

## Institut Farman FR 3311 : appel à projets AAP 2016

### Proposition de projet Farman – Volet scientifique

#### < BONE LABS – Bone Osteocyte Natural Environment in Live Allograft Biological Systems >

#### < LMT- LBPA - SATIE >

**Intitulé du projet (acronyme ou autre) :** BONE LABS

**Titre explicite :** Bone Osteocyte Natural Environment in Live Allograft Biological Systems

**Version :** Standard

**Responsables scientifiques :**

Budyn Elisa, LMT, +33 (0)1 47402233, [ebudyn@ens-cachan.fr](mailto:ebudyn@ens-cachan.fr)

Tauc Patrick, LBPA, +33 (0)1 47405994, [tauc@lbpa.ens-cachan.fr](mailto:tauc@lbpa.ens-cachan.fr)

Le Pioufle Bruno, SATIE, +33 (0)1 47407736, [bruno.lepioufle@satie.ens-cachan.fr](mailto:bruno.lepioufle@satie.ens-cachan.fr)

**Durée du projet :** 24 mois

**Membres pressentis de l'équipe-projet :**

Budyn Elisa, PU, LMT	4 homme-mois
Tauc Patrick, Dir. CNRS, LBPA	4 homme-mois
Le Pioufle Bruno, PU Res BIOMIS, SATIE	2 homme-mois
Cazenave Jean-Christophe, Ing. Rech., LMT	2 homme-mois
Bumedijen Raka, Ing. Rech., LMT	2 homme-mois
Cinqin Bertrand, Ing. Rech., LBPA	2 homme-mois
Deprez Eric, Dir. CNRS, LBPA	2 homme-mois
Lemaire Olivier, MCF, SATIE	2 homme-mois
1 étudiants M2	5 homme mois

#### Résumé du projet :

Avec une espérance de vie allongée aux Etats-Unis et en Europe, des pathologies osseuses liées à des pertes osseuses substantielles apparaissent chez des patients plus âgés à la suite de resections de cancers ou de traumatismes sur des os ostéoporotiques. Ce phénomène engendre des dépenses de 5 à 10 millions dans le système de santé. L'os cortical Haversien humain est un tissu hétérogène très complexe résultant du processus continu de remodelage. Parce que les ostéocytes régulent ce renouvellement osseux, il est essentiel de quantifier in situ les relations entre les stimulations mécaniques, la réponse biologique cellulaire et les interactions électriques liées d'une part aux variations de concentrations chimiques produites par les cellules et d'autre part liées à la réponse piézoélectrique du tissu. La connaissance de ces interactions multi-physiques permettra l'identification de facteurs mécaniques, électriques et chimiques positifs sur les capacités réparatrices osseuses pour créer des nouveaux traitements efficaces.

## Description scientifique du projet (3 à 8 pages)

### Le rôle de l'ostéocyte pour la réparation osseuse:

Avec une espérance de vie allongée aux Etats-Unis et en Europe, des pathologies osseuses liées à des pertes osseuses substantielles apparaissent chez des patients plus âgés à la suite de resections de cancers ou de traumatismes sur des os ostéoporotiques. Dans ces cas, le corps n'est plus capable de réparer ces défauts. Ce phénomène engendre des dépenses de 5 à 10 millions dans le système de santé. Des nouveaux traitements rapides et plus biocompatibles permettraient de réduire ces coûts.

L'os cortical Haversien humain est un tissu hétérogène complexe résultant du processus continu de remodelage. L'os humain est donc un tissu biologique caractérisé par une architecture complexe et multi-fonctionnelle. Souvent très hiérarchique, les constructions de la Nature ont des propriétés optimales pour répondre efficacement à une charge mécanique avec un poids minimal. De plus les tissus vivants adaptent leur biologie à des stimuli mécaniques variables pour produire les structures adaptées. En plus des interactions mécano-chimiques, des micro courants électriques sont produits dans certains tissus comme l'os par les ions exposés suites à des micro-endommagements dus à de micro-déplacements [22] (micro-tension d'environ 1 mV sous 300N de charge mécanique) d'une part et par les variations de concentrations chimiques produites par les réponses cellulaires mesurée dans des cultures cellulaires [23] et des explants [24,25] d'autre part. Ces tissus sont piézoélectriques et sont formés par des cellules mécano-sensibles. L'os cortical forme la couche extérieure des os longs et est capable de réparation permanente des micro défauts qui naissent ou se propagent dès leur détection. L'os cortical est aussi capable d'apposer du nouveau tissu et de résorber le tissu endommagé.

Au court du remodelage osseux de ces zones endommagées, les ostéoclastes résorbent les micro-endommagements avant que les ostéoblastes forment des structures tubulaires d'environ 150 à 250 microns appelées ostéons composés de multiples lamelles de 5 microns contenant des fibres de collagènes minéralisées par des cristaux d'hydroxyapatite immergées dans des protéines non-collagéniques et des protéoglycans [1].

