

Influence des flux de calcium sur la contrainte de cisaillement agissant sur les ostéocytes dans l'os cortical

J. Kaiser^a, T. Lemaire^a, S. Naili^a, S. V. Komarova^b, V. Sansalone^a

a. Université Paris-Est, Laboratoire Modélisation et Simulation Multi Echelle, MSME UMR 8208 CNRS, 61 avenue du Général de Gaulle, 94010 Créteil Cedex, France

b. McGill University, Faculty of Dentistry, 740 Dr. Penfield Avenue, Montreal, Quebec H3A 2B2, Canada

Résumé :

L'écoulement d'un fluide autour des cellules osseuses mécano-sensibles (ostéocytes) est modélisé. Le but de cette étude est d'examiner in silico si des flux de calcium apparaissant lors de la dissolution ou de la précipitation de la matrice osseuse jouent un rôle sur les interactions fluide-cellule. Au final, il apparaît que même si ces flux ne semblent pas altérer de manière significative la vitesse de l'écoulement interstitiel, ils peuvent modifier le cisaillement ressenti par les ostéocytes.

Abstract :

Cortical bone mechanosensitive cells (osteocytes) are known to be sensitive to their surrounding interstitial fluid flow. In addition, physiological calcium fluxes within cortical bone have been demonstrated. The goal of this study is to improve our previous mathematical models of the interstitial fluid flow by including these calcium fluxes and to investigate their effects on the osteocyte mechanosensitivity. The fluid flow does not seem to be affected by a calcium gradient variation, contrarily to the shear stress felt by the osteocytes.

Mots clefs : flux de calcium ; mécano-sensibilité ostéocytaire ; cisaillement

1 Introduction

Le calcium joue un rôle essentiel dans l'activité cellulaire [12]. Si certaines espèces aquatiques puisent ce minéral directement dans l'eau de mer, les espèces terrestres le tirent de leur squelette [5]. En effet, le tissu osseux est un incroyable réservoir de calcium qui gère la régulation homéostatique de ce minéral. Ainsi, selon les besoins de l'organisme, du calcium peut être libéré ou stocké dans la matrice osseuse, générant les flux physiologiques calciques [11]. En particulier l'ostéolyse est provoquée par les cellules osseuses mécano-sensibles (ostéocytes), notamment en période de lactation [13], ou encore à l'occasion du remodelage osseux, mécanisme engageant des cellules osseuses, ostéoclastes et ostéoblastes, pour détruire, respectivement, pour reconstruire la matrice osseuse. En plus de réguler la concentration interstitielle calcique, le remodelage osseux permet l'adaptation du squelette à son environnement et la réparation des fractures, garantissant de cette manière la solidité du tissu osseux. Pour les maladies survenant lors d'un dysfonctionnement du remodelage osseux (maladie de Paget, ostéoporose), les phénomènes occasionnant un tel processus sont intéressants à étudier. Diverses études ont montré l'importance du rôle joué par les ostéocytes lors de ce remodelage osseux [8, 3]. Baignant dans un fluide interstitiel, les ostéocytes, distribués dans le volume de la matrice osseuse, déploient des dendrites dans des petits canaux appelés canalicules. Ces cellules osseuses sont reliées les unes aux autres *via* des jonctions communicantes. Elles forment ainsi un réseau au sein du tissu osseux leur permettant de communiquer. Lors d'activités physiques telles que la marche, le tissu osseux est soumis à des contraintes mécaniques engendrant l'écoulement du fluide interstitiel. Ce flux génère un cisaillement ressenti par les ostéocytes qui, selon son intensité, vont déclencher ou non le remodelage

osseux par l'envoi de signaux biochimiques. Le but de cette étude est d'inclure les flux de calcium dans nos modèles du comportement hydro-mécanique osseux développés précédemment [7, 10], et d'examiner leur influence sur le cisaillement ressenti par les ostéocytes.

2 Modélisation mécanique

2.1 Configuration géométrique

Le présent modèle décrit le mouvement du fluide interstitiel dans un fragment de canalicule. Le canalicule ainsi que la dendrite ostéocytaire sont représentés par deux cylindres concentriques, de rayons respectifs R_C et R_M . Le fluide interstitiel est représenté par un électrolyte contenant des ions monovalents (sodium/chlorure) et des ions bivalents (calcium/phosphate). La concentration en chlorure est supposée être la même que celle en sodium et est notée n_{Na} . De la même manière, les concentrations en phosphate et calcium sont les mêmes et sont notées n_{Ca} .

