire de l'évolution des connaissances scientifiques s'est au fil du temps étoffée grâce au développement de diverses disciplines scientifiques, notamment la biomécanique qui explore les propriétés mécaniques des organismes vivants [Stolz et Wang, 2001 ; Boal, 2002 ; Safran, 2005 ; Isabey, 2008]. Il y a 60 ans, l'avènement de la génétique et de la biologie moléculaire ainsi que l'émergence de nouvelles technologies instrumentales (magnétocytométrie, pinces optiques, spectroscopie de fluorescence...) ont profondément bouleversé les annales de la biologie et réveillé l'intérêt pour une biomécanique plus intégrative. L'hétérogénéité des éléments constituant les structures biologiques rend l'étude du vivant délicate et complexe ; elle oblige l'élaboration de modèles comportementaux. On célèbre alors la naissance d'une approche nouvelle : la mécanobiologie. Cette héritière moderne de la biomécanique s'évertue à modéliser le comportement d'organes, de tissus et depuis peu, de cellules, en s'appuyant sur des techniques pointues de bioingénierie, à savoir de micromécanique cellulaire.

Jusqu'à récemment encore, on croyait nos cellules contrôlées par les gènes et les facteurs biochimiques. Les progrès spectaculaires des connaissances, l'apparition de l'épigénétique¹ et le développement de nouveaux outils nanométriques confortent un phénomène qui est aujourd'hui avéré : nos cellules ont le sens du toucher ! Des équipes interdisciplinaires de scientifiques internationaux – biologistes, physiciens, médecins – ont mis en évidence que les contraintes mécaniques dans l'environnement des cellules influencent les propriétés et les fonctions (synthèse de protéines, expression de gènes, réorganisation structurale...) de ces dernières. La mécanobiologie est donc un domaine de recherche chargé de promesses.

Et vous l'aurez deviné, les phénomènes mécaniques influençant le comportement cellulaire et tissulaire sont au cœur de cet écrit de fin d'étude. Nous n'évoquerons pas les cascades de synthèses chimiques et neurologiques qui les chaperonnent.

¹ L'épigénétique désigne l'étude des influences de l'environnement cellulaire ou physiologique sur l'expression de nos gènes. Pour prendre une métaphore, la génétique renvoie à l'écriture des

3. INTRODUCTION

L'ostéopathie structurelle est un art thérapeutique dans lequel les caractéristiques mécaniques du vecteur du soin sont déterminantes. Le caractère structurel repose sur la définition que le thérapeute attribue à la lésion ostéopathique. L'ostéopathie structurelle appréhende la lésion comme étant structurée, incarnée dans les chairs. Une « dysfonction » - comme la limitation d'amplitude articulaire par exemple - n'est pas une lésion en soi ; elle n'est que l'expression du remaniement de l'état mécanique de la structure. C'est cette altération de l'architecture interne des tissus qui engendre une réorganisation de la fonction. Il n'y a pas de fonction spontanée, il n'y a pas de fonction sans structure préexistante. La maladie ou les symptômes qui motivent la consultation ostéopathique, témoignent de l'altération de la forme de la structure ; l'état de la matière est modifié sans en changer la nature. Le concept développé à l'« Institut de Formation Supérieure en Ostéopathie de Rennes » (IFSO Rennes) reste théorique. Il repose sur le postulat que la lésion ostéopathique est localisée au sein du Tissu Conjonctif (T.C.). La lésion est structurée dans le conjonctif : elle signe objectivement le remaniement structural d'un point de vue mécanique, vasculaire et neurologique. Le T.C. est le niveau d'organisation avec lequel l'ostéopathe va agir. Cet énoncé, admis comme une vérité, est le fondement de notre concept. Cependant, on ne peut nier la méconnaissance de la réalité concrète de la lésion mécanique. Notre raisonnement s'est construit autour de l'hypothèse d'une possible matérialité de la lésion ostéopathique au sein du T.C. Qu'en est-il ? En quoi consiste cette réorganisation architecturale ? Quels sont les éléments du T.C. qui participent à la lésion ?

De plus, notre raisonnement repose sur une très vraisemblable action « réflexe » neurovasculaire orthosympathique qui par vasodilatation entrainerait une modification des qualités mécaniques du T.C. En d'autres termes, l'acte est mécanique ; le but est vasculaire et l'outil est neurovasculaire. Pourtant, au possible effet reflexe vasculaire orthosympathique préexiste inévitablement un effet mécanique sur le tissu. Quelle est l'importance de l'effet de la mécanique sur le tissu avant tout aspect réflexe d'ordre neurologique ? Peut-être mésestimons-nous l'implication de l'aspect mécanique en termes de régulation fonctionnelle des tissus.

Les résultats des récentes recherches en mécanobiologie sur le comportement des cellules à leur environnement mécanique nous permettraient-ils de mieux appréhender la question mécanique de la lésion ?

Dans l'optique de ces questionnements et dans un souci de compréhension, nous allons dans un premier temps exposer les mécanismes d'adhésion cellulaire et de mécanotransduction révélés par la mécanobiologie et qui constituent le contexte théorique de l'étude. C'est dans un second temps que nous développerons notre modèle ostéopathique dans le but de confronter celui-ci aux données expérimentales explicitées dans la première partie.

4. MATERIEL ET METHODE

Ce travail de recherche se base sur une revue de la littérature et constitue un travail réflexif dans le cadre d'une enquête bibliographique. Le décortiquage des écrits actuels sur ces sujets va nous permettre de confronter, d'étayer et peut-être offrir une nouvelle lecture de la Lésion tissulaire réversible (L.T.R.).

4.1. *Matériel*

Pour effectuer nos recherches bibliographiques, nous avons exploité :

- D'une part des ouvrages spécialisés dans des disciplines telles la biologie cellulaire, l'ostéopathie et la physiologie ;
- D'autre part des articles, sélectionnés selon certains critères, et consultables sur des bases de données comme Medline (Pubmed) ou *via* les moteurs de recherche Google et Google Scholar.

Les recherches ont principalement été réalisées en français et en anglais.

4.2. *Méthode*

4.2.1. Critères de choix concernant les monographies

Divers écrits de matières fondamentales -biologie cellulaire, physiologie/neurologie- ont été sélectionnés. Ont été favorisés, ceux qui émanent de maisons d'éditions spécialisées dans le domaine de la médecine. Nous avons également accordé de l'importance au public ciblé par la collection. En effet, nous avons privilégié les documents destinés aux professionnels et aux étudiants dans les thèmes suscités. Les perpétuels progrès scientifiques et médicaux nous ont fait préférer des publications « récentes » : de 2000 à 2011. Lorsqu'il s'agit de rééditions, nous avons contrôlé qu'elles ont été revues et corrigées.

Quant aux ouvrages d'ostéopathie, le seul critère de choix a été de retenir ceux qui sont considérés comme une référence dans notre approche ostéopathique structurelle.

4.2.2. Critères de choix concernant les articles

Des critères d'inclusion et d'exclusion ont été appliqués aux articles :

- Critères d'inclusion : écrits qui traitent du comportement mécanique cellulaire -tissulaire en réaction à des stimuli physiques- en particulier au sein du tissu conjonctif.
- Critères d'exclusion : tous les écrits du même ordre concernant des tissus spécialisés : nerveux, vasculaire, osseux... Les articles ont été découverts sur des sites internationaux dont la fiabilité est admise. Concernant les articles recueillis par les moteurs Google et Google Scholar, nous avons été plus prudents en ne choisissant que des articles parus dans des revues de renommée internationale ou appartenant à des institutions officielles ou nationales et dont les auteurs sont des spécialistes de la matière.

Les articles retenus datent de 1993 à 2011

Mots clés : mécanobiologie ; mécanotransduction ; tenségrité ; tissu conjonctif ; forces mécaniques

Key words : mechanobiology ; mechanotransduction ; tensegrity ; connective tissue ; mechanical forces

5. CONTEXTE BIOMECHANIQUE DE L'ETUDE

Au cours de la dernière décennie, nous avons pu assister à l'émergence d'une nouvelle compréhension du comportement cellulaire tenant compte des propriétés physiques des cellules et des tissus qui les entourent (contraintes mécaniques, forces de cisaillement, compression, anisotropie² et topologie³ des tissus) comme acteur de signalisation inter et intracellulaire au même titre que les signaux biochimiques (c'est-à-dire facteur de croissance, régulation hormonale). Cette communication « physique » est de première importance pour le développement et la régulation fonctionnelle des tissus. D'ailleurs une nouvelle discipline de la biologie, la mécanobiologie, s'attèle à étudier ce comportement même si le lien précis entre stimulus mécanique et réponse physiologique n'est pas évident. Cependant, le modèle de tenségrité émanant de Donald E. Ingber s'accorderait à unifier les diverses observations des chercheurs.

5.1. Introduction

Nous vous proposons ici une synthèse des fonctions essentielles du T.C. ; le détail des constituants impliqués dans ces fonctions est exposé dans l'Annexe 2.

Le T.C., constitué de cellules –notamment de fibroblastes– et de Matrice Extra Cellulaire (M.E.C.) possède certaines fonctions clé :

- Il constitue véritablement un « terreau » dans lequel se lovent les cellules « nobles » de l'organisme ;
- Il possède une capacité de régénération : le fibroblaste tient un rôle primordial dans la préservation du T.C. Il synthétise sans discontinuer les constituants de la M.E.C., il détecte et répare (en quelques minutes) les lésions structurelles de la M.E.C. Le fibroblaste peut être considéré comme un agent de maintenance du T.C. préservant l'intégrité du réseau tridimensionnel de la matrice ;
- Rôle majeur de la M.E.C. :
 - Milieu hydrophile autour de la cellule : la haute teneur en protéoglycanes (P.G.) présents dans la M.E.C. procure un environnement hydrophile à la cellule, facilitant ainsi le transport mais également le stockage des molécules hydrosolubles, protéines, lipides et facteurs de croissance...

² On qualifie un matériau ou une substance d'anisotrope lorsque ces propriétés sont dépendantes de la direction.

³ Il faut ici comprendre la « topologie comme l'étude de la topographie ou « géographie » du tissu vivant.

- Système informatif complexe : c'est au sein de la M.E.C. que s'effectuent une grande partie des échanges entre systèmes impliqués dans l'homéostasie (régulation de l'équilibre acido-basique, du métabolisme hydrosalin, rétrocontrôle des médiateurs chimiques...). C'est aussi surtout le terrain dans lequel siège la réaction inflammatoire dans l'organisme.
- Clef de voûte de l'interaction intercellulaire, ce n'est pas une substance amorphe dans laquelle se nicheraient les cellules du T.C. Ce sont les fibres de collagènes et d'élastine qui confèrent ses qualités mécaniques au T.C. notamment de déformabilité et d'élasticité.
- Toute substance qui voyage d'un capillaire vers une cellule dite « noble » et vice versa, doit transiter par le poste frontière qu'est la M.E.C. Peu importe la situation de l'organe, on retrouve systématiquement ce véritable tamis biophysique. Effectivement, aucune cellule ne s'alimente directement à un capillaire. D'ailleurs, l'autrichien Alfred Pischinger (2007) présente dans son livre, *The Extracellular Matrix and Ground Regulation*, la relation capillaire –M.E.C.– cellule comme la pierre angulaire de la communication ubiquitaire à l'échelle de l'organisme.

5.2. Adhérence cellulaire et mécanotransduction

In vivo, en dehors de quelques familles de cellules pouvant « vivre » en suspension (cellules circulantes du sang et macrophages), la majorité des cellules sont adhérentes. Soit elles établissent des liaisons entre elle, soit elles adhèrent à un substrat, composé de filaments protéiques enchevêtrés (la M.E.C.) et ce par le biais de protéines (intégrines) enchâssées dans leur membrane (Cf. Figure 1). Ces macromolécules constituent l'ossature du tissu et lui confèrent ses propriétés mécaniques. Dans les TC, c'est cette dernière catégorie d'adhésions qui prédomine et sur laquelle nous allons nous attarder. Il existe différents types de jonctions entre la cellule et son environnement ; nous allons développer les jonctions dites d'ancrage, abondantes dans les tissus soumis à de fortes tensions.

Au niveau des jonctions d'ancrage cellule / M.E.C., on distingue deux sortes de sites d'attachement possibles, impliquant des molécules d'adhérence appelées intégrines :

- Les héli-desmosomes, sur lesquels s'ancrent les filaments intermédiaires ;
- Les contacts focaux, sur lesquels s'ancrent les filaments d'actine (renforcement de ces contacts de complexes focaux en adhésions focales).

C'est sur ces derniers types de contacts que nous allons nous attarder.

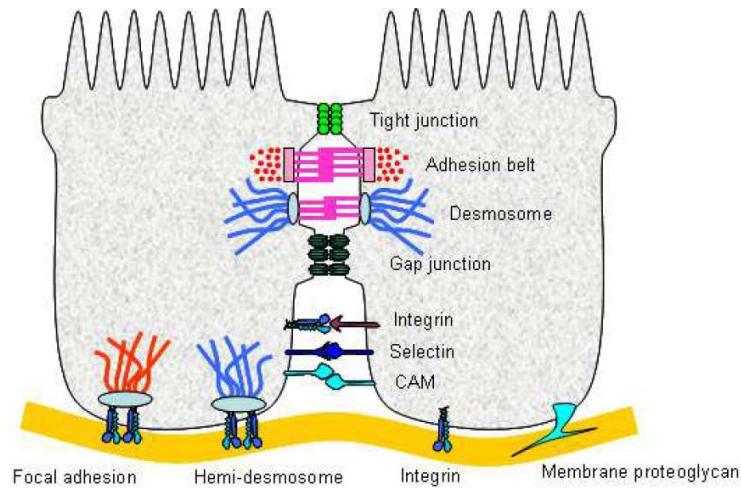


Figure 1 : Les différentes classes de jonctions cellulaires : 1. « Tight junction » ou jonctions serrées établissant une barrière étanche au niveau du feuillet épithélial entre la lumière et les vaisseaux ; 2. Desmosomes et « Adhesion belt » ou ceinture d'adhérence assurant la cohésion entre cellules adjacentes (par cadhérines en rose) ; 3. « Gap junction » ou jonctions communicantes permettant le passage de petites molécules-signal entre deux cellules ; 4. « Focal adhesion, Hemi-desmosome » ou jonctions d'ancrage entre cellule et substrat. D'après Icard-Arcizet (2007)

5.2.1. Mécanismes de la mécanotransduction

5.2.1.1. Base de l'adhérence cellule-matrice : les intégrines

Les molécules d'adhérence assurent le contact mécanique entre la cellule et son environnement et jouent un rôle de mécanotransduction crucial ! La motilité, la croissance, la différenciation des cellules ainsi que l'expression de certains gènes dépendent majoritairement des propriétés mécaniques de l'environnement des cellules.

Les intégrines appartiennent à la grande famille des glycoprotéines. Ces molécules d'adhérence transmembranaires, se présentent sous forme de chaînes avec trois portions distinctes :

- Une portion extracellulaire importante, qui se lie à certains sites spécifiques des filaments de la M.E.C. (fibronectine, collagènes, laminine...) ;
- Une portion transmembranaire enchâssée dans la membrane ;
- Une portion intracellulaire, qui *via* des protéines d'adaptation se lie aux microfilaments d'actine du cytosquelette.

5.2.1.2. Etalement cellulaire – Adhésions focales – Migration cellulaire

Quel que soit le type cellulaire, on peut dégager certains mécanismes communs :

- La membrane s'étend, grâce à la polymérisation de l'actine ;
- La cellule s'ancre au substrat, grâce aux adhésions focales (Cf. Figure 2 et Figure 3)
- Le contenu de la cellule, le noyau et le cytoplasme, avance dans la direction du mouvement. À l'arrière de la cellule, des filaments d'actine se contractent, entraînant l'arrière de la cellule ;
- Les adhésions focales qui sont présentes à l'arrière de la cellule se dissocient

Dans les premiers instants de l'adhésion, le contact entre cellule et matrice n'est constitué que d'un complexe focal de petite taille et transitoire. Ces complexes focaux (FC) peuvent évoluer en adhésions focales (FA) de taille plus importante et plus stables. Cette maturation est obtenue par activation biochimique mais également par augmentation de la contractilité cellulaire, se matérialisant au niveau du contact par l'existence d'une force de tension interne à la cellule. La tension intracellulaire est nécessaire à la propagation de ce signal biochimique. Le phénomène de réponse à une force ou à une rigidité sentie au niveau d'une adhésion ainsi que le maintien de la contractilité interne à la cellule sont étroitement couplés. Si les contacts initiaux (FC) peuvent se former en l'absence de force, leur maturation en FA et la persistance de ces contacts mûrs nécessitent une tension interne à la cellule.

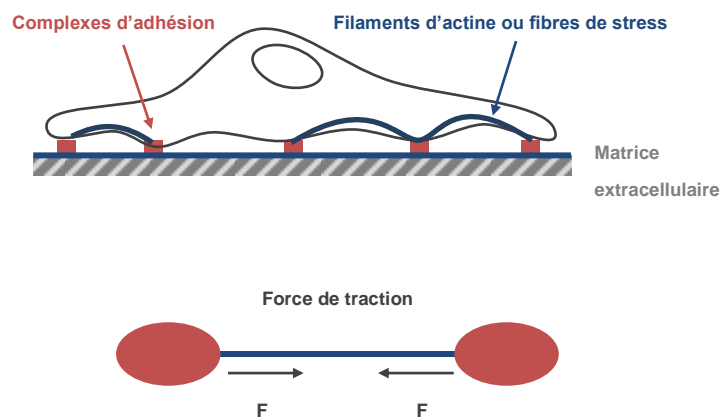


Figure 2 : La cellule adhère sur le substrat via des complexes d'adhésion (en rouge) reliés, d'une part, à la matrice extracellulaire par des protéines transmembranaires, d'autre part, au cytosquelette d'actine (en bleu) qui permet d'exercer des forces contractiles [Saez, 2007].