Les ostéoblastes sont issues de cellules mésenchymateuses différenciées et certains continuent à se différencier en ostéocytes après être emprisonnées dans la matrice minéralisée. Les ostéocytes sont des cellules mécano-sensitives qui détectent les stimulations produites par les micro-endommagements grâce à 40 à 60 extensions cytoplasmiques qui sont placées dans des canaliculi pour créer un réseau avec les cellules avoisinantes.

Les ostéocytes répondent à des messages biologiques et mécaniques. Ces cellules produisent par exocytose des fibres protéiques formant la matrice extracellulaire dont la structure dépend du micro-environnement naturel *in situ* de la cellule. La matrice extra cellulaire des lamelles ostéonales osseuses est un tissu minéralisé qui constitue l'environnement des ostéocytes. Le milieu est composé d'une phase organique contenant des protéines non-collagéniques comme l'ostéopontine et de protéoglycans comme la décorine qui agissent comme de la glue entre les fibrilles de collagène (principalement de type I) et la phase minérale des nano-cristaux plats d'hydroxyapatite. La structure hiérarchique de ce composite affecte les propriétés de fissuration de l'os [2].

Parce les ostéocytes régulent le renouvellement osseux, il est essentiel de quantifier *in situ* les relations entre les stimulations mécaniques, la réponse biologique cellulaire et les interactions électriques liées d'une part aux variations de concentrations chimiques produites par la réponse cellulaire et d'autre part liées à la réponse piézoélectrique du tissu osseux. La meilleure connaissance de ces interactions multi-physiques permettra l'identification de facteurs mécaniques, électriques et chimiques positifs sur la croissance osseuse et ses capacités réparatrices pour créer des nouveaux traitements.

Le projet présenté s'articule autour des six tâches de recherche suivantes:

**RT1: Systèmes osseux vivants pour l'observation et mesures physiques *in situ* de l'ostéocyte:**

Dans l'exercice du quotidien, du à sa teneur minéral importante, l'os subit différents types de micro endommagements au court d'un mécanisme de fissuration complexe avec une transition entre un régime fragile puis ductile [3]. Ces micro-endommagements sont soit facilement identifiables sous microscopie optique comme les micro fissures linéaires développées sur plusieurs lamelles ou bien plus diffus et visibles seulement sous microscope à balayage électronique et à fluorescence [4] comme les fissures sub-microscopiques à l'intérieur des lamelles ou les disruptions de l'arrangement des phases minérale et organique à l'échelle de la fibrille. Néanmoins ces micro-endommagements interagissent à l'interface des extensions cellulaires de l'ostéocytes [5,6]. Il est aussi à noter qu'avec le vieillissement, la qualité du collagène s'amenuise et la proportion du contenu minéral tend à augmenter, ce qui conduit à un tissu osseux potentiellement plus fragile produisant des stimuli mécaniques modifiés comparés à l'os sain et jeune.

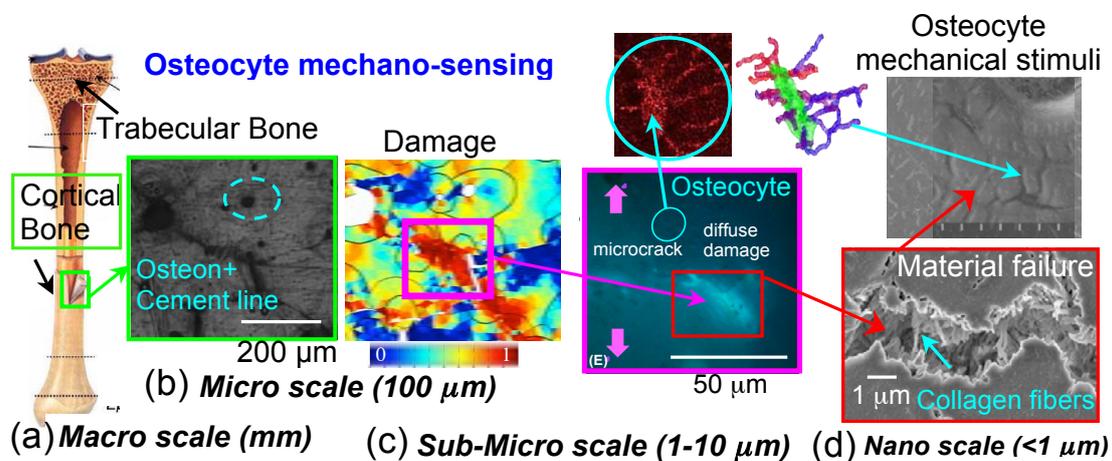


Figure 1: (a) Femur humain, (b) Light Microscopie d'os cortical humain et de micro-endommagement diffus et sa cartographie d'identification numérique, (c) Microscopie à fluorescence et confocale de lamelle ostéonale, (d) BSEM observation à l'intérieur d'une micro fissure(F. Garnier, T. Hoc, D. Aubry, E. Deprez, E. Budyn ).

