



**HAL**  
open science

## Etude numérique de l'environnement micromécanique des cellules souches mésenchymateuses dans un bioréacteur d'ingénierie tissulaire osseuse

Magali Cruel, Morad Bensidhoum, Pierre Becquart, Cécile Nouguié-Lehon,  
Hervé Petite, Thierry Hoc

► **To cite this version:**

Magali Cruel, Morad Bensidhoum, Pierre Becquart, Cécile Nouguié-Lehon, Hervé Petite, et al.. Etude numérique de l'environnement micromécanique des cellules souches mésenchymateuses dans un bioréacteur d'ingénierie tissulaire osseuse. 12e Colloque national en calcul des structures, CSMA, May 2015, Giens, France. hal-01517274

**HAL Id: hal-01517274**

**<https://hal.science/hal-01517274>**

Submitted on 3 May 2017

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

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

Public Domain

# Etude numérique de l'environnement micromécanique des cellules souches mésenchymateuses dans un bioréacteur d'ingénierie tissulaire osseuse

M. Cruel<sup>1</sup>, M. Bensidhoum<sup>2</sup>, P. Becquart<sup>2</sup>, C. Nougulier-Lehon<sup>1</sup>, H. Petite<sup>2</sup>, T. Hoc<sup>1</sup>

<sup>1</sup>LTDS, CNRS UMR 5513, Ecole Centrale de Lyon, 36 av Guy de Collongue, 69134 Ecully  
magali.cruel@ec-lyon.fr ; cecile.nougulier@ec-lyon.fr ; thierry.hoc@ec-lyon.fr

<sup>2</sup>B2OA, CNRS UMR 7052, Université Paris Diderot, 10 av de Verdun, 75010 Paris  
morad.bensidhoum@univ-paris-diderot.fr ; pierre.becquart@univ-paris-diderot.fr ;  
herve.petite@univ-paris-diderot.fr

---

**Résumé** — Les cellules souches mésenchymateuses utilisées en ingénierie tissulaire osseuses sont sensibles aux contraintes mécaniques, particulièrement au cisaillement. Il est donc nécessaire d'optimiser la géométrie des scaffolds et le flux utilisés pour stimuler les cellules lors des cultures. Pour cela, une étude numérique de dynamique des fluides a été réalisée sur différents types de scaffolds granulaires. Elle a montré que ces scaffolds ont une efficacité équivalente à ceux de la littérature pour convertir le flux de milieu de culture en stimulation mécanique.

**Mots clés** — ingénierie tissulaire osseuse, cisaillement, mécanotransduction, dynamique des fluides

---

## 1. Introduction

Le traitement des défauts osseux de grande taille pose d'importants problèmes cliniques. Un défaut osseux de taille supérieure à une dimension critique ne peut pas se réparer de lui-même. La solution la plus répandue actuellement consiste à réaliser une autogreffe. C'est encore aujourd'hui le traitement le plus efficace mais il présente de nombreux inconvénients : os prélevable limité, complications dans 10% des cas, ... Ces inconvénients ont motivé la recherche de méthodes alternatives, et en particulier le développement de l'ingénierie tissulaire. Le principe général est d'utiliser les propres cellules souches du patient et de les mettre en culture *in vitro* pour recréer un greffon osseux. La preuve de concept de cette méthode a été établie sur un modèle de gros animal de pertinence clinique [1].

En ingénierie tissulaire osseuses, les cellules sontensemencées sur un scaffold, support tridimensionnel, et cultivées en bioréacteur, un dispositif qui leur fournit le microenvironnement biochimique et mécanique nécessaire à leur croissance, différenciation, production de matrice extracellulaire, ... Il est connu que les contraintes mécaniques, et en particulier le cisaillement, jouent un rôle fondamental dans la croissance cellulaire à travers le processus de mécanotransduction. Par ce mécanisme, les cellules convertissent le chargement mécanique en signaux biologiques appropriés.

*In vivo*, les cellules expérimentent des contraintes de cisaillement de l'ordre de 0.8 à 3 Pa [2]. De nombreuses expérimentations en deux dimensions ont mis en évidence des réponses positives des cellules à des niveaux de cisaillement compris entre 0.4 et 2 Pa [3-6]. A priori, ces valeurs peuvent servir de références pour concevoir les dispositifs de culture. Les bioréacteurs actuels nécessitent encore des améliorations. Plusieurs paramètres peuvent être contrôlés pour optimiser la stimulation mécanique des cellules : le flux, la géométrie tridimensionnelle des scaffolds, ... Dans ce contexte, des outils numériques ont été développés et sont largement utilisés depuis une dizaine d'année pour déterminer les contraintes mécaniques auxquelles les cellules sont soumises dans telle ou telle

configuration de culture [7-10]. Dans ces configurations tridimensionnelles, les valeurs de cisaillement pour lesquels des effets positifs du flux ont été observés sont de l'ordre de  $10^{-5}$  à  $10^{-3}$  Pa.