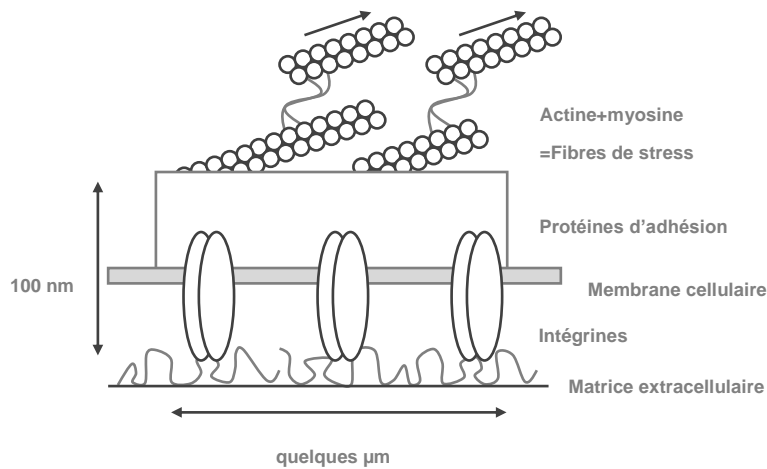
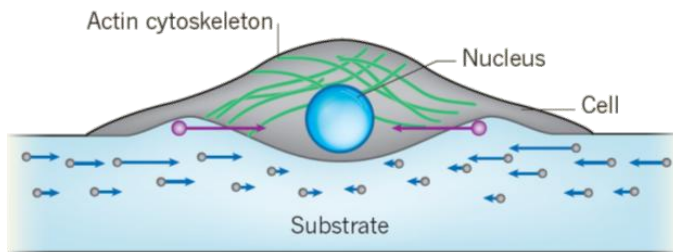


Figure 3 : Schéma d'une adhésion focale. Les fibres de stress qui permettent la contractilité du cytosquelette sont composées de filaments d'actine et de moteurs moléculaires, les myosines, qui provoquent la contraction en déplaçant les filaments d'actine. Ces filaments sont reliés à des complexes protéiques qui interagissent avec les intégrines, protéines transmembranaires, qui assurent le lien avec la M.E.C. [Saez, 2007]

5.2.1.3. Les cellules « sondent » véritablement leur environnement

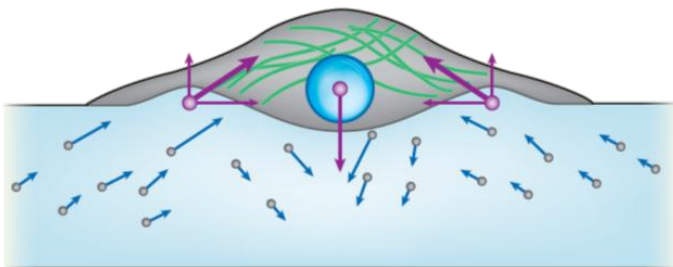
Dans un article paru dans *Nature* en février 2011, les chercheurs Benoît Ladoux et Pascal Hersen, nous expliquent comment les cellules « sondent » leur environnement en poussant et en tirant sur celui-ci. Jusqu'à très récemment (2008-2009), les scientifiques pensaient et n'avaient pu objectiver -de part les limites des outils de recherches- que l'application de forces horizontales (tangentiels) par les cellules à leur substrat [Nicolas, 2007]. Les contraintes constatées sont caractéristiques de l'utilisation de substrats à topographie plane (substrats à 2D). La mise au point de substrats à géométrie variable (substrats à 3D) a démontré l'utilisation par la cellule d'un mécanisme de « pousser-tirer », (« *push-pull mechanism* ») sur le milieu qui l'entoure et ce dans les trois plans de l'espace. La cellule adhérente exerce ainsi sur le substrat dans lequel elle baigne, des forces horizontales et des forces verticales (perpendiculaires) dont les intensités sont égales à celles des forces horizontales. Il existe un équilibre entre forces horizontales –de traction– et forces verticales –de compression– [Fernandez & Bausch, 2009]. Ce jeu de forces est plus « lisible » sur le schéma représenté dans la Figure 4.

a Tangential forces



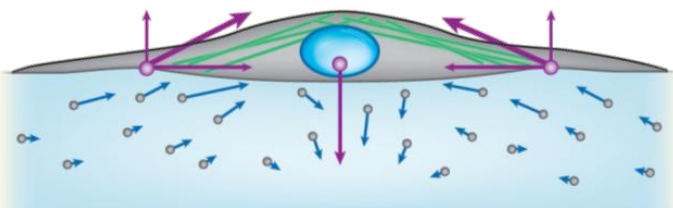
a. Représentation classique des forces tangentielles sur substrat 2D ;

b 3D forces, soft substrate



b. Représentation des forces appliquées à un substrat 3D : mise en évidence du mécanisme de « pousser-tirer ». La cellule impose une pression verticale au substrat au niveau du noyau et des tractions obliques depuis les bords de la cellule vers le centre de celle-ci ;

c 3D forces, stiff substrate



c. Représentation des forces de traction et compression par étalement cellulaire plus important sur substrat rigide, il y aurait un stress mécanique du noyau plus important.

Figure 4 : Représentation des forces mécaniques impliquées dans l'adhésion cellulaire d'après Delanoë-Ayari et al. (2010)

Depuis le développement de ces substrats 3D [Ghibaudo, 2010] et la mise en évidence de ce mécanisme de « push-pull », les mécanobiologistes s'intéressent même à la relation entre l'expression génique de la cellule et les forces que celle-ci exerce sur son milieu. Si la cellule repose sur un substrat dont la rigidité est supérieure à la sienne, les forces notamment verticales –de pression- qu'elle devra mettre en œuvre pour déformer le substrat provoqueraient également la déformation du noyau de la cellule et influeraient sur l'expression génique.

5.2.1.4. Limitations physiologiques de l'utilisation de substrats à 2D - Utilisation de substrats à 3D

Harris *et al.* ont dès 1980⁴ émis et développé l'hypothèse que les cellules exercent des forces sur le substrat et induisent ainsi la déformation de celui-ci. Lors de ces études et dans les années suivantes, les substrats utilisés sont des substrats dits « continus » indéformables puis déformables (fines feuilles de silicone) dont on peut faire varier la rigidité mais pas encore la topographie. Or, *in vivo* les tissus ne sont pas plans mais bien tridimensionnels et les substrats suscités ne permettent que des études en 2D. Les modèles de comportement cellulaire élaborés à partir de l'étude de ces substrats sont parcellaires car les substrats fabriqués ne correspondent pas à la géométrie du milieu physiologique. Le développement des outils nanométriques permet depuis le début des années 2000, [Tan *et al.*, 2003], l'utilisation de substrats dits « discontinus ». Il est possible d'introduire des modifications de rigidité mais également de topographie de ces substrats. Ils sont constitués de micro-piliers (ou plots) élastiques déformables (Cf. Figure 5). Ces micro-piliers sont fabriqués en gel de PDMS (Poly Diméthyl Siloxane) qui est un élastomère biocompatible, perméable aux gaz dont l'oxygène et dont on peut traiter la surface avec des protéines de la M.E.C. qui assurent l'ancrage des cellules au substrat. Ces plots permettent de recréer un environnement 3D simple. La compréhension du comportement des cellules *in vivo* peut être éclairée par l'étude de l'influence des propriétés mécaniques du substrat. L'évolution des techniques d'études des propriétés mécaniques du substrat est concomitante à celle des techniques de biologie cellulaire et moléculaire. Le mariage de ces techniques ainsi que le développement du domaine de l'optique, ont rendu possibles des études - à l'interface de la physique et de la biologie - dans des conditions quasi identiques à celles *in vivo*.

⁴ HARRIS, A. K. *et al.* Silicone rubber substrata : a new wrinkle in the study of cell locomotion. *Science*, 1980, n° 208, p. 177-179

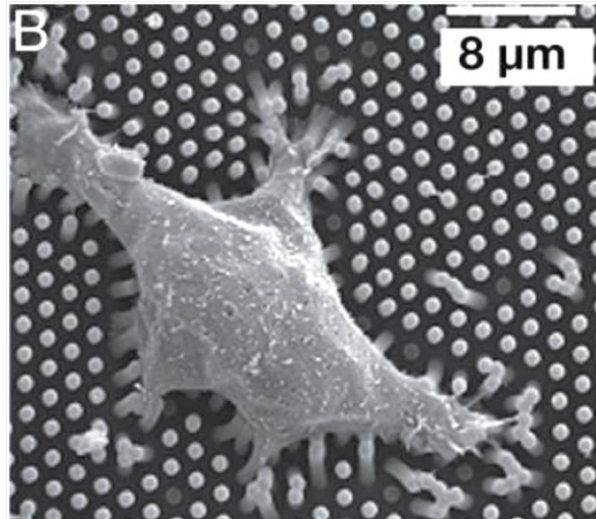


Figure 5 : Cellule sur plot en microscopie électronique à balayage d'après Roure et al. (2005)

5.2.2. Influences de la rigidité du substrat dans les mécanismes cellulaires

Des modifications physiologiques profondes ont été observées dès le début des années 1950 (Weiss, 1945⁵) sur des cellules dont l'environnement mécanique était modifié.

5.2.2.1. Sur l'adhésion cellulaire

La rigidité du substrat joue un rôle sur l'adhésion et sur la migration de la cellule. En effet, il a été montré [Pelham et Wang, 1997] que plus le gel est mou, et moins la cellule s'étale, mais aussi plus elle migre vite. Les FA sont le point de départ de denses faisceaux de filaments d'actine, les fibres de stress, qui permettent d'exercer des forces très importantes au niveau de ces contacts. Les intégrines des contacts focaux permettent de transmettre des forces mécaniques de l'extérieur vers l'intérieur de la cellule (et vice-versa), et traduisent également ces signaux mécaniques en signaux biochimiques. Ainsi, l'apparition et la croissance d'adhésions focales est couplée à la croissance de fibres de stress dans la cellule. Ces fibres de stress sont notamment beaucoup plus développées sur un substrat rigide que sur un substrat mou. En effet, sur les gels mous, la cellule perd ses fibres de stress [Yeung *et al.*, 2005] -caractéristiques des substrats rigides- et les adhésions focales deviennent plus petites, plus irrégulières et aussi plus dynamiques que sur substrat rigide [Pelham et Wang, 1997] : les complexes focaux apparaissent et disparaissent plus rapidement.

⁵ WEISS, P. Experiments on cell and axon orientation in vitro : the role of colloidal exudates in tissue organization. *J Exp Zool*, 1945, n°100, p. 353-386

5.2.2.2. Durotaxie

La durotaxie est le phénomène par lequel le mouvement cellulaire est dicté par un gradient de rigidité. Lorsque les cellules sont ensemencées sur un gel de rigidité non uniforme, les cellules migrent vers la zone de plus grande rigidité. C'est ce que l'on appelle le phénomène de durotaxie. Dans leurs études sur le fibroblaste, Lo *et al.* (2000) ont montré l'influence de la variation de rigidité sur la cellule.

La cellule, sur la partie la plus souple du substrat, s'approche de la frontière mou/dur : elle passe sur la surface rigide sans modification de comportement (voir haut de la Figure 6). La cellule, sur la partie la plus rigide, s'approche du substrat mou : après avoir sondé la surface moins rigide, la cellule ne passe pas la frontière rigide/mou et reste sur la partie rigide, à la frontière des deux substrats (voir bas de la Figure 6). On peut comprendre ce phénomène de la manière suivante : il est moins énergétivore pour nous de marcher sur un sol rigide, peu déformable que sur du sable par exemple. Il en est de même pour la cellule.

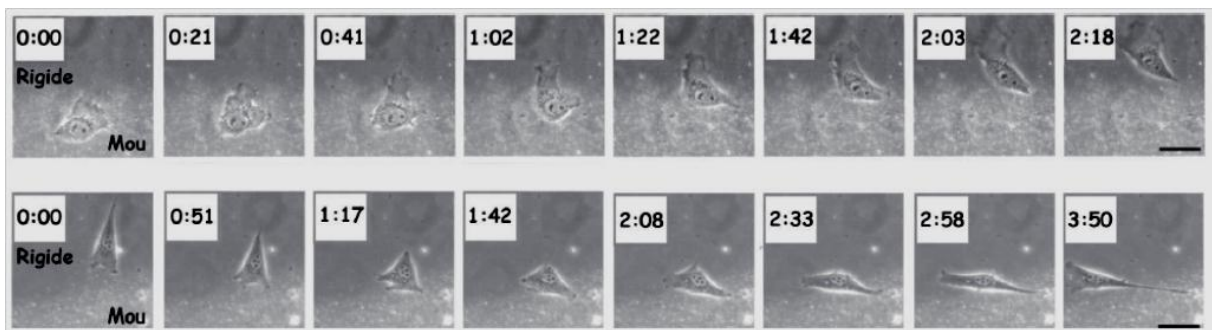


Figure 6 : Mise en évidence du phénomène de durotaxie, d'après Lo *et al.*, 2000.

5.2.2.3. Anisotropie

Lorsque les cellules sont cultivées sur un substrat de rigidité anisotrope⁶, elles s'orientent selon la direction de plus grande rigidité et elles adaptent les forces qu'elles exercent en fonction de la rigidité ressentie. La modélisation par Bischofs et Schwarz (2003) de l'adhésion cellulaire sur substrat anisotrope a permis d'expliquer ce phénomène d'anisotropie. Aux temps courts (adhésion), la minimisation de l'énergie du système induit l'orientation selon la plus grande raideur [Bischofs et Schwarz, 2003]. Aux temps intermédiaires (migration), l'étude sur substrats anisotropes, qu'ils soient continus [Lo *et al.*, 2000] ou discontinus [Saez *et al.*, 2007] a également mis en évidence une orientation selon la direction de plus grande raideur. Récemment, des études ont montré que même aux

⁶ Anisotropie: caractérise un corps ou une substance dont les propriétés varient selon la direction.

temps longs, c'est-à-dire lors de la différenciation cellulaire, la rigidité joue un rôle essentiel [Engler *et al.*, 2006].

Il est d'autant plus facile pour la cellule d'exercer une force dans une direction donnée que la raideur selon cette direction est grande, car dans ce cas, elle minimise son énergie. La raideur oriente donc l'adhésion et la migration : les adhésions focales étant davantage présentes et plus stables sur les substrats les plus rigides, les cellules migrent de préférence selon la plus grande raideur.

5.2.2.4. Différenciation cellulaire

Des études menées en 2006 par l'équipe du chercheur Dennis Discher [Discher *et al.*, 2006], de l'Université de Pennsylvanie, sur des cellules souches mésenchymateuses⁷ humaines ont révélé des résultats surprenants. Si les cellules multipotentes sont disposées sur un substrat de rigidité équivalente à celle du tissu cérébral (relativement mou...), celles-ci se différencieront en cellules nerveuses. Lorsqu'elles sont cultivées sur des gels dix fois moins flasques, les cellules engendrées seront de type musculaire. Quand il s'agit de gels encore plus rigides, les cellules récoltées seront osseuses. Et ceci, sans l'intervention de quelconques signaux chimiques ! (Cf. également Even-Ram *et al.* , 2006).

Quelques années auparavant, en 2003, Emmanuel Farge⁸ et ses collègues biophysiciens à l'UMR 168 CNRS/ Institut Curie, démontrent que l'expression de certains gènes du développement chez l'embryon est sous contrôle mécanique. C'est notamment le cas du gène Twist⁹ chez la drosophile.

5.2.3. Influences de l'application de contraintes extérieures sur la cellule

5.2.3.1. Renforcement du cytosquelette d'actine

Dans le paragraphe 5.2.2, il a été montré que la rigidité du substrat change l'organisation du cytosquelette et celle des contacts adhésifs. D'une façon similaire, l'application de forces extérieures modifie également la réponse cellulaire.

Il a en effet été observé que la rigidité interne des cellules est modifiée par l'application prolongée de contraintes [Lee *et al.*, 2006]. Il a aussi été observé aussi que le niveau de précontrainte dans la cellule détermine sa rigidité [Wang *et al.*, 2001]. Plusieurs travaux

⁷ Les cellules souches mésenchymateuses sont des précurseurs des os, des muscles, du TC et de nombreux autres tissus

⁸ FARGE, E. Mechanical Induction of Twist in the *Drosophila* Foregut/ Stomodeal Primordium, *Current Biology*, Vol 13, Issue 16, 2003, p. 1365-1377.

⁹ Chez l'Homme, on retrouve un homologue de ce gène qui porte le même nom et qui est impliqué dans le développement de certains cancers

commencent à s'intéresser à la réponse de la cellule à l'application de contraintes prolongées : Matthews *et al.* (2006) ont montré que la cellule se rigidifie au fur et à mesure que des paliers de force lui sont appliqués, et que cette rigidification dépend de la présence d'ATP et de l'action de diverses molécules de signalisation mais aussi du temps d'application de la force. Si une force est appliquée suffisamment longtemps, la cellule est -même en l'absence d'activité de ces molécules- capable de développer un certain renforcement. Cette augmentation de rigidité est à mettre en corrélation avec le renforcement du recrutement du cytosquelette d'actine [Deng *et al.*, 2004 ; Icard-Arcizet *et al.*, 2008]. Ces recherches ont montré que l'application d'une contrainte mécanique prolongée engendrait l'apparition de structures denses d'actine autour des points d'application de la contrainte, et ce de façon croissante avec le temps d'application. L'intensité d'actine est la plus forte dans la zone de plus forte contrainte.