Les ostéocytes sont distribués à travers la microstructure à l'intérieur des lamelles ostéonales et dans l'os interstitiel (Figure 1b). Les ostéocytes sont des cellules mécano-sensibles capable de percevoir les stimulations mécaniques auxquelles elles répondent en adaptant leur biologie interne ainsi qu'à tout changement dans leur microenvironnement mécanique. Les osteocytes sont logés dans les lacune ellipsoïdales à l'intérieure de la matrice extra cellulaire minéralisée au travers de laquelle les cellules projettent de nombreux filopodes dans de micro canaux appelés canalicules. Cependant le microenvironnement mécanique des cellules humaines est difficile à quantifier précisément à cette échelle en raison de sa complexité morphologique et des limites de l'imagerie en milieu denses et minéralisés.

Néanmoins ces microfissures sont suspectées d'agir comme les stimuli mécaniques [7,8,9] produisant de fortes déformations locales perçues par les cellules à travers leur nombreux canalicules intercommuniquants [4]. Les ostéocytes transcrivent ce signal physique en un message chimique par un procédé appelé mécano-transduction qui amorce le remodelage des défauts. Mais la nature de ce stimulus produit par l'os endommagé sur l'ostéocyte n'est pas encore clairement identifiée. En effet, en plus du phénomène de mécano-transduction, s'ajoute des stimulations micro-électriques encore moins connues à cette échelle qui émanent des variations de substances chimiques produites par les cellules et des propriétés piézo-électriques de la matrice extracellulaire osseuse.

L'os cortical est un tissu qui est étudié depuis longtemps. Différentes techniques expérimentales comme la micro computed tomographie par rayon X, la résonance magnétique nucléaire ou les ultra-sons permettent la détection de petites fissures. Néanmoins les champs mécaniques souvent mesurés par la ténacité accrue dans l'os qui opère sur plusieurs échelles de la fibre minéralisée à l'ostéon [10] ne sont pas mesurables par ces techniques. A l'échelle cellulaire, la microscopie à fluorescence et la microscopie laser confocal cependant offrent les moyens nécessaires pour l'observation dynamique *in vitro* des phénomènes mécaniques et biochimiques. Ces observations couplées à une analyse numérique *in situ* où la morphologie est explicitée et les déformations mesurées par corrélation d'images permettent une quantification des champs mécaniques locaux sur plusieurs échelles [3,11] sans idéalisation morphologique. Pour le couplage de ces techniques microscopiques et numériques, la création de Bone LABS (Live Allograft Biological Systems) par le Dr. Budyn où des échantillons de tissus humains frais sont décellularisés puis recellularisés avec des cellules humaines [5,6,12,13,14], permet ces mesures mécano-chimiques. L'extension avec des mesures électriques dans la matrice extracellulaire et au niveau cellulaire dans des conditions *in vitro* contrôlées permettra d'offrir une compréhension plus complète de l'interaction des ostéocytes avec leur microenvironnement.

### **RT2: Modèle mécanique du micro-environnement de l'ostéocyte:**

Le travail proposé se concentre sur l'évaluation *in situ* des champs mécaniques aux abords de la lacune ostéocytaire par des méthodes d'imagerie microscopique multi-modales (optique, fluorescence et électronique) couplées à un modèle numérique hiérarchique sur plusieurs échelles basé sur la morphologie explicite du tissu osseux et l'analyse d'images [6,7]. Les investigations duales expérimentales et numériques dans une approche top-down seront conduites pour des tests sur du tissu humain frais pour recueillir les informations mécaniques utiles durant la progression contrôlée d'endommagement sub-microscopique. La morphologie tridimensionnelle de l'ostéocyte pourra être reconstruite grâce à la microscopie confocal qui offre une possibilité de pénétration dans l'os cortical suffisante (10 microns). Les caractérisations macro-moléculaire de la matrice extra-cellulaire et des constituants intra-cellulaires (noyau, cytosquelette, cytoplasme, activité cellulaire) et sa réponse biochimique (dans une phase plus avancée du projet) pourront être réalisées sous microscopie à fluorescence et multi-photonique. Le tissu osseux provient d'une collaboration avec le laboratoire B2OA de l'université Paris-Diderot.