2.2 Phénomènes physiques régissant l'écoulement interstitiel

La Figure 1 comporte 4 schémas notés A, B, C et D lesquels décrivent un ostéocyte dans la matrice osseuse (A), un morceau de canalicule contenant une dendrite ostéocytaire (B), une coupe longitudinale de l'espace annulaire du canalicule (C) et la double-couche électrique proche de la membrane ostéocytaire (D). La matrice osseuse, la matrice pericellulaire (présence de fibres dans l'entrefer du canalicule) et l'ostéocyte sont désignés. On passe d'un schéma à l'autre en zoomant sur la partie intéressante pour la présente étude.

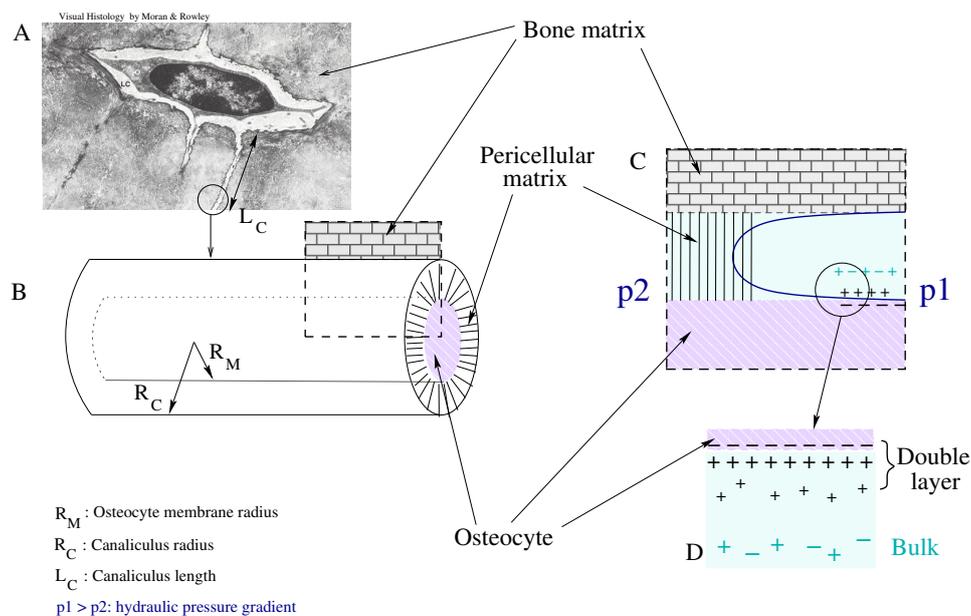


FIGURE 1 – Schéma décrivant un ostéocyte dans la matrice osseuse (A), un morceau de canalicule contenant une dendrite ostéocytaire (B), une coupe longitudinale de l'espace annulaire du canalicule (C) et la double-couche électrique proche de la membrane ostéocytaire (D).

L'écoulement du fluide interstitiel au sein d'un canalicule apparaît en réponse à un gradient de pression : c'est ce qu'on appelle la conduction hydraulique. Cependant, la présence de fibres de collagène dans la matrice osseuse et d'acides gras ou de protéines à la surface des ostéocytes engendrent une densité surfacique de charge négative aux parois des pores, laquelle va modifier l'écoulement. Les cations présents dans le fluide interstitiel sont attirés électrostatiquement vers les interfaces formant une double-couche électrique, constituée d'une couche de cations adsorbés aux surfaces (couche de Stern) et d'une couche de cations mobiles (couche dite diffuse ou de Gouy-Chapman). L'épaisseur de cette double-couche est appelée longueur de Debye (L_D). De plus, des gradients électrique et chimique engendrent tous deux le mouvement des espèces ioniques. Mais lorsque les ions se meuvent, ils entraînent

avec eux, par frottement visqueux, des particules de fluide, créant un écoulement dû, d'une part, au gradient électrique (électro-osmose), et d'autre part, au gradient chimique (osmose). À cela s'ajoute le fait que l'espace annulaire entre la membrane ostéocytaire et la paroi du canalicule est obstrué par une matrice péricellulaire, ne laissant passer que certaines molécules [2, 14] et ralentissant l'écoulement du fluide interstitiel. En résumé, le flux interstitiel est engendré par la conduction hydraulique, l'osmose et l'électro-osmose.