Dans ce travail, un nouveau type de scaffold a été étudié numériquement. Celui-ci est composé de particules de dimension environ 3mm empilées dans un tube de Plexiglas®. Ce scaffold granulaire a déjà été utilisé expérimentalement [1, 11, 12]. Ils présentent l'avantage d'être plus maniables par le chirurgien et de pouvoir s'adapter dans n'importe quelle forme de défaut osseux. Le but de cette étude numérique était d'analyser les niveaux et distributions de contraintes au sein de ce bioréacteur en fonction du flux utilisé et de la géométrie des particules utilisées.

## 2. Matériels et méthodes

Trois types d'empilements ont été analysés : un empilement de cubes (Ccube), un empilement monodisperse de billes (C1bille) et un empilement bidisperse de billes (C2bille). Ces empilements granulaires ont été créés grâce au logiciel LMGC90® pour simuler les assemblages réels des particules. Des simulations de dynamique des fluides ont ensuite été réalisées avec le logiciel Comsol Multiphysics®. Cinq flux d'entrée compris entre 10 et 200 mL/min ont été utilisés. Les champs de vitesse et les cisaillements aux parois des particules ont été analysés. Les distributions des valeurs locales de cisaillement, les fonctions densité de probabilité ainsi que l'homogénéité spatiale des contraintes de cisaillement ont également été étudiées de manière à comparer les différentes configurations testées.

## 3. Principaux résultats

Le cisaillement à la paroi des particules dans le cas des trois empilements étudiés et pour un flux d'entrée de 200 mL/min est présenté Figure 1. Les niveaux de cisaillement observés sont de l'ordre de 1 Pa. L'empilement bidisperse de billes génère des contraintes de cisaillement bien plus élevées que les deux autres configurations pour un même flux d'entrée.

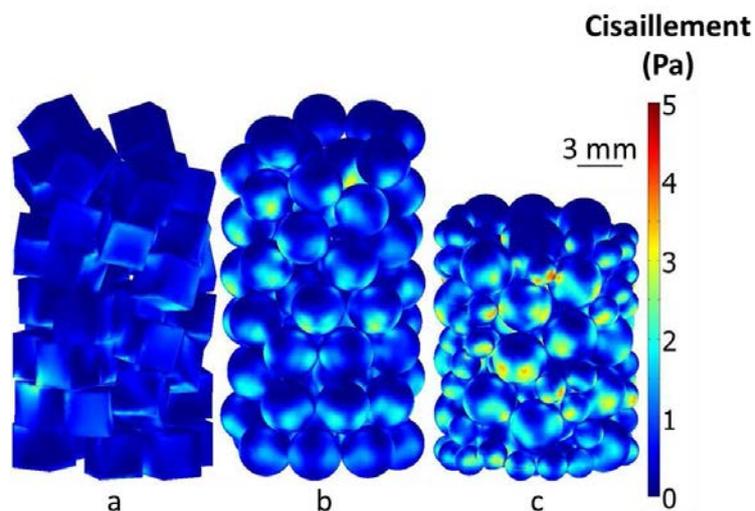


Figure 1 – Cisaillement à la paroi des particules pour un même flux d'entrée 200 mL/min pour les empilements de cubes (a), monodisperse de billes (b) et bidisperse de billes (c)

L'analyse plus précise de ces données a permis de mettre en évidence une relation linéaire entre le cisaillement moyen et le flux d'entrée dans les trois cas, avec une pente plus élevée dans le cas de C2bille par rapport aux deux autres géométries. La pente obtenue est similaire à celles des résultats présentés dans la littérature pour des scaffolds non granulaires. Cette similarité est confirmée par l'analyse des fonctions densité de probabilité, également comparables à celles des scaffolds poreux présentées par Voronov *et al.* [13] et Pham *et al.* [14].

Les valeurs de l'hétérogénéité radiale des contraintes de cisaillement au sein des empilements sont présentés Figure 2 pour chaque configuration et pour chaque flux. Il apparaît que l'hétérogénéité diminue lorsque le flux d'entrée augmente, mais surtout que celle-ci est bien plus faible dans le cas de l'empilement bidisperse de billes que dans les deux autres configurations.