### **RT3: Corrélation entre la réponse biologique et les contraintes mécaniques:**

La reconstruction de la morphologie explicite en 3D du tissu soumis *in vitro* à des contraintes mécaniques contrôlées permet de visualiser les champs mécaniques *in situ* perçus par les ostéocytes en même temps que la réponse cellulaire comme le calcium cytoplasmique libéré par exemple (Figure 2). La réponse mécanique *in situ* du tissu osseux sera modélisée par une approche multi-échelles. Les ostéons seront modélisés explicitement avec leurs propres tenseurs de rigidité corrélées à leur minéralisation obtenu par nano-indentation et une interface cohésive avec l'os interstitiel [15]. L'orientation des fibres de collagènes des lamelles ostéonales sera prises en compte dans l'anisotropie local multi-couches de l'ostéon [3]. La coopération de la phase minérale d'hydroxyapatite et du collagène sera représentée par une loi d'endommagement anisotrope dont la loi d'évolution a été déterminée dans des travaux antérieurs [3].

Les flux biochimiques de calcium cytoplasmiques seront mesurés par variation d'intensité de fluorescence avec les fluorochromes adaptés [5,6,12,13]. Ces observations seront réalisées dans des LABS sous microscopie à fluorescence au B2OA et microscopie confocal mono et bi-photonique au LBPA en collaboration avec le Dr. Tauc.

L'identification des mécanisme mécano-chimique donnera lieu à une modélisation multi-physique explicite du micro-environnement de l'ostéocyte dans la continuation de travaux en cours [12,13].

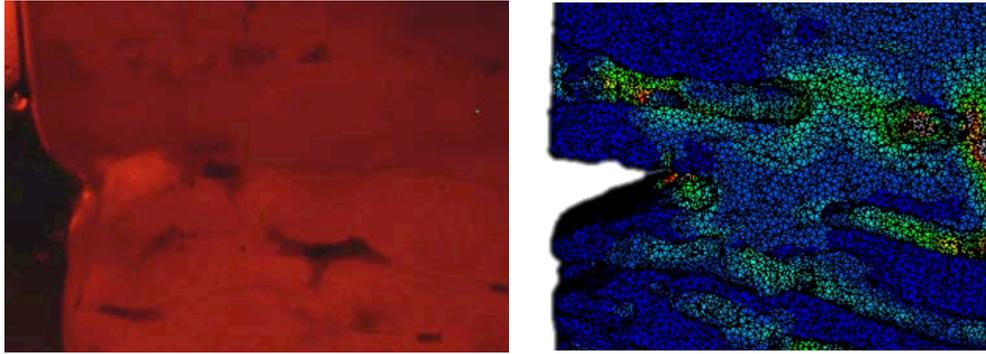


Figure 2: (a) Fluorescence Microscopie d'os cortical humain montrant les flux de calcium produit par les ostéocytes aux abords de micro-endommagements, (b) champs des contraintes locales perçues par les ostéocytes [14,15].

**RT4: Corrélation entre la réponse biologique et les micro-courants électriques:**

Les stimulations électriques ont aussi un rôle sur le développement ostéocytaire [16] et la différentiation de ses cellules progénitrices, les cellules mésenchymateuse [17]. Les cellules cultivées dans les LABS sous charge mécanique soit perdent 60 nM de  $Ca^{2+}$ /cell soit produisent 10 nM de  $Ca^{2+}$ /cell en fonction de leur stades de différentiation (Figure 3). Les population cellulaires typiquement utilisées sont d'environ  $10^5$  cell/mL. De très faible variation de potentiel électriques sont à envisager, notamment dans le fin film de matrice extracellulaire fraichement produite par les ostéocytes en cours de différentiation sur et à l'intérieur des porosités du tissu osseu. Ces possibles variations de micro-potentiels seront donc explorés. L'introduction de micro-électrodes souples au sein de cultures des ostéocytes in vitro de type LABS (Live Allograft Biological Systems) dans la fine matrice extra-cellulaire produites par les ostéocytes est envisagée (laboratoire SATIE) [26], afin de solliciter électriquement les tissus, imagés sous microscopie confocale (LBPA).