5.2.3.2. Renforcement des adhésions focales

5.2.3.2.1. Scénario de mécano-sensation

La croissance des FA est fonction de la direction de la force appliquée, et l'aire de chaque contact augmente linéairement avec la force appliquée. Une certaine tension interne et/ou une force externe à la cellule est nécessaire pour que des adhésions naissantes mûrissent en FA et la présence de tension externe (force ou rigidité) fait croître la taille des FA et les stabilise par ancrage de plus en plus fort au cytosquelette sous-jacent.

5.2.3.2.2. Intégration des forces au niveau de l'ensemble de la cellule

La transmission des forces au niveau des contacts contrôle la maturation ou le désassemblage des adhésions et initie une cascade de signalisations intracellulaires qui peut aussi bien modifier l'allure de la cellule que son comportement. Ce qui fait qu'en présence d'une force appliquée de l'extérieur, la cellule adapte activement ses structures d'adhésion, réarrange l'organisation de son cytosquelette et modifie l'activité contractile de ce dernier. On comprend alors que la cellule soit capable d'adapter les forces qu'elle exerce à ce qu'elle ressent [Saez *et al.*, 2007] : elle est constamment en train de « palper » son milieu, et se contracte ou se détend en fonction de la rigidité qu'elle rencontre.

5.2.4. La viscoélasticité cellulaire

Les physiiciens considèrent la cellule, pendant la durée des mesures mécaniques effectuées, comme un matériau approximativement « homogène et inerte ». On emploie ici le terme « approximativement » car la cellule est un système hautement hors d'équilibre thermodynamiquement parlant (il y a consommation d'énergie et transformation entre les

différents types d'énergie). Ainsi la qualification de la cellule en tant que matériau « inerte » est imparfaite, cependant, les scientifiques considèrent que les cellules relativement peu motiles, comme le fibroblaste, peuvent être décrites comme « inertes » pendant le temps de leurs mesures qui durent moins de quelques minutes. Quant à la notion d'homogénéité, elle est probablement plus éloignée de la réalité étant donné que la cellule possède des organites présentant des échelles très différentes donc inhomogènes (le noyau -plusieurs μm - a des propriétés mécaniques très différentes du reste du corps cellulaire ; les filaments du cytosquelette forment un réseau de polymères semi-flexibles – de quelques nm de large sur plusieurs μm de long- entouré de liquide cytosolique...). La nécessité de conceptualiser des modèles du comportement cellulaire « oblige » les chercheurs à cette approximation.

5.2.4.1. Quelques notions de viscoélasticité cellulaire : module d'Young E , Fonction de fluage

Pour un solide purement élastique, on définit le module d'Young E [Pa], comme le rapport entre la contrainte appliquée (σ) et la déformation résultante (ε) en géométrie de traction simple : $E = \frac{\sigma}{\varepsilon}$

avec σ en Pa et ε sans dimension ($\varepsilon = \frac{\delta l}{l_0}$, où l_0 est la longueur initiale du matériau et $\delta l = l - l_0$ sa variation de longueur).

Pour un liquide purement visqueux, on définit la viscosité η , comme le rapport entre la contrainte et le taux de déformation associé : $\eta = \frac{\sigma}{\dot{\varepsilon}}$.

Pour définir la relation entre contrainte appliquée et déformation d'un matériau, on peut aussi se placer dans le domaine temporel. Cette relation est définie par la fonction de fluage $J(t)$; c'est une fonction qui permet de connaître la limite d'élasticité du matériau au dessous de laquelle il se déforme de manière irréversible. Comme représenté sur la Figure 7, la fonction de fluage d'un matériau élastique de module d'Young E vaut alors $\frac{1}{E}$; celle d'un fluide visqueux de viscosité η vaut $\frac{t}{\eta}$.

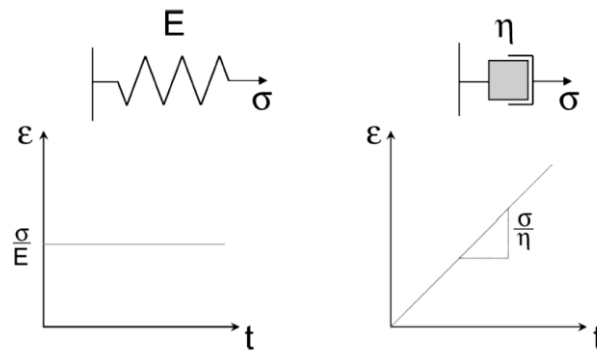


Figure 7 : Représentation de la déformation d'un solide élastique (gauche) et d'un fluide visqueux (droite) en réponse à une contrainte σ constante

Diverses techniques expérimentales témoignent des caractéristiques élastiques et visqueuses des cellules. On les considère comme un solide lorsqu'elles adhèrent à une M.E.C. A l'inverse de la plupart des matériaux conventionnels, les cellules se caractérisent par un comportement mécanique fortement non linéaire c'est-à-dire que leurs modules élastiques dépendent de l'intensité de la force appliquée. Ce comportement a été pour la première fois constaté lors d'une étude sur les fibroblastes [Fernández, 2006], avec l'utilisation d'un système de microplaques (Cf. Figure 8). Une présentation de diverses techniques utilisées pour l'étude du comportement viscoélastique cellulaire est jointe en Annexe 3. Lors de l'application de petites déformations l'effort est proportionnel à la contrainte, la réponse mécanique du fibroblaste est caractéristique d'un régime linéaire. Sous des déformations plus importantes, l'effort augmente plus rapidement avec la contrainte appliquée. Dans ce cas, il s'agit d'un régime non linéaire.

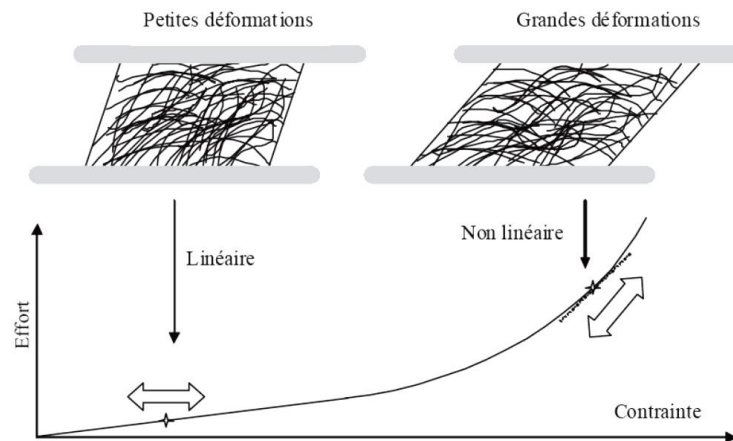


Figure 8 : Evolution de la contrainte appliquée à une cellule en fonction de la déformation imposée. Observation du comportement linéaire de la cellule pour de petites déformations et du comportement non linéaire pour de fortes déformations.

5.2.4.2. Quel(s) modèle(s) viscoélastique(s) pour la cellule ?

Les modèles de la réponse mécanique cellulaire se divisent en différents groupes. Jusqu'à récemment, les chercheurs appliquaient les modèles de la rhéologie¹⁰ à la dynamique cellulaire ; décrivant la cellule comme un matériau viscoélastique simple. Il était admis que certains constituants de la cellule (le cortex d'actine ou les filaments intermédiaires) lui confèrent ses qualités élastiques tandis que d'autres (le cytosol ou les mouvements de coulissement des filaments d'actine les uns par rapport aux autres) lui confèrent son caractère visqueux. C'est pourquoi, de nombreux auteurs ont exploité les relations des milieux viscoélastiques simples pour traduire leurs mesures, puis en tirer des données concrètes tels la viscosité, le module d'élasticité ou la constante de temps. Ces modèles s'inspirant de la rhéologie des matériaux considèrent la cellule soit comme :

- Un matériau fluide viscoélastique selon le modèle de Maxwell : (Figure 9-B) il s'agit de l'association en série d'une composante élastique E (représentée par un ressort) et d'une composante visqueuse η (représentée par un amortisseur) ;
- Un matériau solide viscoélastique selon le modèle de Voigt : (Figure 9-A) il s'agit de l'association en parallèle d'un ressort E et d'un amortisseur η ;
- Ou comme la combinaison des deux modèles précités (Figure 9- C).

¹⁰ Rhéologie : est l'étude de la déformation et de l'écoulement de la matière sous l'effet d'une contrainte appliquée

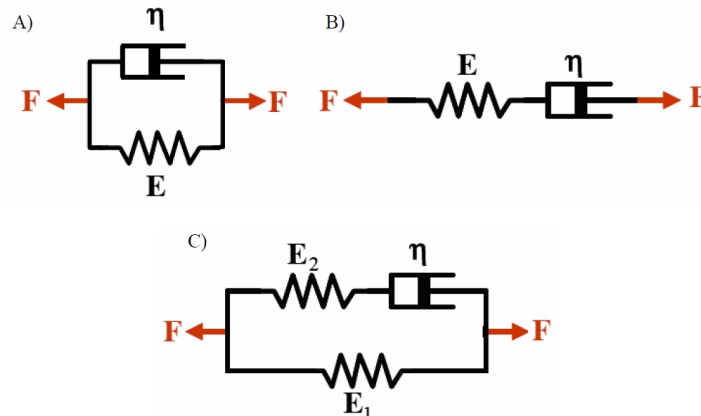


Figure 9 : A) Modèle de Voigt B) Modèle de Maxwell C) Modèle de Kelvin-Voigt La composante visqueuse est représentée par un amortisseur η et les composantes élastiques par des ressorts E.

L'utilisation de ces modèles viscoélastiques était fréquente mais discutée. En effet, l'application de ces modèles n'est que unidimensionnelle et reste donc limitée pour interpréter la réponse mécanique cellulaire. En outre, une des raisons pour lesquelles la cellule n'est pas un pur matériau viscoélastique est l'existence de tensions internes. Celles-ci résultent de l'assemblage des filaments d'actine non pas sous forme de gel mais sous forme de fibres de tension.

A l'heure actuelle, d'autres schémas sont employés dans une approche complémentaire. Les modèles viscoélastiques cellulaires sont regroupés en deux grands types : les modèles comportementaux et les modèles structuraux.

5.2.4.2.1. Les modèles comportementaux

Ces modèles sont les héritiers des modèles viscoélastiques simples. Les chercheurs ont élaboré des représentations plus complexes et aussi plus fidèles à la mécanique cellulaire en régime dynamique. Parmi ces modèles plus pragmatiques, on distingue les modèles de *structural damping* et de *matériaux vitreux mous*. Ce dernier semble être un modèle relativement adapté à la réponse mécanique cellulaire. Les matériaux vitreux mous font partie des mousses, pâtes et émulsions qui se distinguent par leur désordre structural (éléments constitutifs inhomogènes) et l'incessant réarrangement de leurs constituants. On retrouve les mêmes conditions dans le cas du cytosquelette ; ses éléments sont en constante réorganisation en fonction des relations avec la matrice protéique.

5.2.4.2.2. Les modèles structuraux

Depuis les premières expérimentations sur la réponse mécanique cellulaire, dans les années 1980 avec Harris *et al.*, le colossal développement des techniques d'investigations microscopiques a rendu des expériences de nanomanipulations possibles. Les éléments

constitutifs de la cellule ont alors pu être considérés sous trois nouveaux types de représentations :

- Modèles de gels de polymères et de transition de phase : le cytosquelette de la cellule est vu comme un gel dynamique composé de trois réseaux (filaments d'actine, microtubules et filaments intermédiaires) enchevêtrés qui s'assemblent et se désassemblent constamment, capables de supporter des transitions de phase *solide-fluide* ;
- Modèles de mousse : le réseau d'actine est considéré comme une mousse. L'ensemble cellulaire y est décrit comme un réseau interconnecté de barres élastiques qui se courberaient lors d'une déformation ;
- Modèle de tenségrité [De Santis, 2011] ; intègre le cytosquelette sous forme d'une structure réticulée tridimensionnelle en état d'autocontrainte. Cette autocontrainte est la résultante de l'association entre un réseau discontinu d'éléments « barres » comprimés par un réseau continu d'éléments « câbles » prétendus. La tension interne de la cellule est auto équilibrée par la pression des barres rigides, et ce même sans l'application d'une force extérieure. Cette approche est la seule à envisager le cytosquelette sous forme d'une structure tridimensionnelle obtenue par l'assemblage de différents types de filaments. La tenségrité met en évidence que la rigidité dépend des conditions d'effort ; ce qui rejoint la caractéristique de non-linéarité de la mécanique cellulaire. (Cf. paragraphe 5.2.4.1).

Les différents modèles théoriques relatés ici, montrent que l'unanimité quant à une représentation de la mécanique cellulaire n'est pas encore au goût du jour. La dynamique du cytosquelette ainsi que l'intégration de l'ensemble des différents types de filaments constituant le cytosquelette sont des aspects à perfectionner. C'est aussi la spécificité de non-linéarité qui rend la modélisation de la réponse cellulaire complexe. Cependant, la structure de tenségrité développée par Ingber dans le milieu des années 1980, est le concept qui retient le plus l'attention.

5.2.4.3. Influence de l'application d'une force sur les propriétés viscoélastiques des cellules

L'application d'une contrainte au niveau des contacts cellule-M.E.C. entraîne de façon plus globale dans le cytosquelette, une modification de la viscoélasticité permettant finalement à la cellule d'adapter l'ensemble de sa réponse mécanique à son environnement, pour que ses capacités de migration, d'étalement ou de maintien soient toujours assurées même en présence d'un changement mécanique externe.

Récemment, des expérimentations liées au phénomène de « rajeunissement » ont été réalisées. Cet effet est décrit dans la rhéologie des mousses et émulsions : lorsque l'on impose un fort taux de cisaillement à ces matériaux, ils se fluidifient puis récupèrent lentement leurs propriétés viscoélastiques de base. Quand on applique le modèle des

milieux vitreux mous aux cellules, on peut prédire ce phénomène de « rajeunissement ». Les expérimentations confortent les modèles théoriques ; il s'avère que l'application momentanée d'une intense contrainte provoque une « fluidification » de la cellule suivie d'un retour lent vers ses propriétés viscoélastiques antérieures [Bursac *et al.*, 2005 ; Trepap *et al.*, 2007].

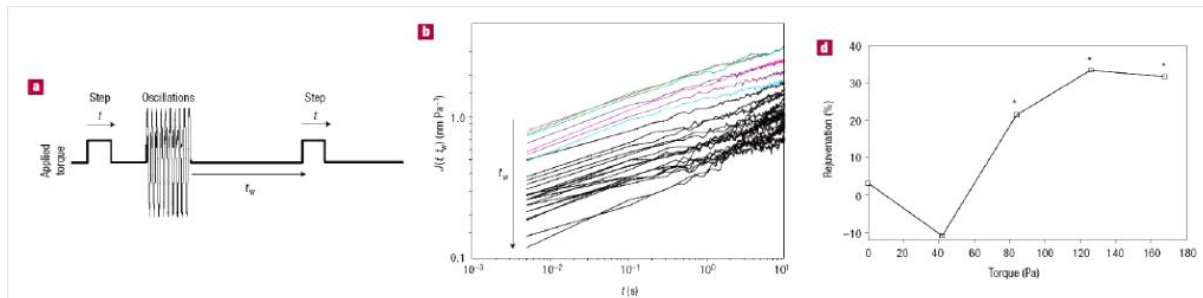


Figure 10 : Expérience de « rajeunissement » sur cellule : (a) principe de l'expérience ; (b) modifications induites sur la fonction de fluage (dans le sens croissant après application de la forte contrainte oscillante : courbes rouge, vert, bleu foncé, rose, violet, bleu clair) ; (c) influence de la valeur de la contrainte oscillante sur le « rajeunissement ». D'après Bursac *et al.*, 2005.

La Figure 10 illustre la modification de la fonction de fluage par l'application d'une « contrainte forte, brève et oscillante » : immédiatement après, la cellule flue¹¹ avec une amplitude plus grande, celle-ci tend à diminuer avec l'augmentation du temps de latence. Il est aussi à noter que le niveau de « rajeunissement » est dépendant de l'amplitude de la contrainte oscillante : la Figure 10-D montre un effet de fluidification grandissant avec la contrainte mais l'inverse à faible contrainte (c'est à dire une rigidification au lieu d'une fluidification). Il apparait ainsi que le niveau de contrainte, ainsi que son application de manière transitoire, jouent un rôle important dans l'influence sur la viscoélasticité des cellules [Trepap *et al.*, 2007]. L'intensité de la contrainte oscillante modifie les interactions dans le cytosquelette ; les jonctions entre les filaments d'actine ainsi que les ancrages entre complexes focaux et filaments d'actine sont partiellement détruits. La constatation d'un phénomène de fluidification après une telle contrainte est alors cohérente.

¹¹ Oscille, se déforme

5.3. Le modèle structural de la tenségrité

Comme cela a déjà été mentionné (Cf. paragraphe 5.2.4.2), les structures de tenségrité ont été proposées comme modèle de l'architecture du cytosquelette et de ses propriétés biomécaniques. Nous allons développer ce concept pour mieux en comprendre les tenants et les aboutissants.

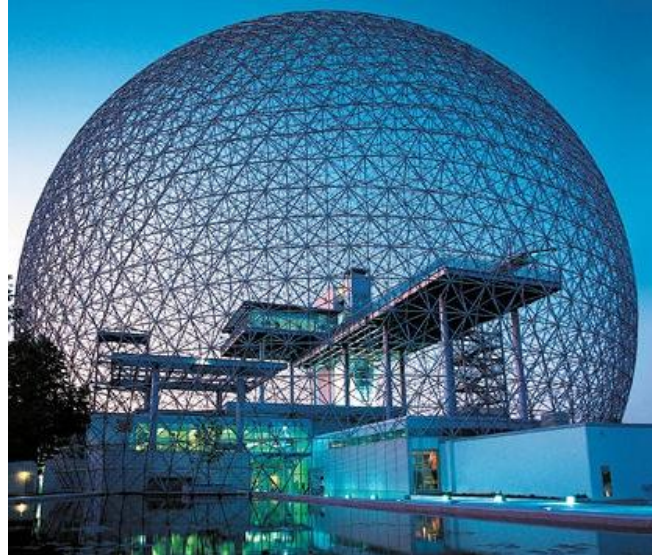
5.3.1. La tenségrité : késaco ?