2.3 Équation régissant le problème

Dans cette partie, les équations décrivant l'écoulement du fluide interstitiel sont brièvement rappelées. Le lecteur intéressé par la façon dont sont obtenues ces équations pourra se référer à [10] où il trouvera tous les détails utiles. Dans cette étude, le fluide est supposé newtonien et incompressible. Les écoulements hydraulique, osmotique et électro-osmotique au sein d'un canalicule sont décrits par une équation de Stokes modifiée :

$$\begin{aligned} \mu \nabla \cdot \nabla \mathbf{v} - \frac{\mu}{k} \mathbf{v} = \nabla p + 2RT \left[\left(\cosh(\bar{\varphi}) - 1 \right) \nabla n_{Na} + \left(\cosh(2\bar{\varphi}) - 1 \right) \nabla n_{Ca} \right] \\ - 2RT \left[\sinh(\bar{\varphi}) n_{Na} + \sinh(2\bar{\varphi}) n_{Ca} \right] \nabla \bar{\psi}, \end{aligned} \quad (1)$$

où les opérateurs $\nabla \cdot$ et ∇ désignent respectivement la divergence et le gradient.

Dans cette équation, μ est la viscosité du fluide, \mathbf{v} la vitesse d'écoulement, k la perméabilité de la matrice péricellulaire, p la pression, R la constante des gaz parfaits, T la température, φ le potentiel électrique de double-couche et ψ le potentiel d'écoulement. Notons que $\bar{\kappa} = F \star / RT$, avec F la constante de Faraday, est la forme sans dimension des potentiels électriques et que $\phi = \psi + \varphi$ est le potentiel électrique total dans le fluide. La conservation de la masse ainsi qu'une condition de non-glissement aux interfaces complètent la modélisation de l'écoulement du fluide interstitiel au sein du canalicule. Le cisaillement induit par l'écoulement du fluide interstitiel et ressenti par l'ostéocyte est donné par :

$$\tau = \mu \left. \frac{\partial \mathbf{v}}{\partial r} \right|_{r=R_M} \quad (2)$$

Le potentiel électrique vérifie l'équation de Poisson-Boltzmann. Toutefois, pour des concentrations physiologiques de calcium (1 mmol.l⁻¹ à 4 mmol.l⁻¹) et de sodium (130 mmol.l⁻¹), la taille du pore est environ cent fois plus grande que la longueur de Debye. Par conséquent, l'équation de Poisson-Boltzmann peut être approchée par l'équation de Debye-Hückel [6, 9] :

$$\nabla \cdot \nabla \bar{\phi} = \frac{1}{L_D^2} \bar{\phi}. \quad (3)$$

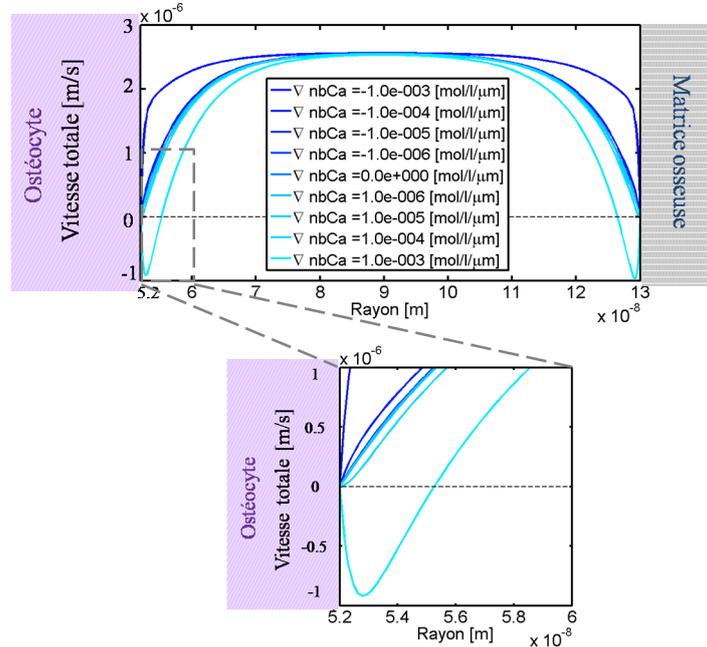
Aux interfaces, le potentiel est pris égal au potentiel zêta : $\phi = \zeta$ [4].