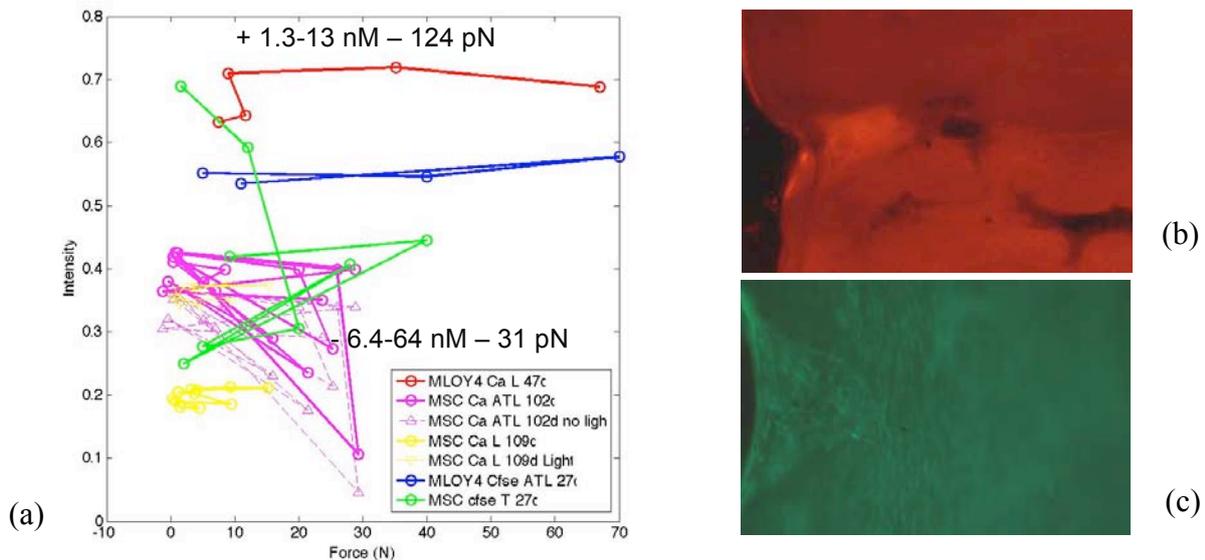


Figure 3: (a) Mesure des flux de calcium cytoplasmique dans les ostéocytes prog nitriciens et matures sous charges mécaniques par Microscopie   Fluorescence aux abords de micro-endommagements, (b) Ostéocytes matures sous une charge mécanique globale de 35N à 47 jours, (c) ostéocytes prog nitriciens sous une charge mécanique globale de 40N à 21 jours [12,13].

### **RT5: Corrélation entre la réponse mécanique du tissu et les micro-courants électriques:**

Lors de la g n rescence de micro-endommagements contrôlés dans le tissu osseux, l'exposition d'ions sur les lignes de fractures est suspectée de modifier l'impédance local du tissu aux abords des cellules [18]. En effet des variations d'impédance osseuses ont été mises en évidence par stimulations ultra-soniques [19], X-ray [20] ou directement électriques [21]. Le tissu osseux est connu pour développer des potentiels négatifs dans des zones en compression et des potentiels positifs dans des zones en tension. Cette piézoélectricité est supposée être liée à la création de motifs dans les macromolécules de la matrice extracellulaire. De plus l'os contient deux composants piézoélectrique : le collagène et l'apatite. Ce phénomène intervient au niveau de la nucléation des cristaux d'apatite où les zones comprimées du collagène attire les cations de calcium [22]. En comparaison de travaux dans la littérature, avec les contraintes habituelles de 30 à 50N appliquées aux LABS du Dr. Budyn, des micro potentiels de 0.1mV sont prévus [27, 28]. Deux protocoles distincts appliqués au tissu osseux seul ou au LABS seront développés pour valider la réponse du tissu seul comparé à la réponse du tissu recellularis . L'introduction de microélectrodes rigides développées pas le Prof. Le Pioufle introduites dans la matrice minéralisée peuvent permettre des mesures de variations d'impédances dans la matrice entourant les cellules.

### **RT6: Mesure de l'ost og nicit :**

Pour construire des systèmes vivants avec des applications cliniques, l'ost og nicit  des systèmes présentés sera explorée. Le tissu osseux allogreffe est connu pour être ost oconducteur, plus ou moins ost oinducteur et non ostéogène. Néanmoins des résultats préliminaires montrent que les systèmes présentés sont ostéogènes (Figure 4) [12,13]. Les polarisations due à la piézoélectricité de la matrice minéralisée du tissu osseux joue un rôle dans la nucléation des cristaux d'apatite [22] et le processus de différentiation des cellules mésenchymateuses [17]. L'étude proposée inclura une quantification de la densité des minéraux produits par les cellules progénitrices en cours de différentiation en fonction de l'amplitude des potentiels mesurés dans le tissu osseux.

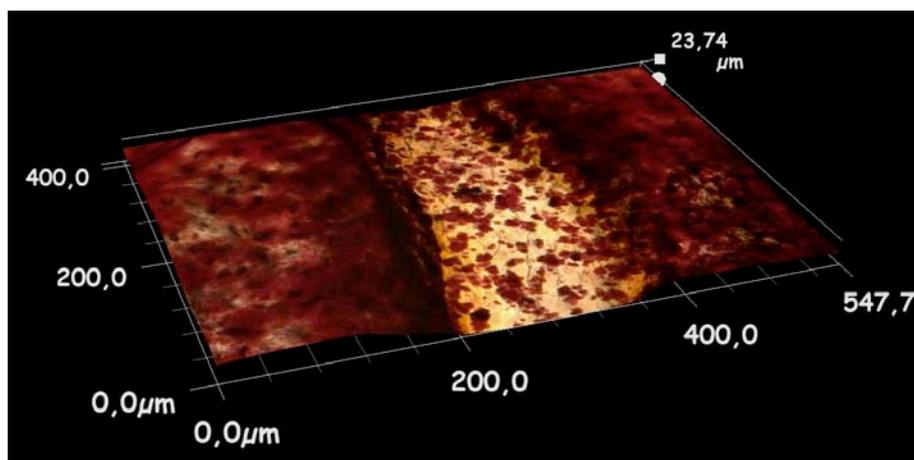


Figure 4: Coloration de la production d'une matrice extracellulaire en cours de minéralisation d s 39 jours par les ostéocytes progéniteurs en cours de différentiation après avoir été réimplantés sur l'os humain frais et d cellularis  [12,13].