La tenségrité est avant tout un concept structural élaboré et développé par des précurseurs issus des milieux architectural et artistique. L'architecte américain Richard Buckminster Fuller -célèbre pour ses dômes géodésiques (Cf. Figure 12)- fût le premier - autour des années 1950- à inventer ce concept novateur consistant à alterner des tiges rigides travaillant en compression de manière discontinue avec des éléments élastiques en tension continue (précontrainte). Il s'affranchit ainsi des systèmes traditionnels de type empilement, tributaires d'une compression continue pour garantir leur stabilité. Le terme de tenségrité est un néologisme issu de la contraction de *tension* et *intégrité*, Buckminster Fuller a voulu mettre l'accent sur le fait que les structures de tenségrité voient leur tension préservée indépendamment de l'action de la gravité. La tension produite par l'attraction terrestre est relayée par celle omnidirectionnelle de ses constituants.

Parallèlement, le sculpteur américain Kenneth Snelson donne vie au concept en concevant des créations quasi arachnéennes où les tiges rigides paraissent flotter dans une chrysalide de câbles (Cf. Figure 11).



*Figure 11 : Needle Tower (1968)
Hirshhorn Museum & Sculpture Garden,
Washington par Kenneth Snelson.*



*Figure 12 : Dôme géodésique de la Biosphère
(1967) île Sainte Hélène, Montréal.*

René Motro [Géhin, 2010], chercheur montpelliérain et spécialiste de la tenségrité en nous donne la définition suivante : « *Un système de tenségrité est un système en état d'équilibre stable par lui-même comprenant un ensemble d'éléments en compression discontinue dans un continuum d'éléments prétendus* ».

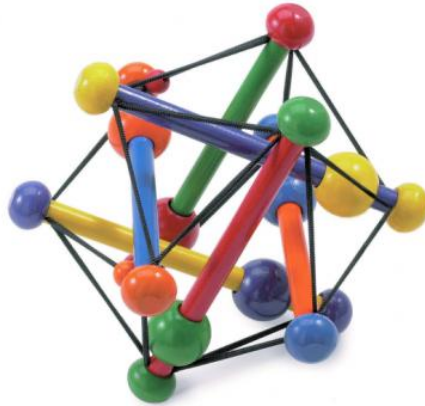


Figure 13 : Jouet pour enfant : icosaèdre ; modèle de tensegrité.

Le modèle de tensegrité possède certains principes qui lui sont inhérents ; voici un extrait du livre de l'ostéopathe Alain Géhin (2010) intitulé *Concept de tensegrité en ostéopathie* et qui reprend ces principes :

« Selon Buckminster-Fuller et Snelson, ses créateurs, la tensegrité nécessite au minimum trois conditions :

1. *Un réseau connectif en tension continue qui maintient des entretoises en compression, qui doivent flotter librement dans ce réseau de tension, sans se toucher.*
2. *Tout système de tensegrité est précontraint en tension, et se maintient de lui-même indépendamment de la gravité. Mais il est certain que le poids de la structure s'ajoute à cette tension, ce qui raidit l'ensemble, et en diminue alors sa taille.*
3. *Les systèmes de tensegrité sont des systèmes entiers, indépendants. Tous leurs composants sont dynamiquement reliés de telle façon que les forces soient transmises partout instantanément. Tout changement dans une de ses parties se répercute dans l'ensemble. »*

5.3.1.1. Courbes de charge

Les études prouvent que les structures de tensegrité ont un comportement élastique et réversible. En effet, la clef de voûte du comportement mécanique d'une structure est sa capacité à se déformer en fonction d'une contrainte donnée ; c'est le comportement élastique. La courbe obtenue par le rapport contrainte/déformation ou module d'Young E est appelée courbe de charge. Pour beaucoup de matériaux comme les métaux ou le verre, cette courbe de charge est une droite ou dit autrement, le module d'Young E est une constante (Cf. Figure 14-A). Ils obéissent à une loi élastique linéaire qui revêt deux aspects primordiaux. La linéarité signifie que l'allongement est proportionnel à la force. L'élasticité

sous-tend que l'effet de la contrainte est réversible, un retour à l'état initial est possible. Cependant, cette loi n'est avérée que sous le seuil de limite d'élasticité au-delà de laquelle on constate le fluage du matériau (c'est-à-dire déformation irréversible du matériau).

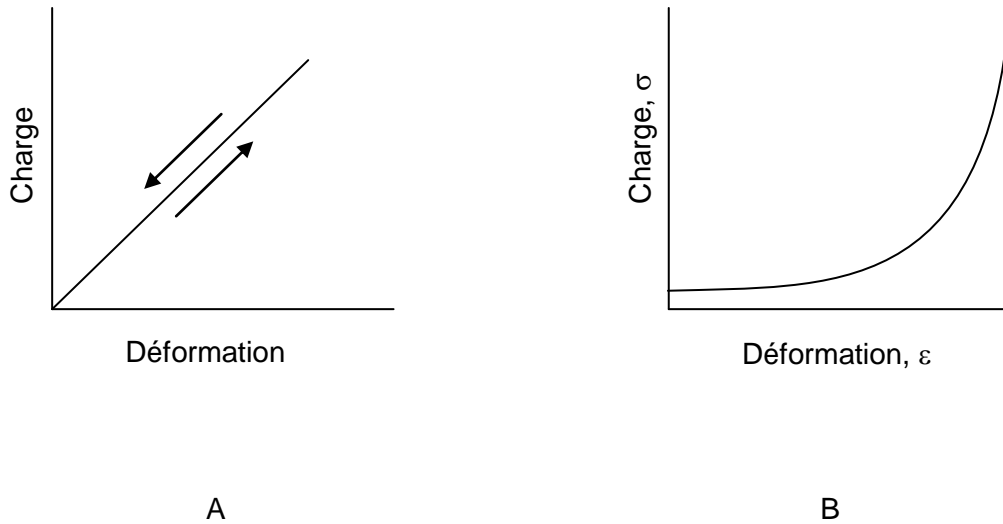


Figure 14 : Courbes de charge. En A, matériau à comportement élastique linéaire et réversible (verre et métaux). En B, courbe en J déformation élastique non linéaire (tissus animaux et modèles de tenségrité), d'après Gordon J.E. (1994).

5.3.1.1.1. Non linéarité

Toutefois, cette loi de proportionnalité ne s'applique pas à tous les matériaux. Les tissus animaux ainsi que les structures de tenségrité comme l'icosaèdre ou des constructions plus complexes [Thoumine, 1995 ; Motro, 2009] se déforment de façon élastique mais ils affichent une relation contrainte/déformation ($\frac{\sigma}{\epsilon}$) non-linéaire : leur courbe de charge est en forme de J (Cf. Figure 14-B).

5.3.1.1.2. Résilience

Qu'est-ce que cela signifie pour un matériau d'avoir une courbe de charge en J ? Au début, une faible contrainte entraîne une déformation importante puis il s'avère difficile même en appliquant une grande force de les déformer davantage [Gordon, 1994]. Le comportement observé à faible contrainte relève de la résilience du matériau qui lui permet d'endosser en son sein la contrainte sans accroître sa résistance. Le point de limite élastique

du matériau est appelé point de résilience¹², il est représenté par un point bleu sur la Figure 15.

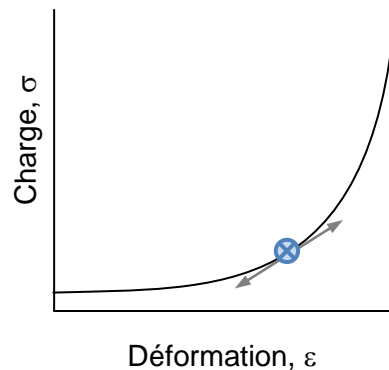


Figure 15 : Courbe charge en J avec la représentation du point de résilience en bleu, la tangente du point d'inflexion de la courbe est symbolisée par la double flèche grise.

5.3.1.1.3. Alignement des composants de la structure

Les expérimentations ont montré que dans les structures comportant un grand nombre d'éléments, un alignement des constituants dans le sens de la force induite peut être observé. [Thoumine, 1995 ; Galli, 2005]. Cette observation peut être mise en rapport avec le même phénomène observé à l'échelle cellulaire : l'anisotropie (Cf. paragraphe 5.2.2.3).

5.3.2. La tenségrité au niveau cellulaire – Donald E. Ingber

Les références bibliographiques principales [Ingber, 1993, 1997, 1998, 2003, 2006 ; Stamenovic & Ingber, 2002] seront mentionnées exclusivement ici mais pourraient l'être tout au long de ce développement.

Donald E. Ingber, professeur de biologie vasculaire à la Harvard Medical School de Boston, eût dans les années 1980, l'intuition que la structuration des êtres vivants était davantage dictée par l'architecture des éléments entre eux que par leur composition chimique. C'est ce qui l'a amené à envisager la tenségrité comme modèle pour la cellule et son cytosquelette. Les cellules réagissent aux stimuli mécaniques en les convertissant en cascades biochimiques ; c'est la mécanotransduction. (Cf. paragraphe 5.2.1)

Lors de diverses expérimentations, les sites d'ancrage d'une cellule à la M.E.C. ont été

¹² La résilience en physique est la capacité d'un matériau à emmagasiner de l'énergie quand il se déforme d'une manière élastique et de libérer cette énergie quand la charge est supprimée.

rendus inefficaces par action enzymatique ; la cellule se détache alors du substrat et prend une forme sphérique. Lors de l'adhésion cellulaire sur des substrats élastiques en silicone, on constate la formation, sur le substrat, de rides de compression (Cf. Figure 16) qui témoignent des forces de rétraction engendrées par la cellule via les sites d'adhésion. Lorsque le substrat est rigide, la rétraction se poursuit jusqu'à ce qu'un état d'équilibre des tensions entre la cellule et la matrice s'établisse.

L'étalement cellulaire découle de la projection de cette précontrainte sur la M.E.C. combinée à une modification du remaniement des forces dans le cytosquelette. Il a été prouvé que ce sont les macromolécules de la M.E.C. qui contribuent à l'étalement cellulaire en résistant à la tension produite par la cellule ; ce qui entraîne une restructuration des éléments du cytosquelette (Cf. Figure 17).

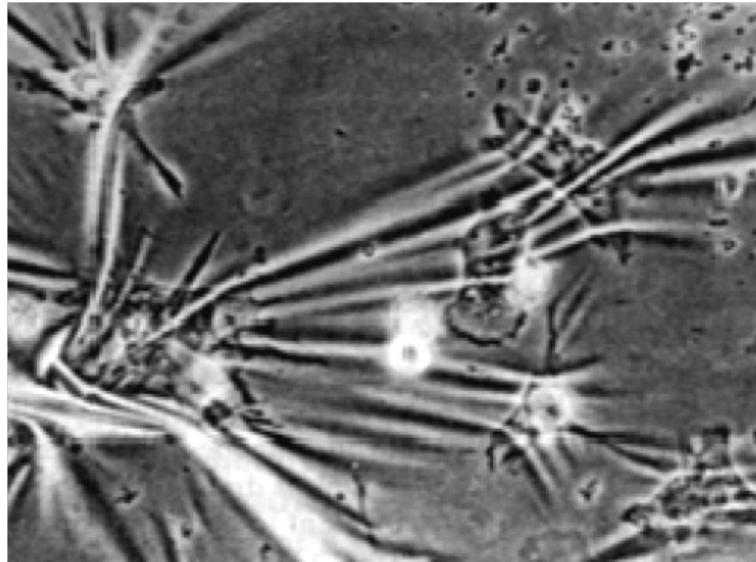


Figure 16 : Visualisation des forces de tension générées par les cellules sur un substrat en silicone. Harris et al. Science, 1980.

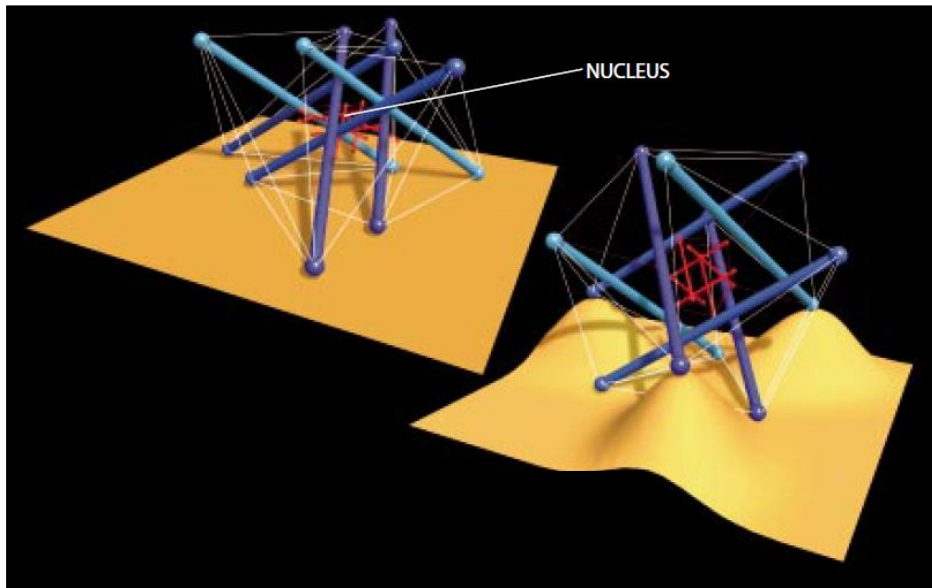


Figure 17 : Modèle de tenségrité pour la cellule. Icosaèdre à 20 faces planes et 20 triangles isocèles. Attaché à un support rigide, le module s'étale. Sur un support malléable, il se rétracte en déformant le support [Ingber D.E. , 1998].

Le cytosquelette n'est donc pas une structure inerte mais produit une tension active de direction centripète. Il est l'acteur principal de la tenségrité cellulaire. Les trois types de filaments -microfilaments, microtubules et filaments intermédiaires- qui le constituent ont été détaillés dans l'Annexe 1.

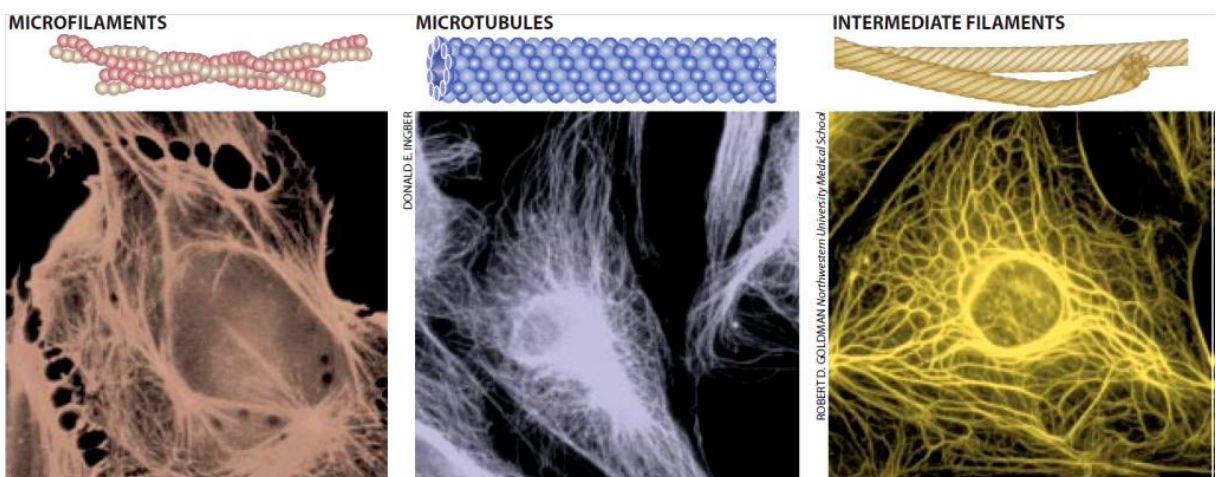


Figure 18 : Filaments du cytosquelette [Ingber D.E., 1998].

Dans le modèle développé par Ingber :

- Les microfilaments et les filaments intermédiaires génèrent les forces de précontraintes dans le cytosquelette ;
- Les microtubules et les adhésions cellules-M.E.C. constituent les éléments structuraux qui résistent en compression ;
- Le moteur contractile actine-myosine produit activement la contrainte prétensionnelle qui stabilise l'ensemble.

La tenségrité, concrétisée par le cordage entre toutes les microstructures, permet de comprendre comment la cellule répond immédiatement aux stimuli mécaniques externes [Fouchard, 2011].

5.3.3. La tenségrité au niveau tissulaire

Des études expérimentales à diverses échelles -de la cellule à des organismes entiers- ont confirmé que l'architecture de nos corps s'assimile à un modèle de tenségrité ; les contraintes mécaniques macroscopiques transitent via la M.E.C. vers les complexes focaux qui physiquement vont marier le cytosquelette contractile à la M.E.C. Ainsi les intégrines présentes dans la grande majorité des tissus constituent des mécanorécepteurs. « *De cette façon, la tenségrité gouverne la façon dont les forces mécaniques influencent la forme et la fonction des cellules vivantes, ce qui concerne tous nos tissus* » [Géhin, 2010].

Dans le corps humain, le tissu conjonctif constitue le système de tension continue tandis que les éléments osseux rigides représentent le système de compression. « *Le corps humain est surtout son système conjonctif [...]. On peut dire que ce sont les os qui flottent dans un réseau du tissu conjonctif* » [Géhin, 2010].