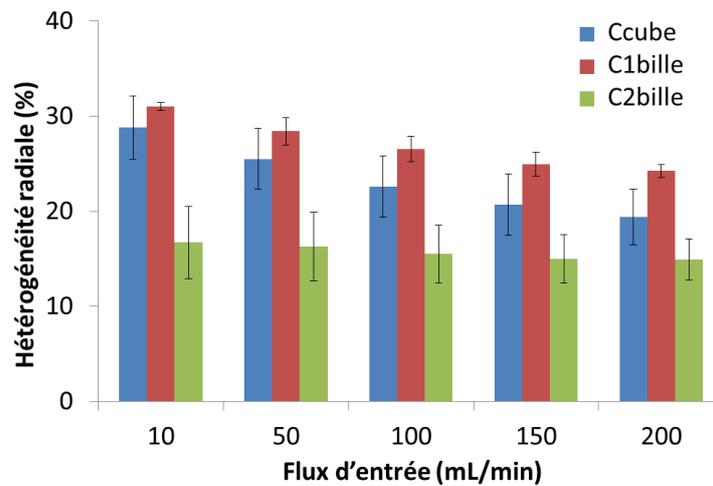


Figure 2 – Hétérogénéité radiale pour les empilements de cubes (a), monodisperse de billes (b) et bidisperse de billes (c) et pour les cinq flux d'entrée testés

Ces résultats sont fondamentaux pour mieux comprendre les contraintes expérimentées par les cellules lors des cultures en bioréacteurs et pour optimiser les conditions de culture. Cette étude a montré que les scaffolds granulaires présentés ici sont aussi efficaces que les scaffolds massifs poreux de la littérature pour convertir le flux de milieu de culture en stimulation mécanique pour les cellules. De plus, ils permettent d'atteindre des niveaux de stimulation mécanique similaires à ceux observés *in vivo*.

## Références

- [1] H. Petite, V. Viateau, W. Bensaïd, *et al.* Tissue-engineered bone regeneration. *Nature Biotechnology*, 959-963, 2000.
- [2] S. Weinbaum, S.C. Cowin, Y Zeng. A model for the excitation of osteocytes by mechanical loading-induced bone fluid shear stresses. *Journal of Biomechanics*, 339-360, 1994.
- [3] J. Klein-Nulend, M.H. Helfrich, J.G.H. Sterck, *et al.* Nitric oxide response to shear stress by human bone cell cultures is endothelial nitric oxide synthase dependent. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 108-114, 1998.
- [4] A.D. Bakker, K. Soejima, J. Klein-Nulend, *et al.* The production of nitric oxide and prostaglandin E<sub>2</sub> by primary bone cells is shear stress dependent. *Journal of Biomechanics*, 671-677, 2001.
- [5] S. Kapur, D.J. Baylink, K.H.W. Lau. Fluid flow shear stress stimulates human osteoblast proliferation and differentiation through multiple interacting and competing signal transduction pathways. *Bone*, 241-251, 2003.
- [6] M. Grellier, R. Bareille, C. Bourget, *et al.* Responsiveness of human bone marrow stromal cells to shear stress. *Journal of Tissue Engineering and Regenerative Medicine*, 302-309, 2009.
- [7] B. Porter, R. Zuel, H. Stockman, *et al.* 3-D computational modeling of media flow through scaffolds in a perfusion bioreactor. *Journal of Biomechanics*, 543-549, 2005.
- [8] M. Cioffi, J. Küffer, S. Ströbel, *et al.* Computational evaluation of oxygen and shear stress distributions in 3D perfusion culture systems: Macro-scale and micro-structured models. *Journal of Biomechanics*, 2918-2925, 2008.
- [9] C. Jungreuthmayer, S.W. Donahue, M.J. Jaasma, *et al.* A comparative study of shear stresses in collagen-glycosaminoglycan and calcium phosphate scaffolds in bone tissue-engineering bioreactors. *Tissue Engineering part A*, 1141-1149, 2009.
- [10] F. Maes, T. Claessens, M. Moesen, *et al.* Computational models for wall shear stress estimation in scaffolds: A comparative study of two complete geometries. *Journal of Biomechanics*, 1586-1592, 2012.
- [11] V. Viateau, G. Guillemin, V. Bousson, *et al.* Long-bone critical-size defects treated with tissue-engineered grafts: A study on sheep. *Journal of Orthopaedic Research*, 741-749, 2007.
- [12] B. David, D. Bonnefont-Rousselot, K. Oudina *et al.* A perfusion bioreactor for engineering bone constructs: An *in vitro* and *in vivo* study. *Tissue Engineering part C*, 505-516, 2011.
- [13] R.S. Voronov, S.B. VanGordon, V.I. Sikavitsas, *et al.* Distribution of flow-induced stresses in highly porous media. *Applied Physics Letters*,
- [14] N.H. Pham, R.S. Voronov, S.B. VanGordon, *et al.* Predicting the stress distribution within scaffolds with ordered architecture. *Biorheology*, 235-247, 2012.