## **Originalité du projet**

Le projet s'inscrit dans la continuation du projet NSF CMMI BMMB 1214816 d'E. Budyn et le projet Farman OLA ! Ces projets ont permis le dépôts de trois projet ANR interdisciplinaire entre le LMT, le LBPA, le MSSMat et le B2OA en septembre 2013, 2014 et 2015 sur une recherche plus large sur la mécano-biologie osseuse dépendant de l'interaction multi-physique mécano-chemo-électrique entre l'ostéocyte et sa matrice extra-cellulaire. L'identification de ces phénomènes repose sur des mesures concomitantes locales et globales sous chargement mécanique in situ. Le présent projet est centré sur l'approfondissement de la compréhension de la mécano-biologie de l'ostéocyte avec une extension aux interactions électriques du tissu piézoélectrique et des micro-flux cellulaires de variations chimiques. Le projet hautement multi-physique propose d'initier une collaboration interdisciplinaire avec trois laboratoires qui apportent leur compétence propre mécanique, biologique et électrique sur l'étude de ce système naturel. L'équipe des trois laboratoires ENS aura accès à l'environnement médical nécessaire à la manipulation de tissus humains vivants grâce au B2OA de l'Université Paris Diderot.

Les mesures expérimentales seront effectuées in situ dans des systèmes vivants mimant l'environnement in vivo sur des tissus humains frais décellularisés puis recellularisés avec des cellules humaines. Ce qui constitue une première mondiale.

Le micro-environnement de l'ostéocyte est difficilement accessible in vivo. La création de LABS (Live Allograft Biological Tissues) par le Prof. E. Budyn où les ostéocytes progéniteurs ou matures sont réimplantés sur de l'os humain permet d'explorer en détail la réponse cellulaire in situ à cette échelle clef dans un microenvironnement in vitro qui mime aussi proche que possible le milieu in vivo. Ces systèmes sont observables par différent modes de microscopies et manipulables en leur appliquant in situ des contraintes mécaniques ou électriques et d'en mesurer leur effet sur la réponse cellulaire. Cette études reste très ciblée et n'a pas encore été étudiée jusqu'à présent avec ce type de modalités expérimentales et numériques.

Les méthodes d'investigations proposés permettent d'approfondir la compréhension de l'origine et des répercussions des micro-endommagement (de la micro-fissuration) osseuse sub-microscopique au voisinage de la cellule osseuse créés sous contraintes mécaniques contrôlés sur la réponse électriques du tissu et des cellules et leur réponse biologiques. Les mécanismes locaux de fissuration et endommagement dans l'os sont identifiables échelle par échelle par balance énergétique globale [7]. Les mesures de variations de concentrations chimiques produites par les cellules peuvent être investiguées par des fluorochromes. Les mesures de variations locales de micro courants et d'impédances sont mesurable par microélectrodes. Les trois compétences des trois laboratoires impliqués, LMT, LBPA et SATIE permettront de mener a bien la réalisation des objectifs présentés.

## **Valeur ajoutée des différents partenaires à la réalisation du projet :**

Le LMT est équipé de moyens techniques d'exploration mécanique performants sur les matériaux à fines échelles qui est une thématique importante pour ce laboratoire. Ces technique ont été notamment améliorée depuis l'acquisition de microtopographie a rayon X grâce au projet MATMECA. Le LMT et le LBPA possèdent un microscope à balayage électronique permettant une imagerie de l'endommagement du tissu osseux a l'échelle du micron et la quantification de sa minéralisation. Le LBPA possède les techniques d'exploration microscopique à fluorescence complémentaire du LMT, puisque possible sur du tissu frais ou vivant pour en observer les propriétés organiques et mesurer les réponses cellulaires. La microscopie confocal du LBPA permet également des mesures 3D de l'environnement osteocytaire pour sa reconstruction numérique. Enfin le laboratoire LBPA possède l'espace et l'équipement nécessaire pour la culture cellulaire et le maintient en vie de systèmes biologiques vivant. Le SATIE possède les techniques de mesure de

micro-courants et d'impédances en milieux biologiques. La collaboration entre le LBPA, le SATIE et le LMT offre la possibilité d'une investigation multi-physiques conjuguées entre les interactions des aspects mécanique, électrique et biologique dans le micro-environnement de l'ostéocyte et de sa réponse électro-mécano-transductrice.