La dissection chirurgicale *in vivo* rend compte de la continuité histologique entre peau, hypoderme, vaisseaux, aponévrose et le muscle ; l'espace est « rempli » par une trame réticulaire élastique d'apparence chaotique mais on retrouve un motif répétitif polyédrique constitué de fibres de collagène, d'élastine et de protéoglycanes (Cf. Figure 19).

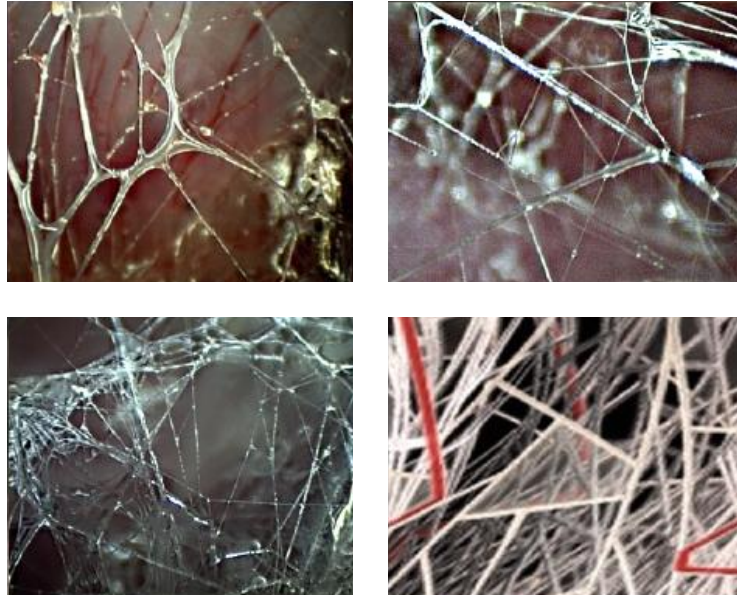


Figure 19 : Observation de la trame conjonctive lors d'une dissection chirurgicale in vivo, d'après Guimberteau J-C (2005).

5.3.4. La biotenségrité appliquée à l'organisme par Stephen Levin

Longtemps, les lois admises pour décrire le fonctionnement mécanique du corps, notamment du rachis, ont été celles des lois du principe mécanique d'empilement, stabilisant la structure en compression par la gravité. Pour Stephen Levin, ces lois classiques de construction ne peuvent être appliquées aux organismes vivants. A l'inverse des constructions et bâtiments, le corps est mobile, composé d'éléments souples et viscoélastiques dont la déformation est non linéaire (courbe de charge en J). Levin affirme que les conséquences des lois « classiques » seraient désastreuses sur le corps donc inadaptées pour les tissus biologiques [Levin, 2002].

Levin opte pour l'application du modèle de tenségrité à l'organisme et le développe en concept de biotenségrité. Dans celui-ci, les composants rigides ne s'appuient pas les uns sur les autres, ils sont plutôt maintenus par les composants élastiques qui eux sont en tension constante préalable. Le tissu conjonctif (ligaments, tendons, fascias..) va répartir les contraintes et chocs mécaniques dans le réseau de tenségrité entier. Plus celui-ci est élastique et équilibré, plus il lui est possible de remplir son rôle physiologique de répartition et d'absorption.

Ainsi, le concept de tenségrité comprend les organismes vivants comme des structures hiérarchisées, des systèmes à l'intérieur de systèmes à l'intérieur de systèmes ... intégrant le modèle de tenségrité à diverses échelles. Une tenségrité fractale.

6. CONFRONTATION DES CONNAISSANCES EN MECANOBIOLOGIE CELLULAIRE ET TENSEGRITE AU CONCEPT STRUCTUREL DE LA LESION

Avant de confronter les éléments développés dans la première partie, il nous faut préalablement expliciter certains concepts théoriques enseignés en ostéopathie structurelle.

6.1. *Le concept théorique de l'Ecole*

Le « Fondamental » de l'ostéopathie structurelle enseigné à l'IFSO Rennes, est une évolution de la Théorie élaborée dès 1967 au « Centre d'Étiopathie Européen de Genève »¹³. Dans notre pratique ostéopathique structurelle, notre approche consiste à rechercher, identifier et traiter une ou des lésions. Notre enseignement est basé sur le postulat suivant: « la structure génère la fonction, il n'y a pas de dysfonction sans altération de la structure ». Pour nous, cela signifie que toute dysfonction se manifestant dans des circonstances considérées comme « ordinaires », sous-tend une altération de la structure. Implicitement, le terme ordinaire exclut toutes situations ingérables par la structure car elles dépassent les limites physiologiques de celle-ci. Ces limites peuvent être d'ordre spatial comme dans le cas d'une fracture ou d'ordre temporel par le non respect du temps de repos essentiel à la structure.

6.1.1. La lésion est incarnée

« Si la structure est saine la fonction qui en découle est normale; si la structure est altérée, il y a dysfonction » [Terramorsi, 1983].

Cela signifie que notre lésion ostéopathique siège au sein de la structure-même et que la dysfonction n'est que le fruit de la modification de cette structure. La dysfonction -ou la maladie- n'est que l'expression à un instant donné de l'état du corps. Notre action thérapeutique cherche à rétablir la structure en lésion et pas uniquement à effacer la dysfonction.

Le corps est un système complexe composé de différents organes, eux-mêmes constitués de tissus dits « nobles » et de tissu conjonctif. Notre investigation manuelle en ostéopathie structurelle cherche à évaluer l'état de la structure en objectivant les qualités mécaniques d'élasticité et de déformabilité du tissu; or ces caractéristiques sont justement conférées par le tissu conjonctif. La lésion est au sein de la structure. La structure en lésion

¹³ TREDANIEL, C. Principes fondamentaux pour une médecine étiopathique. *La Maisnie*, Paris, 1979.

est le tissu conjonctif.

« La définition fonctionnelle de la lésion n'est pas privilégiée car la perte de mobilité n'est pas considérée comme une lésion mais comme sa conséquence. La lésion n'étant pas une perte d'amplitude, le geste thérapeutique ne cherche pas son gain ! Une fois ces lésions installées au sein du tissu, il y a modification des fonctions de ce tissu et de l'organe qu'il constitue. Position apparente, modification de la qualité et de l'amplitude d'un mouvement, réactions musculaires de voisinage sont autant d'éléments qui constituent la définition « fonctionnelle » de la lésion ostéopathique. Pour nous, ces modifications ne sont que l'adaptation de ce qui reste fonctionnel dans le système perturbé par l'altération préalable de la structure. Elles ne peuvent donc pas porter le nom de « lésion ». La lésion tissulaire structurée nous semble la cause des modifications fonctionnelles définies comme des "lésions" ostéopathiques » J-F Terramorsi¹⁴.

6.1.2. Que signifie le terme de lésion ?

Nous considérons que la lésion est une « désorganisation ou altération de la structure fixée dans le temps [...] et représente l'entité essentielle, durable, matérielle du dysfonctionnement et de la maladie » [Lapertosa, 1987].

Lorsque la modification de la structure concerne l'arrangement, l'organisation et la forme de ses constituants -la nature et la composition sont intègres- il y a changement d'état. Nous considérons que ce réarrangement structurel est réversible. A l'IFSO Rennes nous l'appelons d'ailleurs « lésion tissulaire réversible » (L.T.R.). Le tissu possède encore la capacité de retrouver sa disposition et sa fonction antérieures à la lésion.

Lorsque la modification de la structure concerne un changement définitif dans la composition des constituants, il y a changement de nature. La lésion est irréversible avec perte irrémédiable de sa qualité dynamique. Nous l'appelons «lésion tissulaire irréversible». (L.T.I.). Dans ce cas, la structure peut-être usée, cassée ou mal construite or nous, ostéopathes, n'avons pas accès à ce type d'atteintes.

Notre geste thérapeutique structurel s'adresse exclusivement à la lésion tissulaire réversible.

6.1.3. Mode d'installation de la L.T.R.

Comment s'installe cette L.T.R. :

- Chaque individu présente à sa naissance « des capacités maximales vitales qu'il

¹⁴ <http://www.concept-structurel.ch/manipulation.php>

pourrait atteindre, s'il rencontrait en tout temps les conditions idéales dans son environnement » [Lapertosa, 1987]. C'est le Potentiel Vital Original (P.V.O.). Celui-ci est génétiquement programmé, forcément inhérent et variable d'un individu à l'autre.

- Chaque structure possède « une capacité potentielle maximale à un instant donné » [Lapertosa, 1987]; c'est le potentiel vital actualisé (P.V.A.). Celui-ci correspond au P.V.O. auquel on soustrait la somme des phénomènes physiologiques liés au vieillissement (ou P.V.T. pour Potentiel Vital Temporel) et les séquelles irréversibles acquises (les accidents de la vie) . Cette valeur théorique optimale peut être atteinte lorsque les sollicitations par le milieu extérieur sont optimales aussi bien dans l'espace que dans le temps. Il faut cultiver ce potentiel pour accéder à la limite maximale atteignable. Cependant, l'environnement idéal n'existe pas et les sollicitations n'exploitent, la plupart du temps, pas tout le potentiel disponible. Il s'agit d'hypo-sollicitations en deçà du P.V.A.

Dans son cours « Théorie Fondamentale Ostéopathique », Terramorsi J.F. explique que la L.T.R. s'installe toujours suite à une hypo-sollicitation spatio-temporelle par rapport au P.V.A. L'hypo-sollicitation est soit primaire, par carence de l'hygiène de vie (on ne peut exploiter son potentiel au maximum à chaque instant) soit secondaire à un accident de la vie de relation (soit une hyper-sollicitation spatiale ou temporelle). Les hypo-sollicitations induisent des mécanismes biologiques physiologiques. La diminution de la fonction, volontaire ou non, provoque la baisse des besoins énergétiques tissulaires entraînant par là-même la baisse des échanges liquidiens. La diminution de l'eau libre a pour effet d'augmenter la viscosité et ainsi la fixité tissulaire, et d'en réduire le dynamisme. Ces phénomènes ont pour conséquence un changement d'état du tissu conjonctif de la structure incriminée. La structure a perdu sa capacité intégrale de se déformer, la fonction est perturbée. Il y a perte des qualités mécaniques propres à la mobilité au profit de la stabilité. La L.T.R. est ainsi caractérisée par la perte des qualités mécaniques du tissu c'est à dire réduction ou perte en souplesse et élasticité du tissu connectif. La L.T.R. est une altération de la forme de la structure (liée à une modification de l'état) sans changer la nature de celle-ci.

6.1.4. La L.T.R. est « stable » dans le temps

Ces modifications sont physiologiques; elles sont stables dans le temps et ne peuvent s'auto-réduire. Elles se situent dans le champ de la physiologie ; la L.T.R. est spontanément muette et ne s'exprimera que si on la sollicite : elle se situe dans le champ du Domaine de Fonctionnement Fragilisé (D.F.F.). La théorie explicative de la stabilité dans le temps et dans l'espace de la lésion tissulaire réversible est ainsi celle d'un cercle vicieux basé sur des mécanismes biologiques physiologiques. La L.T.R. est réversible mais elle ne l'est pas spontanément.

« Les conditions d'existence de la lésion sont nécessaires et suffisantes pour assurer son maintien dans le temps et dans l'espace : il n'est aucunement besoin de faire intervenir d'autres influences postérieures dans le temps pour justifier sa propre stabilité; les conditions internes sont suffisantes » [Lapertosa, 1987].

La L.T.R. révèle des altérations structurelles -au sein du TC même-, de sa neurologie et de sa vascularisation. Les aspects neurologique et vasculaire ne seront pas développés ici étant donné que le sujet de notre étude se focalise sur l'aspect mécanique de la lésion. Cependant, nous pouvons préciser que la diminution de fonction du TC entraîne une hypo-sollicitation des récepteurs neurologiques ayant pour conséquence l'exclusion fonctionnelle de la structure en lésion. Au niveau vasculaire, l'appauvrissement en stimulations mécaniques et neurologiques induira des modifications du tonus ainsi que du diamètre des vaisseaux.

6.1.5. Le Test de Résistance ou *Slack*

Ces modifications sont objectivables par un test de palpation dit « Test de Résistance » (T.R.). Lorsque le tissu est lésé, on en a la sensation de « gros, dur et sensible » quand on y touche : on interroge le tissu dans son D.F.F. Quelques précisions s'imposent. A la palpation, le thérapeute perçoit des changements quant à la densité du tissu ; le tissu apparaît comme « moins mou » (dur) voire souvent mais pas systématiquement « congestionné » (gros). Le T.R. permet une appréciation fine et précise de la localisation, de la réactivité du tissu quant à l'intensité de stimulation ainsi que la direction de plus grande rigidité du tissu. Une fois la zone circonscrite, le patient confirme la sensibilité de celle-ci sachant que la sensibilité est une notion subjective, dépendante de l'histoire et du vécu de chacun.

6.1.6. Le geste thérapeutique : le *Thrust*

Nous comprenons la lésion comme structurée, incarnée au sein du T.C. Notre geste thérapeutique est la manipulation structurelle. Un stimulus se distingue par sa durée, son intensité et sa localisation. Nous stimulons mécaniquement le tissu en lésion par un geste, qui d'après des critères neurologiques, doit être bref, intensif et isolé. Notre geste doit être informatif et percutant : c'est le *thrust*. Nous nous attendons à ce que cette stimulation mécanique déclenche une cascade de réactions neuro-vasculaires orthosympathiques provoquant un réflexe vasculaire dans le tissu. Notre manipulation doit pour cela être précise, nous essayons autant que cela est possible, d'utiliser des techniques dites directes c'est-à-dire sans bras de levier. Elles ont l'avantage d'être localisées et provoquent un effet réflexe intense. Une technique n'est thérapeutique que si ses paramètres de localisation se calquent aux informations données par le tissu lésé.

6.2. Le modèle théorique de l'École sous l'éclairage des récentes recherches scientifiques

6.2.1. La L.T.R. structurée au sein de la M.E.C. ?

Nous avons décrit dans le paragraphe 5.2.1.3, que des cellules -notamment les fibroblastes- possèdent véritablement « le sens du toucher ». Ainsi, elles ne réagissent pas uniquement à des facteurs chimiques mais elles répondent également aux pressions et aux résistances mécaniques auxquelles elles sont confrontées. Cette sensibilité aux propriétés mécaniques de leur environnement -particulièrement la rigidité des tissus dans lesquels elles baignent- a une incidence directe sur leur survie, leur prolifération mais aussi sur leur différenciation quand il s'agit de cellules encore à l'état indifférencié (Cf. paragraphe 5.2.2.4).

Les biophysiciens constatent une réorganisation interne de l'architecture des fibroblastes en rapport avec la topographie (Cf. paragraphe 5.2.2) des gels dans lesquels ils « baignent ». Les constituants du cytosquelette sont sensibles à l'anisotropie du substrat et s'orientent selon la direction de plus grande rigidité. Ainsi, le comportement et les fonctions cellulaires sont incontestablement dépendants des caractéristiques mécaniques du substrat.

Dans notre modèle théorique de la L.T.R., l'installation d'une lésion réversible au sein du T.C. fait suite à une hyposollicitation spatio-temporelle dont les conséquences physiologiques sont l'augmentation de la viscosité tissulaire par diminution de l'eau libre... aux dépends des phénomènes dynamiques

Confrontant les hypothèses de l'école aux résultats scientifiques précédents, nous pouvons sereinement postuler que la réorganisation réversible caractéristique de la L.T.R. est localisée dans la M.E.C. au sein du T.C.¹⁵.

6.2.2. Interaction structure – formeS – fonction

La pierre angulaire sur laquelle repose notre concept est l'incarnation au sein du tissu conjonctif d'une lésion structurée. Nous soignons la structure même et non la dysfonction. A.T. Still, un des pères fondateurs de l'ostéopathie, a introduit un des principes majeurs de cet art : la relation entre structure et fonction ; « La structure gouverne la fonction ».

La forme de la structure est le reflet de son organisation architecturale intime. L'expression cohérente -en termes de fonction- de la structure traduit directement sa propension à accommoder sa forme. Les articles référencés (sur la mécanotransduction) rapportent que pour proliférer, une cellule adhérente a besoin de se lier à la M.E.C. ; dans ce

¹⁵ Les cellules du T.C. -les fibroblastes- équilibrent leur tension interne à celle perçue dans la M.E.C.

cas elle s'aplatit et enclenche les processus de divisions cellulaires. Quand elle ne peut adhérer, elle s'arrondit et se « suicide » (apoptose).

« La forme du corps est toujours le résultat autant de la fonction que de la structure. On différencie fonction et structure en précisant que la structure est ce qui est relativement constant dans la forme humaine, tandis que la fonction est ce qui peut changer rapidement, mais est immédiatement réversible » [Géhin, 2010].

Vincent Fleury, directeur de recherches en biophysique au CNRS, traite dans son livre de vulgarisation scientifique « Des pieds et des mains » (2003) de la morphogenèse¹⁶ du vivant. En biologie, la chair est désignée par le terme « tissu ». L'Homme est fait de tissus fibrés ; c'est le nappé de fibres qui joue un rôle déterminant dans la forme du vivant. Il explique, par des exemples triviaux rencontrés dans la vie de tous les jours, l'interaction : structure – forme – fonction. Citons un des ses exemples qui illustre parfaitement le propos : « Allons d'abord faire un petit tour ensemble sur une plage. Nous arrivons au soleil avec une petite natte en paille. Nous la déroulons sur le sable, et, dans cette action, sans y prendre garde, nous déroulons devant nous un matériau fibré, dont les fibres, justement, sont la paille même dont est faite notre natte de plage. [...] La paille est rigide dans la direction horizontale, la direction qui s'étale de droite à gauche devant nous, et bien plus molle dans l'autre direction, la direction qui nous fait face, le long de laquelle nous comptons bien nous coucher. La différence entre ces deux directions permet de rouler facilement la natte, pour en faire un rouleau que l'on portera plus aisément. On peut rouler la natte sans difficulté dans la direction horizontale, celle des fibres, mais on ne peut rouler la natte dans l'autre sens, car les fibres sont plus rigides dans la direction longitudinale ».