3 Résultats et discussion

Lors du remodelage osseux ou de l'ostéolyse ostéocytaire, une libération ou une déposition de calcium surviennent, créant un gradient de calcium le long du canalicule. Pour mieux comprendre l'impact d'un tel gradient chimique sur la vitesse d'écoulement du fluide interstitiel, une variation du gradient de calcium est étudiée. Les valeurs des gradients hydrauliques et de concentrations de sodium sont issues de mesures physiologiques décrites dans la littérature [1]. De manière à quantifier uniquement les effets chimiques sur l'écoulement du fluide interstitiel, le gradient électrique est égal à zéro. Le tableau 1 donne les valeurs des paramètres utilisées dans les résultats présentés. Une variation du gradient de calcium ne semble pas affecter de façon significative la vitesse de l'écoulement dans la partie centrale de l'entrefer. En revanche, une différence non négligeable est observée au voisinage des interfaces (Fig. 2). Étant donné que le cisaillement ressenti par les ostéocytes est directement lié à la valeur de la vitesse au voisinage des interfaces (cf. Eq. (2)), l'influence d'une variation du gradient de calcium sur le cisaillement ressenti par les ostéocytes est étudiée (Fig. 3). Lorsque les gradients

$R_M = 52 \text{ nm}$	$k = 5 \times 10^{-17} \text{ m}^2$	$\nabla p = -33.3 \text{ Pa} \cdot \mu\text{m}^{-1}$
$R_C = 130 \text{ nm}$	$\zeta = -20 \text{ mV}$	$\nabla n_{Na} = -10^{-7} \text{ mmol.l}^{-1} \cdot \mu\text{m}^{-1}$
$T = 310 \text{ K}$	$n_{Na} = 130 \text{ mmol.l}^{-1}$	$\nabla n_{Ca} = [-1, \dots, 1] \times 10^{-3} \text{ mmol.l}^{-1} \cdot \mu\text{m}^{-1}$
$\mu = 0.65 \times 10^{-3} \text{ Pa.s}$	$n_{Ca} = [1, \dots, 4] \text{ mmol.l}^{-1}$	$\nabla \psi = 0 \text{ V} \cdot \mu\text{m}^{-1}$

TABLE 1 – Valeurs des paramètres utilisées dans la présente étude.

FIGURE 2 – Profil de la vitesse d'écoulement du fluide interstitiel au sein d'un canalicule pour différents gradients de calcium (haut). Zoom de la zone environnante de la membrane ostéocytaire (bas). Ces calculs ont été effectués pour une concentration de calcium de 2 mmol.l^{-1} .

chimique et hydraulique ont une direction identique, l'écoulement osmotique va dans le même sens que l'écoulement hydraulique. À contrario, lorsque le gradient chimique a une direction contraire au gradient hydraulique, l'écoulement osmotique va à l'inverse de l'écoulement hydraulique. Ainsi, la vitesse totale, qui est la somme des vitesses dues à la conduction hydraulique et à l'osmose, diminue avec le gradient chimique s'opposant au gradient hydraulique. Par conséquent, le cisaillement ressenti par les ostéocytes est réduit. À l'inverse, avec des gradients chimique et de pression de même direction, la vitesse totale augmente, ce qui amplifie le cisaillement ressenti par les ostéocytes. Par ailleurs, lors de certaines maladies telles que l'hypocalcémie ou l'hypercalcémie, la concentration en calcium peut varier de 1 à 4 mmol.l^{-1} . Par conséquent, nous avons également fait varier la concentration de calcium dans le fluide interstitiel et étudié son influence sur le cisaillement ressenti par les ostéocytes. Comme le montrent les courbes de la Fig. 3, pour une plage de valeurs allant de 1 à 4 mmol.l^{-1} , la variation de la concentration calcique n'altère pas le cisaillement ressenti par les ostéocytes.

4 Conclusion

Des flux de calcium physiologiques existent au sein du fluide interstitiel du tissu osseux qui vont se superposer au niveau basal de calcium présent dans ce fluide. La réponse des ostéocytes, et notamment leur sensibilité au cisaillement induit par l'écoulement du fluide interstitiel dans les canalicules, est influencée non seulement par la nature et mais aussi par la concentration des espèces chimiques présentes dans ce fluide interstitiel. En conséquence, l'impact de la concentration et des flux de calcium sur l'écoulement du fluide interstitiel est examiné. Pour les plages de valeurs étudiées pour la concentration de calcium, le cisaillement ressenti par les ostéocytes et induit par l'écoulement du fluide interstitiel ne varie pas significativement. En revanche, ce cisaillement est sensiblement affecté par une