Le projet est porté par E. Budyn, P. Tauc and B. Le Pioufle, Professeur des Universités et Directeur de recherche CNRS et Professeur des Universités à l'ENS-Cachan. E. Budyn a rejoint la division structure au sein du LMT en Septembre 2013 après seize ans d'expérience à Chicago et est spécialiste des méthodes duales expérimentales et numériques d'identification des propriétés des tissus biologiques et cellules en particulier sur l'os cortical depuis plus de douze d'années. P. Tauc est membre de l'équipe "biophotonique et interactions moléculaire" au LBPA et est spécialiste de l'étude des interactions protéines-ADN par microscopie à fluorescence, microscopie laser confocal et multi-photonique en milieu cellulaire vivant. B. Le Pioufle est Professeur des Universités et responsable de l'équipe BIOMIS, "Bio-Microsystèmes et Biocapteurs". Cette équipe a le savoir-faire du design et de l'implémentation de microsystèmes capables de mesurer des micro courants et cartographier les impédances de tissus biologiques.

Le projet s'inscrit dans un effort du Prof. E. Budyn de poursuivre ses recherches à des échelles fines du tissu vers la cellule et d'une meilleure compréhension des mécanismes de différenciation et de la production de la matrice extracellulaires en lien avec les interactions cellule/ECM. Ce projet s'inscrit aussi dans un effort des Directeurs CNRS P. Tauc et E. Deprez (Directeur de l'IDA) de poursuivre ses recherches vers des échelles plus globales de la cellule vers le tissu. Enfin Ce projet se développe sur des aspects multi-physiques et l'intégration de l'étude des interactions de la bioélectricité (SATIE) avec les aspects mécano-chimiques qui ont été exploré au cours des deux dernières années par les autres membres du groupe qui présente ce projet.

## Références:

- [1] G. Boivin and P. J. Meunier. The degree of mineralization of bone tissue measured by computerized quantitative contact microradiography. *Calcified Tissue International*, 70:503-511, 2002.
- [2] P. Fratzl and R. Weinkamer. Natures hierarchical materials. *Progress in Material Sciences*, 52:1263-1334, 2007.
- [3] J Jonvaux, T Hoc, and E Budyn. Analysis of micro fracture in human Haversian cortical bone under compression. *International Journal of Numerical Methods in Biomedical Engineering*, 28(9):974-998, 2012.
- [4] X Sun, E McLamore, V Kishore, M Slipchenko, D M Porterfield, and O Akkus. Mechanical stretch induced calcium eflux from bone matrix stimulates osteoblasts. *Bone*, 50:581-591, 2012.
- [5] E. Budyn, P. Tauc, M. Bensidhoum, H. Petite and E. Deprez, Back to life: fresh osteocytes spreading their processes for optimum mechanotransduction near microdamage in dead bone, *Medical Engineering Centres Annual Meeting and Bioengineering14*, Vol. 1, p. 63-64, 2014, MECbioeng14 Imperial College London. ISBN 978-0-9930390-0-3
- [6] E. Budyn, M. Bensidhoum, P. Tauc, E. Deprez, H. Petite, How the morphlogy of osteocytes contributes to their mechanotransduction near microdamage, *MRS Fall meeting 2014 Proceeding*, 1-5 December 2014, Boston, USA, 8 pages. DOI: <http://dx.doi.org/10.1557/opl.2015.598>
- [7] D.R. Carter. and W. C. Hayes, Compact bone fatigue damage: A microscopic examination. *C/in. Orthop.* 127, 265-274, 1977.
- [8] H.L. Frost, Presence of microscopic cracks in vivo in bone. *Henry Ford Hospital Bulletin*, 8, 25. 1960.
- [9] P.D. Pajevic. Regulation of bone resorption and mineral homeostasis by osteocytes, *IBMS BoneKey*, 6(2):63-70, 2009.
- [10] K.J. Koester, JW Ager, and RO Ritchie. The true toughness of human cortical bone measured with realistically short cracks. *Nature Materials*, 7:672-677, 2008.
- [11] E. Budyn and T Hoc. Analysis of micro fracture in human haversian cortical bone under transverse tension using extended physical imaging. *International Journal of Numerical Methods in Engineering*, 82(8):940-965, 2010.
- [12] E. Budyn, M. Bensidhoum, T. Marsan, F. Mainnemare, P. Tauc, E. Deprez, H. Petite, How the morphlogy of progenitor and mature osteocytes contributes to their mechanotransduction, *ECCOMAS Coupled Problems 2015*, S. Idelsohn, M. Papadrakakis and B. Schrefler (Eds.) CIMNE, 10 pages, 2015. ISBN 978-0-9562914-3-1
- [13] E. Budyn, M. Bensidhoum, T. Marsan, F. Mainnemare, P. Tauc, S. Sasnouski, E. Schmidt, E. Deprez,