Ce qui nous induit à penser de manière plus large...

Nous avons décrit que la L.T.R. est une réorganisation autoentretenu de l'architecture intime de la structure, certes réversible mais pas spontanément. Nous avons avancé que la L.T.R. structurée dans le T.C. pourrait se situer plus précisément dans la M.E.C. Ce réarrangement de l'état du tissu est la résultante de carences de sollicitations *prolongées dans le temps*. Peu à peu le gel hydraté de la M.E.C. (P.G., G.A.G.) s'appauvrit en eau libre. La proportion relative de fibres dans la M.E.C. (collagènes, élastine) est alors plus élevée, que celle « en eau ». Or l'hydratation de ces macromolécules tient un rôle crucial dans le maintien de la stabilité des systèmes biologiques. L'étude du comportement viscoélastique des fibres d'élastine et du collagène montre que la réponse aux stimuli mécaniques est directement dépendante de l'état d'hydratation des fibres [Tintard, 2010]. L'élastine possède des propriétés élastiques remarquables. Cette protéine est de par sa composition et son organisation insoluble. Ce serait les interactions hydrophobes entre l'élastine et l'eau qui conditionnent la qualité de la réponse élastique. Plus les modalités de solvation¹⁷ sont

¹⁶ Morphogenèse est l'étude de la genèse des formes.

¹⁷ Propension des molécules du solvant (l'eau) à s'agréger avec les ions du soluté (l'élastine).

réduites, plus l'extensibilité de l'élastine est médiocre ; dans ces conditions, on observe une évolution du comportement de l'élastine de viscoélastique à vitreux donc plus fixé.

Le collagène apporte la « solidité » et la résistance aux tissus. De la même manière que pour l'élastine, lorsque la teneur en eau est diminuée, les expériences mettent en évidence une hausse de la rigidité et une perte de la résilience.

6.2.1. Point de résilience

Le T.R. ou *Slack* s'effectue par le transfert de son centre de gravité dans le sol au travers de la lésion. Le *Slack* permet de trouver les coordonnées G.P.S. de la L.T.R. On obtient celles-ci **dès la première sensation** en **MOI** de tissu « moins mou » (première sensation du D.F.F.). Le *Thrust* en manipulation structurelle directe est inclus dans le *Slack*. D'après la définition de J-F Terramorsi, il n'est pas question d'aller au-delà de la « porte », de dépasser cette première.

Les notions de viscoélasticité cellulaire et de courbe de fluage (développées dans la partie 5.2.4) confrontées à notre Fondamental, nous permettent d'émettre un parallèle entre la première sensation éprouvée du D.F.F. et le point de résilience.

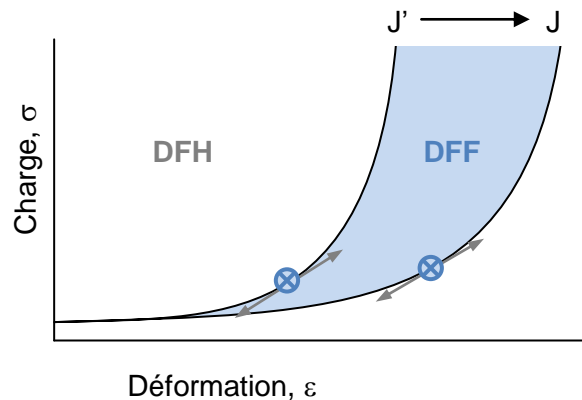


Figure 20 : Courbes de fluage d'un tissu en lésion (J') et d'un tissu de même nature jouissant de sa pleine physiologie (J).

Un tissu en lésion verra sa courbe en J décalée vers la gauche : il acceptera moins de se déformer comparativement à un tissu de même nature pour une même contrainte donnée. En ostéopathie structurelle, nous cherchons à réduire le D.F.F. Idéalement, nous cherchons à rapprocher autant que possible la courbe de fluage du tissu lésé (courbe « J' » sur Figure 20) de celle du tissu disposant de son « entière » physiologie (courbe « J » sur Figure 20).

La première sensation de plus grande rigidité du tissu est en nous, on ne peut pas ressentir l'autre. C'est la différence entre l'autre et nous que nous ressentons en nous-mêmes. Cette première sensation est donc opérateur-dépendant. La maturité gestuelle et la qualité de perception du thérapeute sont autant de paramètres qui jouent sur la localisation du point de résilience sur la courbe en J (Cf. Figure 21).

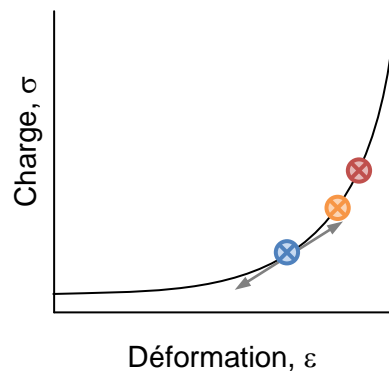





Figure 21 : Courbe de charge en J localisations possibles du point de résilience en fonction de l'expérience du praticien ;

- en  : praticien expérimenté,
- en  : étudiant en 3^{ème} année par exemple,
- en  : praticien débutant.

Plus le thérapeute est averti, plus sa perception de la lésion sera hâtive.

6.2.2. Caractéristiques du stimulus nécessaire à la réversibilité de la rigidité cellulaire

Nous avons décrit plus haut (Cf. paragraphe 6.1.6) que notre geste thérapeutique est « conditionné » par des critères neurologiques : la stimulation se doit d'être brève, intense et isolée. « Pour modifier l'état des Tissus en lésion, il faut solliciter les récepteurs (les récepteurs neurologiques) afin d'obtenir une hypervascularisation temporaire (séquence favorable du processus inflammatoire) » [Terramorsi, 1983]. Les mêmes conditions ont été expérimentalement retrouvées dans des expériences de « fluidification » ou « rajeunissement » cellulaire. Cependant, de récentes découvertes [Mitrossilis, 2009,2010 ; Fouchard *et al.* 2011], les dernières publiées datant de 2011, ont mis en évidence qu'une cellule peut adapter la rigidité de son cytosquelette en moins de 0.1 seconde en réaction à une brusque variation de la raideur environnante...cette réactivité quasi-instantanée est trop rapide pour impliquer des cascades chimiques. Les scientifiques revendiquent l'existence

d'un scénario purement mécanique imputable à l'activité contractile du couple actine-myosine II du cytosquelette de la cellule. Malheureusement, ces expérimentations ne sont pour l'instant praticables que sur des cellules vivantes isolées. Ces conditions particulières ne coïncident donc que partiellement avec les conditions *in vivo*.

7. DISCUSSION

Ce T.E.R. reste un travail exclusivement théorique. L'édification de notre modèle s'échafaude d'après un axiome selon lequel la L.T.R. est structurée au sein du T.C. De ce postulat découlent les spécificités de notre raisonnement ostéopathique ainsi que les caractéristiques de notre geste thérapeutique. Cette définition n'est pas communément partagée par l'ensemble des écoles et courants ostéopathiques, qui avancent des explications de la lésion ostéopathique très éclectiques et proposent des outils thérapeutiques en adéquation avec celles-ci.

Aujourd'hui, l'absence de travaux expérimentaux ostéopathiques spécifiques à ce domaine, nous empêche d'être catégoriques et incontestés quant à la correspondance entre les observations des chercheurs et la réalité des altérations du T.C. hyposollicité. Nous nous voyons dans l'obligation d'extrapoler à notre concept les observations effectuées lors des diverses recherches. D'ailleurs, ce T.E.R. s'appuie en partie sur des résultats de recherches en mécanobiologie effectuées *in vitro* à 2D sur des cellules vivantes isolées. Une partie de ces résultats expérimentaux sont aujourd'hui complétés par des études 3D dont la pratique *in vivo* reste encore ardue. D'ailleurs, même si les modèles en mécanotransduction sont séduisants, le lien précis entre stimuli mécaniques et réponse physiologique n'est pas encore limpide. Les modélisations des comportements mécaniques ne prédisent pas parfaitement les comportements observés expérimentalement. Le seul modèle qui semble le plus fédérer la communauté scientifique est celui de la tenségrité. Ce concept nous permettrait de transcrire le comportement mécanique cellulaire au niveau tissulaire et au niveau de l'organisme.

De plus, les études utilisées dans le cadre de ce T.E.R. sont des expérimentations sur des cellules et non des expériences menées sur la M.E.C. Les réactions cellulaires sont provoquées *via* le substrat. Notre supposition de localisation de la lésion dans la M.E.C. se base sur un raisonnement inductif ; nous n'avons mentionné qu'une seule étude relative au comportement mécanique de la M.E.C.-même. [Tintard, 2010]

8. CONCLUSION – PERSPECTIVES

L'organisme humain fonctionne comme une trame intégrée qui relie les différents organes et systèmes. Le substrat commun à toute la trame est le T.C. qui forme un réseau ubiquitaire d'architecture de tenségrité qui entoure, soutient et relie toutes les unités fonctionnelles de l'organisme, participant de manière importante à son métabolisme. *Le corps est surtout son système conjonctif*. L'importance des inductions mécaniques est aujourd'hui scientifiquement avérée (biochimie intracellulaire, expression génique...). Les facteurs mécaniques tiennent une place centrale dans les échanges dynamiques, constants et réciproques entre structure et fonction.

De nombreuses questions et inconnues subsistent encore. Nous sommes dans l'expectative de nouvelles publications, car tout théorème est dit « vrai »... jusqu'à preuve du contraire. Les prochaines découvertes vont très certainement nous éclairer davantage encore sur les liens intimes entre la mécanobiologie et la pratique ostéopathique. En attendant d'avoir toutes les preuves en main, nous pouvons nous rappeler le crédo de Bruce Lee : « *Le seul critère d'un savoir véritable est son efficacité* ».

9. BIBLIOGRAPHIE

- [1] BISCHOFFS, I.B. SCHWARZ, U.S. Cell organization in soft media due to active mechanosensing. *PNAS*, 2003, Vol 100, p.9274-9279
- [2] BOAL, David H. Mechanics of the Cell. *Cambridge University Press*, 2002, p.30.
- [3] BURSAC, P. *et al.* Cytoskeletal remodelling and slow dynamics in the living cell. *Nature Materials*, 2005, p. 557-561
- [4] DE SANTIS, G. *et al.* How can cells sense the elasticity of a substrate ? An analysis using a cell tensegrity model. *European Cells and Materials*, Vol 22, 2011, p. 202-213
- [5] DENG, L. *et al.* Localized mechanical stress induces time-dependent actin cytoskeletal remodeling and stiffening in cultured airway smooth muscle cells. *Am. J. Physiol. Cell. Physiol.*, 2004, n° 287, p. 440-448
- [6] DISCHER, D. ENGLER, S. SWEENEY, H.L. Matrix elasticity directs stem cell lineage specification. *Cell*, 2006, n°126, p. 677-689
- [7] ENGLER, Adam J, *et al.* Matrix Elasticity Directs Stem Cell Lineage Specification. *Cell*, 2006, n°126, p. 677-689.
- [8] EVEN-RAM, S. ARTYM, V. YAMADA, Kenneth M. Matrix Control of Stem Cell Fate. *Cell*, 2006, n° 126, p. 645-647
- [9] FERNANDEZ, P. BAUSCH, Andreas R. The compaction of gels by cells : a case of collective mechanical activity. *The Royal Society of Chemistry, Integr. Biol.*, 2009, 1, 252-259
- [10] FERNANDEZ, P .PULLARKAT, Pramod A. OTT, A. A master relation defines the nonlinear viscoelasticity of single fibroblasts. *Biophysical Journal*. 2006, n°90, p.3796-3805.
- [11] FOUCHARD, J. MITROSSILIS, D. ASNACIOS, A. Acto-myosin based response to stiffness and rigidity sensing. *Landes Bioscience, Cell Adhesion and Migration*, Vol 5 Issue 1, 2011,p. 16-19
- [12] GALLI, C. *et al.* Life on the wire : on tensegrity and force balance in cells. *Acta Bio Med*, 2005, n° 76, p. 5-12
- [13] GEHIN, A. Concept de tenségrité en ostéopathie. *Sauramps Medical*, 2010, ISBN : 9-782-84023-685-6
- [14] GHIBAUDO, M. *et al.* Mechanics of cell spreading within 3D-micropatterned environments. *The Royal Society of Chemistry*, 2010.
- [15] GORDON, J-E. Structures et matériaux. *Pour la Science*, Paris 1994. ISBN : 2-9029-1882-8
- [16] GUIMBERTEAU, J-C., *et al.* Introduction à la connaissance du glissement des

structures sous-cutanées humaines. *ELSEVIER, Annales de chirurgie plastique esthetique*, 2005, 50, p. 19-34

[17] HERSEN, P. LADOUX, B. Push it, Pull it. *Nature*, 2011, n° 470, p. 340-341

[18] ICARD-ARCIZET, D. *et al.* Cell stiffening in response to external stress is correlated to actin recruitment. *Biophys. J.*, 2008, n°94

[19] INGBER, Donald E. The Architecture of Life. *Scientific American Magazin*, 1998, p.48-57

[20] INGBER, Donald E. Tensegrity I. Cell structure and hierarchical systems biology. *Journal of Cell Science*, 2003, n° 116, p.1157-1173.

[21] INGBER, Donald E. Tensegrity II. How structural networks influence cellular information processing networks. *Journal of Cell Science*, 2003, n° 116, p.1397-1408.

[22] INGBER, Donald E. Tensegrity : the architectural basis of cellular govern the cytoskeleton. *Journal of Science*, 1993, n°104, p. 613-627

[24] INGBER, Donald E. Cellular mechanotransduction : putting all the pieces together again. *The Faseb Journal*, Vol 20, n°7, 2006, p. 7811-7827

[25] ISABEY, D. Biomécanique cellulaire et son interet dans l'étude des interactions entre la cellule et son micro-environnement. *UMR 841 Inserm et University Paris 12, Faculté de Médecine, Créteil – France*.2008

[26] KORR, I. Bases physiologiques de l'ostéopathie. *Editions Frison-Roche* , 2009, ISBN : 2-87671-145-1

[27] LAPERTOSA, G. Quelle médecine? Les médecines dans le monde. *La médecine manipulative. Etiosciences*, 1987.229p.

[28] LEE, J. S. *et al.* Ballistic intracellular nanorheology reveals Roch-hard cytoplasmic stiffening response to fluid flow. *Journal of Cell Science*, 2006, n° 119, p. 1760-1768

[29] LEVIN, S.M. The tensegrity truss, as a model for spine mechanics : biotensegrity. *Journal of Mechanics in Medecine and Biology*, Vol.2, n°3, 2002, p.375-388

[30] LO, C. *et al.* Cell movement is guided by the rigidity of the substrate. *Biophysique*, 2000, n° 79, p. 144-152

[31] MATTHEWS, Benjamin D. *et al.* Cellular adaptation to mechanical stress : role of integrins, Rho, cytoskeletal tension and mechanosensitive ion channels. *Journal of Cell Science*, 2006, n° 119, p. 508-519

[32] MEGRET, J.F. La tenségrité, vers une biomécanique ostéopathique. *Mémoire de fin d'études en ostéopathie*. Collège ostéopathique de Montpellier. Soutenu le 14 juin 2003

[33] MITROSSILIS, D. *et al.* Real-time single-cell response to stiffness. *PNAS*, Vol 107, n°38, 2010, p. 16518-16523

- [34] MITROSSILIS, D. *et al.* Single-cell response to stiffness exhibits muscle-like behavior. *PNAS*, Vol 106, n°43, 2009, p. 18243-18248
- [35] MOTRO, R. CANADAS, P. MAURIN, B. Mécanique des systèmes précontraints appliquée à la structure du cytosquelette. *19^{ème} Congrès français de mécanique*, Marseille, 24-28 août 2009
- [36] NICOLAS, A. L'adhésion cellulaire, une sonde de l'environnement mécanique dans les tissus. *Images de la physique CNRS* [en ligne], 2007, Biophysique. [consulté le 01/02/2011].
http://www.cnrs.fr/publications/imagesdelaphysique/couv-PDF/IdP2007/14_Nicolas.pdf
- [37] PELHAM, Jr Robert J. WANG, Y. Cell locomotion and focal adhesions are regulated by substrate flexibility. *PNAS*, 1997, n° 25, Vol 94, p. 13661-13665
- [38] PISCHINGER, A. *The Extracellular Matrix and Ground Regulation*, North Atlantic Books, 2007, 232p.
- [39] SAEZ, A. *et al.* Les cellules vivantes répondent à la rigidité de leur substrat. *Images de la physique CNRS* [en ligne], 2007, Biophysique. [consulté le 01/02/2011].
http://www.cnrs.fr/publications/imagesdelaphysique/couv-PDF/IdP2007/15_Saez.pdf
- [40] SAFRAN, S. A. *et al.* Physics of cell elasticity, shape and adhesion. *ELSEVIER, Physica*, 2005, n 352, p.171-201
- [41] STAMENOVIC, D. et INGBER, Donald E. Models of cytoskeletal mechanics of adherent cells. *Biomechanics and Modeling in Mechanobiology*, n° 75, 2002, p.95-108
- [42] STOLZ, J.F. et WANG X. De la biomécanique à la mécanobiologie. *XVème Congrès Français de Mécanique*. Nancy, 3-7 septembre 2001.
- [43] TAN John L. *et al.* Cells lying on a bed of microneedles : an approach to isolate mechanical force. *PNAS*, 2003, n°4, Vol 100, p. 1484-1489
- [44] TERRAMORSI J.F. Manipulations articulaires et viscérales : principes fondamentaux, réalités concrètes des différents types de lésions, fondements raisonnés et pratiques de leurs techniques de réduction. Paris : *Inter Création*.1983.156p.
- [45] TINTARD, D. Etude de la dynamique de chaîne de protéines de la matrice extracellulaire par spectroscopies mécanique et diélectrique. *Thèse de doctorat, Université Toulouse III – Paul Sabatier*, 2010
- [46] THOUMINE, O. *et al.* Elongation of confluent endothelial cells in culture : the importance of fields of force in the associated alterations of their cytoskeletal structure. *Experimental Cell Research.*, 1995, n°219, p. 427-441
- [47] TREPAT, X. *et al.* Universal physical responses to stretch in the living cell. *Nature*, n° 447, 2007, p. 592-595

[48] WANG, H. B. *et al.* Focal adhesion kinase is involved in mechanosensing during fibroblast migration. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2001, n° 98, Vol 20, p. 11295-11300

[49] YEUNG, T. *et al.* Effects of substrate stiffness on cell morphology, cytoskeletal structure and adhesion. *Cell Motility and the Cytoskeleton*, 2005, n°60, p.24-34

[50] <http://www.biotensegrity.com> consulté le [06/03/2011]

10. ANNEXES

10.1. Annexe 1 : Courrier International n°1012 du 25 au 31 mars 2010.



Figure 22 : Couverture du magazine hebdomadaire « Courrier International » - n° 1012 du 25 au 31 mars 2010

Nos cellules ont-elles le sens du toucher ?