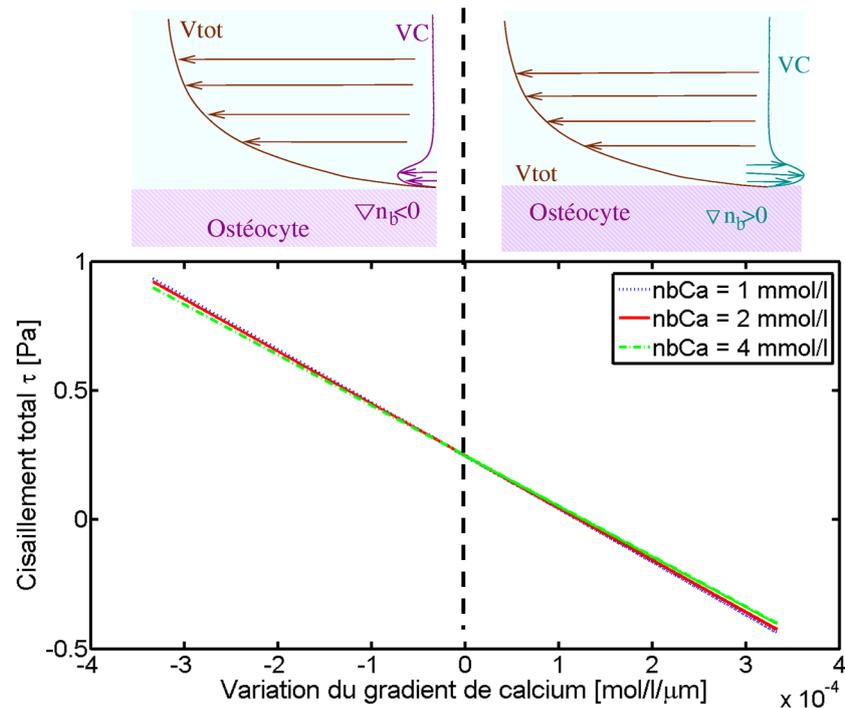


FIGURE 3 – Cisaillement dû à l'écoulement du fluide interstitiel et ressenti par les ostéocytes pour différents gradients et différentes concentrations de calcium.

variation du gradient de concentration de calcium.

Remerciements

J. Kaiser remercie l'Université Paris-Est de lui avoir accordé une bourse de mobilité pour mener ce travail en collaboration avec le Pr. S. Komarova à McGill University à Montréal.

Références

- [1] Anderson, E. J., Kaliyamoorthy, S., Alexander, J. I. D., Knothe-Tate, M. L. 2005 Nano-microscale models of periosteocytic flow show differences in stresses imparted to cell body and processes. *Ann Biomed Eng* **33(1)** 52-62
- [2] Cowin, S. C., Weinbaum, S., Zeng, Y. 1995 A case for bone canaliculi as the anatomical site of strain generated potentials. *J Biomech* **28** 1281-1297
- [3] Fritton, S. P., Weinbaum, S. 2009 Fluid and solute transport in bone : flow-induced mechanotransduction. *Annu Rev Fluid Mech* **41** 347-374
- [4] Harding, I. S., Rashid, N., Hing, K. A. 2005 Surface charge and the effect of excess calcium ions on the hydroxyapatite surface. *Biomaterials* **26** 6818-6826
- [5] Heaney, R. P. 2002 Ethnicity, bone status, and the calcium requirement. *Nutr Res* **22** 153-178
- [6] Hunter, R. J. 2001 In *Foundations of Colloid Sciences*. Oxford university press
- [7] Kaiser, J., Lemaire, T., Naili, S., Sansalone, V. 2009 Multiscale modelling of fluid flow in charged porous media including cationic exchanges : application to bone tissues. *CR Mécanique* **337** 768-775
- [8] Knothe Tate, M. L. 2003 "Whither flows the fluid in bone ?" An osteocyte's perspective. *J Biomech* **36** 1409-1424
- [9] Lemaire, T., Naili, S., Rémond, A. 2006 Multiscale analysis of the coupled effects governing the movement of interstitial fluid in cortical bone. *Biomech Model Mechan* **5** 39-52

- [10] Lemaire, T., Sansalone, V., Naili, S. 2010 Multiphysical modelling of fluid transport through osteo-articular media. *Ann Braz Acad Sci* **82** 127-144
- [11] Marenzana, M., Shipley, A. M., Squitiero, P., Kunkel, J. G., Rubinacci, A. 2005 Bone as an ion exchange organ : Evidence for instantaneous cell-dependent calcium efflux from bone not due to resorption. *Bone* **37** 545-554
- [12] McDonald, F. 2004 Ion channels in osteoblasts : A story of two intracellular organelles *Surg J R Coll Surg E* **2** 63-69
- [13] Qing, H., Bonewald, L. F. 2009 Osteocyte Remodeling of the Perilacunar and Pericanalicular Matrix. *International Journal of Oral Science* **1** 59-65
- [14] You, L. -D., Weinbaum, S., Cowin, S. C., Schaffler, M. B. 2004 Ultrastructure of the Osteocyte Process and its Pericellular Matrix. *Anat Rec A* **278A** 505-513