- H. Petite, Mechano-Transduction of Osteocytes in Live Allograft Bone Systems (LABS), CMBE 2015, P. Nithiarasu E. Budyn (Eds.) E. Boileau, I. Sazonov, X. Xie (co-Eds.), ZetaComputational Resources Ltd., vol. 1, p. 124-127, 2015, ISBN 978-0-9562914-3-1, ISSN 2227-3085 e-ISBN 2227-9385
- [14] E. Budyn, M. Bensidhoum, S. Sanders, Siarhei Sasnousky, P. Tauc, E. Schmidt, N. Roubier, D. Aubry, E. Deprez and H. Petite. Live allograft bone systems to quantify osteocyte calcium response to mechanical load at successive differentiation stages, Medical Engineering Centres Annual Meeting and Bioengineering15, Vol. 1, p. 180, 2015, MECbioeng15 University of Leeds. ISBN 978-085-316-3442
- [15] S. Sanders, M. Bensidhoum, E. Budyn, Explicit 3-Dimensional Modelling of Human Haversian Cortical Bone Failure, CMBE 2015, P. Nithiarasu E. Budyn (Eds.) E. Boileau, I. Sazonov, X. Xie (co-Eds.), ZetaComputational Resources Ltd., vol. 1, p. 132-135, 2015, ISBN 978-0-9562914-3-1, ISSN 2227-3085 e-ISBN 2227-9385
- [16] G. Iolascon, G. Resmini, U. Tarantino, Mechanobiology of bone, Aging clinical and experimental research, 25 :S3-S7, 2013
- [17] S. Sundelacruz, M. Levin, D.L. Kaplan, Comparison of the depolarization response of human mesenchymal stem cells from different donors, Scientific reports, 5:18279, 2015
- [18] T. Lemaire, S. Naili, Possible role of calcium permselectivity in bone adaptation, Medical Hypotheses, 78:367-369, 2012.
- [19] Hosokawa, Numerical simulation of piezoelectric effect of bone under ultrasound irradiation, Japanese Journal of Applied Physics 54, 07HF06 (2015)
- [20] D.C.F. Wieland, C. Krywka, E. Mick, R. Willumeit-Römer, R. Bader and D. Kluess, Investigation of the inverse piezoelectric effect of trabecular bone on a micrometer length scale using synchrotron radiation, Acta Biomaterialia, 25:339–346, 2015.
- [21] U. Zimmermann, and U. van Rienen, The Impact of Bone Microstructure on the Field Distribution of Electrostimulative Implants, IEEE Proceeding, 3545-3548, 2015.
- [22] L. Ren, P. Yang, Z. Wang, J. Zhang, C. Ding, P. Shang, Biomechanical and biophysical environment of bone from the macroscopic to the pericellular and molecular level (a review), Journal of the mechanical behavior of biomedical materials, 50 :104-122, 2015.
- [23] X. L. Lu, B. Huo, M. Park, X. E. Guo, Calcium response in osteocytic networks under steady and oscillatory fluid flow, Bone, 51:466-473, 2012.
- [24] Y. Ishihara, Y. Sugawara, H. Kamioka, N. Kawanabe, S. Hayano, T. A. Balam, K. Naruse, T. Yamashiro, Ex vivo real-time observation of  $Ca^{2+}$  signaling in living bone in response to shear stress applied on the bone surface, Bone, 53:204-215, 2013
- [25] T. Adachi, Y. Aonuma, S.-I. Ito, M. Tanaka, M. Hojo, T. Takano-Yamamoto, H. Kamioka, Osteocyte calcium signaling response to bone matrix deformation, Journal of Biomechanics, 42:2507–2512, 2009.
- [26] C. I. Trainito, O. Français, B. Le Pioufle, Monitoring the permeabilization of a single cell in microfluidic device, through the estimation of its dielectric properties based on combined dielectrophoresis and electrorotation in situ experiments, Electrophoresis, 36(9-10):1115-1122, 2015.
- [27] D. Fu, Z. Hou, Q.-H. Qin, L. Xu, and Y. Zeng, Influence of Shear Stress on Behaviors, of Piezoelectric Voltages in Bone, Journal of Applied Biomechanics, 28, 387-393, 2012.
- [28] L. Xu, Z. Hou, D. Fu, Q.-H. Qin, Y. Wang, Stretched exponential relaxation of piezovoltages in wet bovine bone, Journal of the mechanical behavior of biomedical materials, 41 :115-123, 2015.

## Publication du projet scientifique sur site web Farman

Acceptez-vous la publication de ce projet scientifique sur le site web Farman ? O après avoir été  dit 