BIOLOGIE • La spécialisation des cellules dépendrait des effets mécaniques qu'elles subissent dès leur formation.

NEW SCIENTIST (extraits)
Londres

Lorsque votre vie a commencé, vous n'étiez qu'une toute petite cellule. Et, à présent, vous êtes constitué de milliards de milliards de cellules de types très différents. Mais le plus stupéfiant, c'est encore que, globalement, toutes vos cellules savent – au moment de leur constitution – ce qu'elles doivent devenir : de la peau, de l'os ou autre chose. Certes, mais comment peuvent-elles le savoir ?

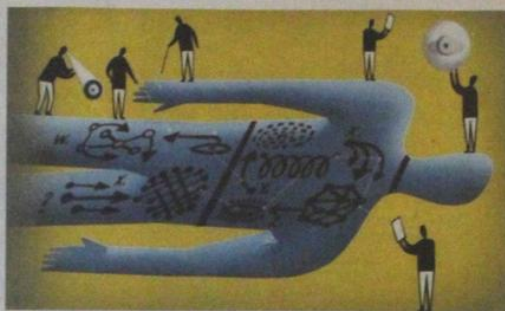
“Les cellules n'ont pas d'yeux ni d'oreilles”, rappelle Dennis Discher, biophysicien à l'université de Pennsylvanie, à Philadelphie. Récemment encore, la science se focalisait sur l’“odorat” des cellules, c'est-à-dire sur la manière dont elles répondent aux signaux chimiques tels que les facteurs de croissance. Mais, ces dernières années, les chercheurs se sont aperçus que le sens du toucher était également vital pour elles, puisqu'il leur permet de comprendre où elles sont et ce qu'elles doivent faire. Par exemple, si vous exposez des cellules souches à un flux liquide, elles se différencieront en vaisseaux sanguins.

Nous avons aujourd'hui une image bien plus dynamique de la croissance et du développement de l'organisme, périodes durant lesquelles les interactions entre nos cellules, nos gènes et l'ensemble de notre corps jouent un rôle fondamental. A mesure que les nouvelles techniques d'analyse se répandent, biologistes, médecins et spécialistes de l'ingénierie tissulaire commencent à réaliser que certaines forces physiques conditionnent le comportement des cellules.

C'est grâce à la microscopie à force atomique [qui permet d'analyser la surface d'un échantillon] que Dennis Discher et ses collègues sont parvenus à évaluer la rigidité de plusieurs tissus

► *Dessin paru dans The Economist, Londres.*

■ **Cancers**
La plupart des tumeurs sont des structures plus rigides que les tissus au sein desquels elles se forment. Mais certains chercheurs pensent que la rigidité des tissus pourrait ne pas être qu'une conséquence des cancers : elle serait aussi une de leurs causes. L'équipe de Paul Janmey, de l'université de Pennsylvanie à Philadelphie (Etats-Unis), a en effet découvert que le cycle de division des cellules mammaires s'arrêtait quand on les mettait en culture sur un milieu mou. Mais le moindre signe de rigidité, comme toucher simplement les cellules avec une sonde, enclenchait à nouveau leur division et donc leur prolifération.



organiques. Ils ont effectué les mêmes mesures sur différents types de gel utilisés pour la culture de cellules. Ils ont ensuite mis en culture des cellules souches mésenchymateuses humaines – les précurseurs des os, des muscles et de nombreux autres tissus – sur ces supports en gel. Résultat : les cellules ont évolué pour former le type de tissu dont la texture correspondait le plus à la rigidité du gel sur lequel elles avaient été cultivées.

Aussi flasques que des tissus cérébraux, les gels les plus mous ont engendré des cellules nerveuses. En revanche, sur des gels dix fois plus fermes, ce sont des cellules musculaires qui se sont développées. Et des gels encore plus durs ont donné de la matière osseuse. “Ce qui est surprenant, ce n'est pas qu'il y ait une différence de rigidité entre les tissus”, rappelle Dennis Discher, mais c'est que les cellules elles-mêmes perçoivent cette différence.” Les changements de tension superficielle – comme les variations de rigidité de la matrice extracellulaire [le milieu dans lequel “baignent” nos cellules] ou les contractions lors des mouvements musculaires quotidiens – sont transmis à l'intérieur de la cellule et à son noyau, où ils peuvent influencer le devenir de la cellule.

Des mouvements pulsatiles peuvent même aider à soigner des blessures. A Harvard, Donald Ingber et son collègue Dennis Orgill traitent

des patients présentant des blessures qui ont du mal à guérir. Ils y implantent une petite éponge connectée à une pompe. Les cellules entourant la blessure sont alternativement aspirées, puis rejetées par les pores, ce qui les déforme d'environ 15 à 20 % – un stimulus idéal pour inciter les cellules à se développer et à se différencier en vaisseaux sanguins, ce qui permet d'accélérer la guérison.

UNE PISTE POUR COMPRENDRE LA RÉGÉNÉRATION CELLULAIRE

Récemment, Clark Hung, spécialiste en biomédecine à l'université Columbia, à New York, est parvenu à produire un cartilage aussi solide que le cartilage humain. Son secret ? Presser à intervalles réguliers le matériau biologique pendant qu'il se développe, pour imiter la pression exercée par la marche. L'équipe de recherche espère pouvoir utiliser à terme ce cartilage artificiel pour retapisser les articulations de patients atteints d'arthrose.

Les forces mécaniques et physiques auraient donc une grande influence sur le développement des cellules. Ce pourrait être une très bonne nouvelle pour les chercheurs en ingénierie tissulaire : au lieu d'essayer de piloter à l'échelle microscopique le processus de production d'un nouvel organe, les scientifiques n'auraient plus qu'à envoyer les bons signaux mécaniques aux cellules et à les laisser faire le reste.

Revers de la médaille, lorsqu'une maladie ou une blessure modifie la rigidité d'un tissu, les choses peuvent aussi mal tourner. Selon plusieurs chercheurs, le raidissement de nos tissus pourrait être en partie responsable de certains cancers et des maladies neurologiques caractérisées par une destruction de la myéline (scléroses), l'enveloppe protectrice des nerfs. Il pourrait expliquer par ailleurs pourquoi de nombreuses blessures ne cicatrisent pas parfaitement. En effet, pour prévenir les infections, l'organisme doit colmater les plaies le plus vite possible. Il utilise alors une forme de collagène [une protéine que l'on trouve dans une grande partie de nos tissus et qui joue un rôle d'armature] plus facile à assembler, mais aussi plus rigide que le collagène normal – il suffit de toucher une grande cicatrice pour s'en convaincre.

Après un infarctus, par exemple, la portion morte du myocarde, le muscle cardiaque, cicatrise. Pourquoi ce tissu cicatriciel n'est-il pas remplacé par de nouvelles cellules cardiaques ? Pour tenter de répondre à cette question, Dennis Discher et ses collègues ont cultivé des cellules cardiaques embryonnaires sur des matrices de différentes rigidités. Lorsque la matrice est plutôt souple, comme le muscle cardiaque, les cellules croissent normalement et battent allègrement. Mais, lorsqu'elle est dure comme un tissu cicatriciel, les cellules ne se développent pas et s'arrêtent progressivement de battre. Dennis Discher pense que les cellules s'épuisent à tenter en vain d'assouplir la matrice. “C'est comme pousser contre un mur de briques. Elles finissent par abandonner.” Selon lui, dans le cas d'une crise cardiaque, la solution pourrait consister à atténuer les cicatrices afin que les cellules saines puissent recoloniser le cœur.

Nous sommes encore très loin de comprendre parfaitement comment les cellules perçoivent les forces mécaniques qu'elles subissent et comment elles y réagissent. Toujours est-il que cette approche tactile pourrait bien nous livrer le secret de la régénération du corps humain. **Bob Homes**

Figure 23 : « Nos cellules ont-elles le sens du toucher? » par Bob Homes *Courrier International*, 2010, n°1012, p.60

10.2. Annexe 2 : Les acteurs histologiques des propriétés mécaniques des TC

Il est à noter que le but de cette annexe n'est pas d'aboutir à un cours magistral de biologie cellulaire indigeste et soporifique mais plutôt de mettre l'accent sur les structures histologiques et cytologiques qui confèrent les propriétés mécaniques aux cellules adhérentes et à leur matrice. En effet, les mécanismes biomécaniques des tissus vont être décortiqués dans la première partie de ce travail, quelques explications s'avèrent donc utiles afin que les lecteurs ne se trouvent pas complètement dépourvus en cours de lecture.

Un grand nombre de processus nécessaires à la vie des cellules et au développement

des tissus dépend de leur capacité à se déformer, à transmettre des forces, ou à effectuer des mouvements coordonnés ou dirigés. Cela est rendu possible, d'une part grâce au réseau dynamique de protéines en constante réorganisation qui constitue l'architecture caractéristique des cellules eucaryotes : le cytosquelette; et d'autre part grâce aux molécules qui maintiennent les cellules en contact avec leur substrat : les protéines d'adhérences. Le cytosquelette et les protéines d'adhérence sont d'ailleurs en subtile et constante interaction.

Le Tissu Conjonctif, ou plus justement, les Tissus conjonctifs

D'un point de vue étymologique, le terme tissu provient du latin *texere*, qui signifie tisser, entrelacer régulièrement des fils. Quant au terme conjonctif, il est également issu du latin *conjunctus*, de *conjungere* pour unir, joindre. Le TC est, avec le tissu musculaire, le plus abondant et le plus répandu dans l'organisme. C'est un tissu qui procure un soutien au corps, unit les organes entre eux et permet la mobilité. On le cantonne souvent de manière dépréciative à sa fonction de tissu dit de « remplissage ». Le TC peut être vu comme une trame fibreuse ubiquitaire.

Le dénominateur commun à tous les TC est la présence de cellules éparses, non jointives, dans une matrice extracellulaire (M.E.C.), elle-même composée de fibres et de substance fondamentale.

Les cellules conjonctives sont au contact de vaisseaux (sanguins et lymphatiques) et de nerfs.

En histologie, on classifie les T.C. en :

- T.C. commun selon le rapport Cellules (Fibroblastes) sur M.E.C. et la qualité de la M.E.C., on distingue : le T.C. lâche, le T.C. réticulé, le T.C. dense ou fibreux, le T.C. élastique ;
- T.C. spécialisé dans lesquels les fibroblastes se sont différenciés en ostéocytes, chondrocytes, adipocytes ; on distingue : le Tissu osseux, le Tissu cartilagineux, le Tissu adipeux.

10.2.1. Organisation des cellules du Tissu Conjonctif (T.C.)

Dans le T.C., on distingue deux types de populations cellulaires :

- Une «population permanente» qui contient les cellules propres au tissu, reliées au réseau matriciel à savoir: fibroblastes/ fibrocytes¹⁸ et les cellules adipeuses ;

¹⁸ Le suffixe –blaste signifie que la cellule est en activité de type prolifération ou multiplication alors que le suffixe –cyte lui exprime l'état quiescent de la cellule

- Une «population transitoire» de cellules libres, à présence variable; il s'agit de cellules à vocation immunitaire: macrophages, lymphocytes, mastocytes...qui peuvent passer dans le tissu sanguin.

Nous ne détaillerons ici que les caractéristiques des fibroblastes, lignée cellulaire majoritairement utilisée dans les recherches dont il sera question dans la première partie de ce TER, au risque de «déraper» en cours magistral d'histologie, ce qui ne manquerait sûrement pas d'ennuyer nos lecteurs...

10.2.1.1. Les cellules du T.C. en « guest star » : les fibroblastes

Les fibroblastes sont les cellules principales du T.C. Ils proviennent de cellules embryonnaires mésenchymateuses multipotentes¹⁹, qui sont également à l'origine des adipoblastes, des chondroblastes, des ostéoblastes et des myoblastes.

Les fibroblastes d'allure étoilée émettent de nombreux prolongements cytoplasmiques – ou pseudopodes- en contact avec ceux des fibroblastes voisins et les fibres matricielles de collagène ou d'élastine de la M.E.C. Les fibroblastes appartiennent à la famille des cellules dites «adhérentes » à un substrat - en l'occurrence la M.E.C. - en opposition aux cellules dites «libres», circulantes, mentionnées plus haut.

Comme toutes les cellules eucaryotes, les fibroblastes possèdent: un noyau, un cytoplasme et une membrane cytoplasmique. On retrouve dans leur cytoplasme tous les organites cellulaires communs aux cellules animales (appareil de Golgi, REG,...) impliqués dans la synthèse des constituants de la M.E.C., notamment les macromolécules protéiques et polysacchariques (pro-collagène et pro-élastine) ainsi que de nombreuses autres molécules solubles (cytokines, facteurs de croissance, enzymes) qui jouent un rôle primordial dans les processus de réparation tissulaire ou dans l'entretien des réactions inflammatoires (Cf. Figure 24).

Et enfin, insistons sur un détail (qui n'en est pas un...) et gardons à l'esprit que les fibroblastes sont des cellules **mobiles**: 5µm/h (tout de même !), elles ont notamment la capacité de réparer les tissus en migrant jusqu'à la blessure mais vous verrez par la suite, que cette information a également son importance pour d'autres raisons. Les chercheurs utilisent justement cette propriété des fibroblastes pour étudier leur comportement mécanique par rapport au substrat en l'occurrence la M.E.C.

¹⁹ Il s'agit de cellules embryonnaires qui ont encore la capacité de se différencier en plusieurs types cellulaires.

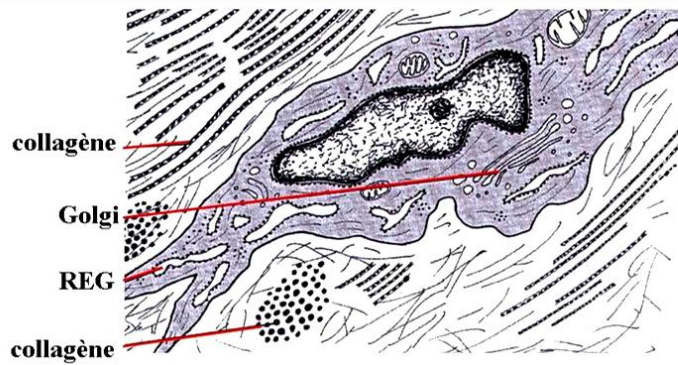


Figure 24 : Le fibroblaste et ses composants [4].

10.2.1.2. La membrane cytoplasmique : lien entre la cellule et son environnement

La membrane plasmique est une bicouche lipidique hydrophobe délimitant la cellule et fondamentale pour son fonctionnement, et ce à plusieurs titres.

On trouve, enclavées dans la membrane des protéines qui assurent des fonctions de reconnaissance de signaux biochimiques. Certaines de ces protéines traversent la membrane de part en part, elles sont qualifiées de transmembranaires (intégrines). Elles ont la capacité sur leur domaine extracellulaire, de se lier à certaines molécules spécifiques, activant ainsi leur domaine intracellulaire pour agir sur des protéines cytosoliques cibles (Cf. Figure 25). Cette transduction de signal permet aux cellules de répondre aux diverses sollicitations par leur environnement. On peut qualifier cette membrane plasmique de structure dynamique et fluide.

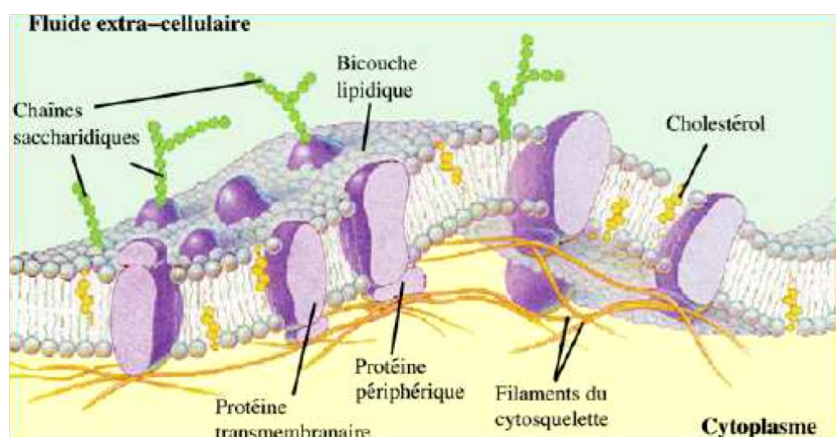


Figure 25 : Schéma de membrane cellulaire avec ses composants lipidiques et les protéines qui y sont enchâssées.

10.2.1.3. Le Cytosquelette : un réseau de polymères enchevêtrés et réticulés

Cependant, ce n'est pas la membrane cytoplasmique, complètement fluide, qui donne à la cellule sa forme et sa résistance mécanique. Le cytoplasme abrite en son sein, en dehors des organites cellulaires habituels, une véritable architecture de polymères réticulés qui forment le cytosquelette (composant caractéristique des cellules eucaryotes) et des complexes d'adhésion. Cet enchevêtrement filamentaire regroupe en réalité trois réseaux distincts de protéines: le réseau d'actine, les microtubules et les filaments intermédiaires (Cf. Figure 26 et Figure 27).

Ils sous-tendent et organisent l'architecture interne de la cellule.

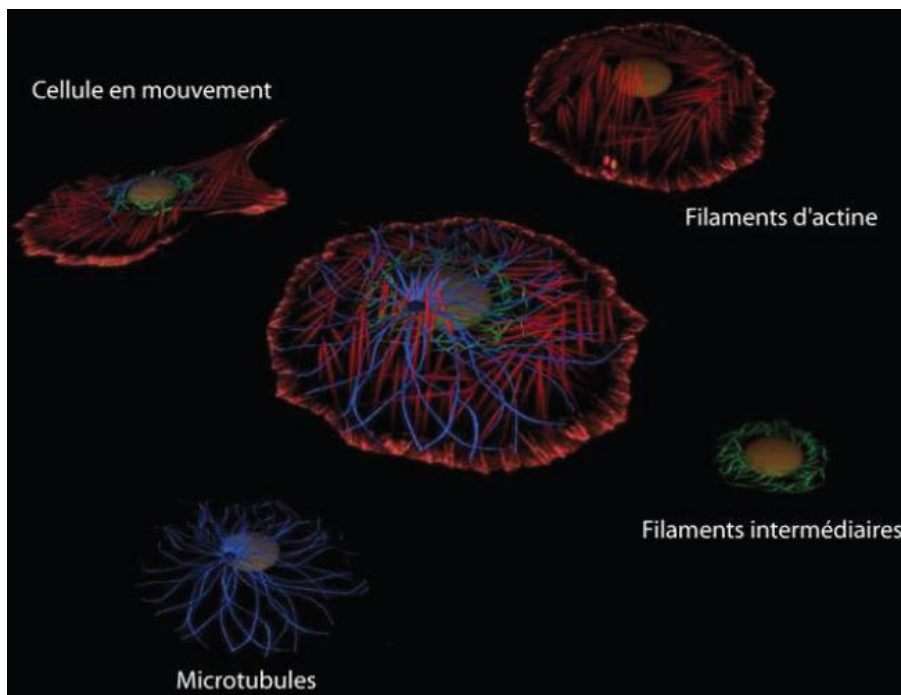


Figure 26 : Agencement des trois cytosquelettes dans la cellule : filaments d'actine (en rouge), microtubules (en bleu) et filaments intermédiaires (en vert). [Muller,J]

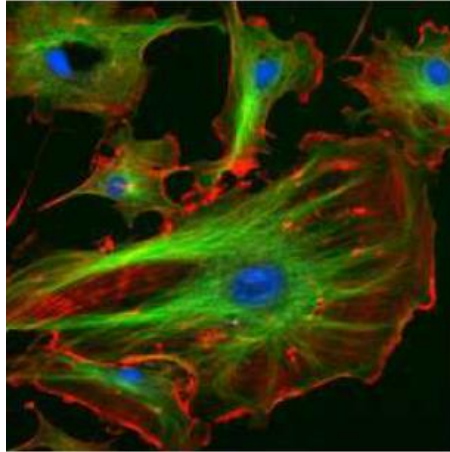


Figure 27 : Cliché en épifluorescence de cellule marquée ; ADN (en bleu), F-actine (en rouge) et microtubules (en vert).

10.2.1.3.1. Les microfilaments d'actine : Fibres de stress / Actine corticale / Filopodes

Dans la cellule, on trouve l'actine sous deux formes. La première est le monomère d'actine globulaire ou actine-G. La seconde est sous forme de filaments polaires ou encore actine-F. C'est la polymérisation²⁰ des monomères d'actine-G qui permet la formation hélicoïdale en filaments d'actine-F. Ces filaments sont polarisés; les constantes d'association et de dissociation des monomères d'actine-G sont différentes aux deux extrémités du filament d'actine-F. On distingue l'extrémité (+) ou «barbée» où prédomine la polymérisation, la croissance et l'extrémité (-) ou «pointue» où prime la dépolymérisation. La vitesse de polymérisation est presque 10 fois plus élevée que la vitesse de dépolymérisation. Le processus polymérisation/dépolymérisation de l'actine permet un mouvement global du filament (Cf. Figure 28).

20 La polymérisation est le processus chimique qui aboutit à la synthèse d'une macromolécule à partir de petites molécules identiques (monomères)

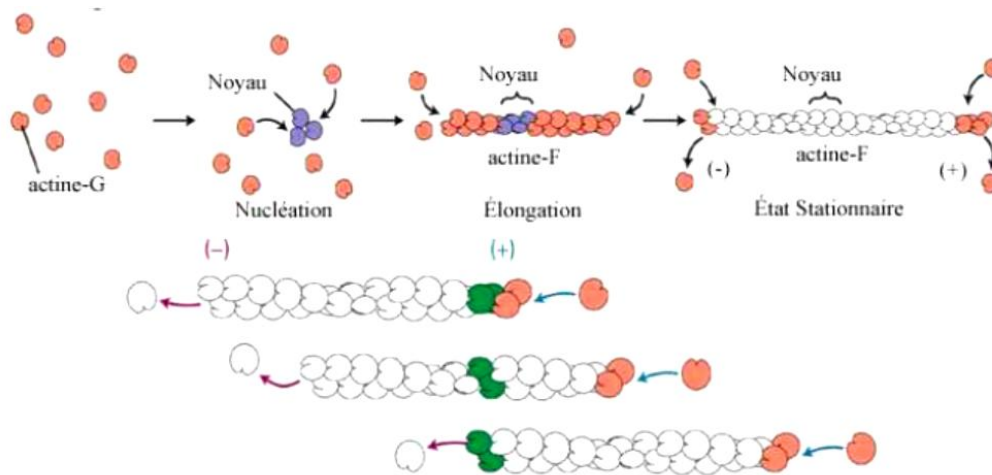


Figure 28 : La nucléation et la polymérisation d'un filament d'actine, les monomères sont incorporés au bout « + » et sont libérés du bout « - » ce qui cause un déplacement global du filament, ici vers la droite [d'après Lodish et al., *Molecular Cell Biology*, 5th Edition, 2003].

Ainsi le réseau d'actine est à la base des propriétés dynamiques des cellules. *In vivo*, on constate que des filaments d'actine isolés s'assemblent en superstructures d'actine et selon les protéines qui se lient à eux, on distinguera deux types d'organisations des réseaux d'actine avec des propriétés physiologiques différentes (Cf. Figure 29):

- Organisation des filaments d'actine en faisceaux parallèles, contractiles : les *fibres de stress*; elles sont la résultante de l'association de deux filaments d' α -actinine et de la myosine II en complexe acto-myosine. Elles peuvent se contracter et exercer des tensions sur leur environnement ;
- Organisation des filaments d'actine avec une certaine angulation entre eux, formant un gel densément réticulé. Ce gel sous-tend :
 - o D'une part la membrane cytoplasmique ; il est alors qualifié d'*actine corticale*. Il permet aux fibroblastes d'adhérer au substrat et détermine les propriétés mécaniques de la membrane plasmique.
 - o D'autre part les lamellipodes (protrusions membranaires à l'avant des cellules migrantes comme les fibroblastes). Ces longs agrégats d'actine sont appelés *filopodes* ; ils permettent aux cellules adhérentes d'explorer localement leur environnement. Diverses expérimentations ont mis en évidence que c'est la polymérisation des filaments d'actine qui pousse la membrane du lamellipode vers l'avant.

Ainsi l'actine est présente sous forme de réseaux, de filaments enchevêtrés pouvant coulisser les uns par rapport aux autres. Elle joue un rôle majeur dans les propriétés dynamiques mécaniques des cellules de par le mécanisme de polymérisation/dépolymérisation.

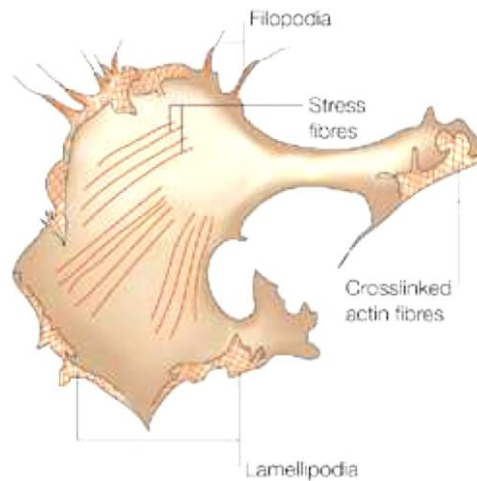


Figure 29 : Différentes structures d'actine retrouvée dans un fibroblaste.

10.2.1.3.2. Les microtubules ou filaments épais

Ils participent également, en parallèle du réseau d'actine, à l'architecture interne de la cellule. Ceux sont les polymères les plus rigides du cytosquelette. Comme pour l'actine, le réseau de filaments polarisés de microtubules est également une structure hautement dynamique, animée par un phénomène incessant de polymérisation /dépolymérisation.

Le cytoplasme n'est pas un gel « amorphe ». Son cytosquelette, de par ses éléments constitutifs, lui confère la qualité de gel actif. Les réseaux d'actine, de myosine II et les microtubules jouent le rôle de moteurs moléculaires permettant aux cellules de se déplacer et de se contracter.

10.2.2. La Matrice Extracellulaire

Les cellules de l'ensemble des tissus baignent dans un milieu qui constitue la matrice extra-cellulaire (M.E.C.). Le T.C. est le tissu le plus riche en M.E.C. Elle est essentiellement constituée de 3 éléments :

- Des **fibres** (collagènes, réticuline et élastine) formées de l'assemblage de protéines fibreuses dites de structure ;
- De l'**eau**
 - o *liée* aux macromolécules, elle permet la résistance aux forces mécaniques ;
 - o *libre*, elle transporte les nutriments, l'oxygène et les électrolytes ;
- Des **molécules solubles** telles que des sels minéraux, des polypeptides des sucres et des macromolécules protéiques.

L'eau et les molécules solubles forment la **substance fondamentale** qui joue un rôle très

important dans la nutrition des cellules.

10.2.2.1. Les protéoglycanes (P.G.), les glycosaminoglycanes (G.A.G.)

Ils forment la charpente de la matrice extracellulaire ; les glycosaminoglycanes se greffent sur ces grandes molécules. Chargés négativement, ils sont capables de retenir jusqu'à 50 fois leur poids en eau et donnent la consistance visqueuse au tissu conjonctif.

10.2.2.2. Les fibres : collagènes, élastine et réticuline

La plus grande famille des protéines extra cellulaires. Glycoprotéines synthétisées par les fibroblastes. Formées dans le milieu extracellulaire par l'assemblage bout à bout et côte à côte des molécules de tropocollagène.

Quant aux élastines, elles sont remarquables de par leur élasticité et leur extrême résistance.

10.2.2.3. Les glycoprotéines de structure

Les glycoprotéines les plus connues sont :

- La fibronectine : adhérence des cellules aux fibres ;
- La laminine : constituant de la membrane basale.

On peut classer les TC en fonction de la prédominance des cellules, de la substance fondamentale et des fibres.

En fonction des quantités relatives, de la nature et de l'organisation des différents types de macromolécules présentes dans leur matrice extracellulaire et de la substance fondamentale, on distingue trois variétés de tissus conjonctifs :

- Les tissus conjonctifs proprement dits à substance fondamentale fluide ;
- Les tissus cartilagineux à substance fondamentale solide et déformable ;
- Les tissus osseux à substance fondamentale solide et rigide.

Les éléments constitutifs du tissu conjonctif sont donc les cellules conjonctives répertoriées en cellules fixes et cellules étrangères et la matrice extracellulaire formée de fibres, substance fondamentale et glycoprotéines de structure. Lorsque les trois principaux constituants des tissus conjonctifs proprement dits (cellules, fibres conjonctives et substance fondamentale) sont en proportions équivalentes, le tissu conjonctif est appelé lâche par opposition aux tissus conjonctifs où prédominent les fibres conjonctives qui sont appelés denses.

Le tissu conjonctif assume par conséquent différents rôles importants :

- Rôle structurel : fonction de soutien et cohésion des autres tissus, liée à sa richesse en

fibres ;

- Rôle trophique: fonction nutritive et d'échange ; liée à sa richesse en matrice extracellulaire et en vaisseaux ;
- Rôle immunitaire et rôle dans réactions inflammatoires : fonction de défense et ; liée à la présence de cellules immune dites de passage ;
- Rôle dans les processus de cicatrisation, organise et influence la croissance et la différenciation des tissus environnants.

10.2.3. Références Annexe 2

[1] ALBERTS *et al.* *Biologie moléculaire de la cellule*. IVème Edition. Paris : Flammarion Médecine –Sciences, 2004. 1472 p. ISBN 978-2-257-16219-9

[2] Documents d'histologie, Faculté de Médecine Pierre et Marie Curie, [en ligne]. *Histologie : les Tissus*. [consulté le 03/02/2011] <http://www.chups.jussieu.fr/polys/histo/histoP1/conjonctifadipeux.html>

[3] Documents d'histologie, Faculté de Médecine de Grenoble [en ligne]. *Histologie -Etude des Tissus*, Professeur SEIGNEURIN D. [consulté le 03/02/2011] http://umvf.biomedicale.univparis5.fr/wiki/docvideos/Grenoble_0708/SEIGNEURIN_Daniel/S_EIGNEURIN_Daniel_P08/SEIGNEURIN_Daniel_P08.pdf

[4] Documents d'histologie, Faculté de Médecine de Paris VII [en ligne]. *Histologie -Les Tissus conjonctifs*, Professeur ONOLFO J-P. [consulté le 03/02/2011] http://coursp1bichat-lariboisiere.weebly.com/uploads/8/0/7/9/807976/histo_2_-_les_tissus_conjonctifs

[5] Documents d'histologie, Faculté de Médecine de Lyon [en ligne]. *Histologie -Le Tissu conjonctif*, Docteur NATAF S. [consulté le 03/02/2011] <http://histoblog.viabloga.com/texts/le-tissu-conjonctif--cours-n-1-et-n-2--2009->

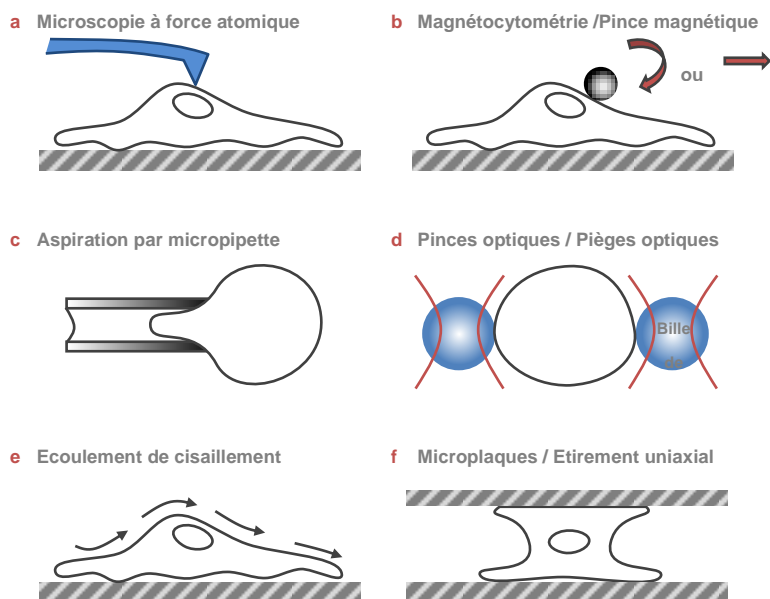
[6] Documents d'histologie, Faculté de Médecine de Strasbourg [en ligne]. *Tissus conjonctifs*, Docteur MARK M. [consulté le 03/02/2011] http://udsmed.ustrasbg.fr/emed/courses/HISTOFONCTTCHAD/document/3._Tissus_conjonctifs.pdf?cidReq=HISTOFONCTTCHAD

[7] Documents d'histologie, Faculté de Médecine de Sousse, Tunisie [en ligne]. *Le Tissu conjonctif*, Professeur ELGHEZAL H. [consulté le 03/02/2011] <http://cytogenetiquedesousse.unblog.fr/files/2009/11/letissuconjonctif.pdf>

[8] MULLER, J. Analyses du cytosquelette par des analyses bioinformatiques à haut débit de génomique comparative et de transcriptomique. *Thèse de Doctorat, Université Louis Pasteur*, Strasbourg, 2006

[9] TERRAMORSI, R. Cours de biologie appliquée-Ostéobiologie, 2007

10.3. Annexe 3 : Techniques de nanomanipulations cellulaires



- a. Un microlevier applique une contrainte à la cellule. La déflexion du microlevier est mesurée par réflexion laser
- b. Un champ magnétique externe applique une contrainte à une bille magnétique. La position de la bille est suivie afin de déterminer la réponse de la cellule.
- c. Une micropipette à pression contrôlée aspire la cellule dont on mesure l'étirement.
- d. Une sonde génère localement une force. La déformation est mesurée.
- e. La cellule est contrainte sous un flux de cisaillement.
- f. Une cellule est contrainte entre deux plaques par étirement ou compression.

Figure 30 : Présentation de différentes techniques permettant l'étude de la viscoélasticité cellulaire. Liste non exhaustive.