

UNIVERSITÉ DE MONTRÉAL

EFFET DE L'ÂGE ET DE LA DISTANCE DE LA SURFACE ARTICULAIRE SUR
LES PROPRIÉTÉS MÉCANIQUES DU CARTILAGE ARTICULAIRE EN TENSION

MATHIEU CHARLEBOIS
DÉPARTEMENT DE GÉNIE BIOMÉDICAL
ÉCOLE POLYTECHNIQUE DE MONTRÉAL

MÉMOIRE PRÉSENTÉ EN VUE DE L'OBTENTION
DU DIPLÔME DE MAÎTRISE ÈS SCIENCES APPLIQUÉES
(GÉNIE CIVIL)
SEPTEMBRE 2002

© Mathieu Charlebois, 2003.



National Library
of Canada

Acquisitions and
Bibliographic Services

395 Wellington Street
Ottawa ON K1A 0N4
Canada

Bibliothèque nationale
du Canada

Acquisitions et
services bibliographiques

395, rue Wellington
Ottawa ON K1A 0N4
Canada

Your file Votre référence

Our file Notre référence

The author has granted a non-exclusive licence allowing the National Library of Canada to reproduce, loan, distribute or sell copies of this thesis in microform, paper or electronic formats.

The author retains ownership of the copyright in this thesis. Neither the thesis nor substantial extracts from it may be printed or otherwise reproduced without the author's permission.

L'auteur a accordé une licence non exclusive permettant à la Bibliothèque nationale du Canada de reproduire, prêter, distribuer ou vendre des copies de cette thèse sous la forme de microfiche/film, de reproduction sur papier ou sur format électronique.

L'auteur conserve la propriété du droit d'auteur qui protège cette thèse. Ni la thèse ni des extraits substantiels de celle-ci ne doivent être imprimés ou autrement reproduits sans son autorisation.

0-612-81513-7

Canada

UNIVERSITÉ DE MONTRÉAL

ÉCOLE POLYTECHNIQUE DE MONTRÉAL

Ce mémoire intitulé:

EFFET DE L'ÂGE ET DE LA DISTANCE DE LA SURFACE ARTICULAIRE SUR
LES PROPRIÉTÉS MÉCANIQUES DU CARTILAGE ARTICULAIRE EN TENSION

présenté par: CHARLEBOIS Mathieu

en vue de l'obtention du diplôme de: Maîtrise ès sciences appliquées

a été dûment accepté par le jury d'examen constitué de:

M. SHIRAZI-ADL Aboulfazl, Ph.D., président

M. BUSCHMANN Micheal, Ph.D., membre et directeur de recherche

M. AUBIN Carl-Éric, Ph.D., membre

Résumé

Les fibres de collagène constituent l'une des composantes principales du cartilage articulaire. Celles-ci forment un réseau dans lequel le gel formé par l'interaction des charges négatives des protéoglycanes et des cations contenus dans la phase liquide est enchevêtré. Les fibres de collagène, grâce à leur structure ressemblant à celle d'une corde, ont comme propriété de résister à des charges en tension. Les fibres de collagène ont donc un rôle majeur dans les propriétés du cartilage articulaire en tension. Les tests en tension effectués sur le cartilage articulaire permettent donc d'obtenir de l'information sur le comportement des fibres de collagène.

Des modèles mathématiques, développés de tests en compression non-confinée, permettent d'obtenir des informations sur la microstructure du cartilage en effectuant des régressions linéaires sur les courbes expérimentales obtenues. Ces modèles, basés sur les résultats obtenus de tests en compression non-confinée, prévoient théoriquement les propriétés en tension des fibres de collagène. Ces modèles prévoient un effet non-linéaire du module en tension des fibres de collagène, c'est-à-dire que le module augmente avec l'étirement. L'objectif principal des tests en tension est de vérifier expérimentalement cet effet non-linéaire.

Peu d'études portant sur les propriétés mécaniques du cartilage articulaire en tension ont été effectuées. Or, l'une de ces études mentionne que, lors de l'application d'une relaxation de contrainte, la relaxation du cartilage pouvait prendre jusqu'à 7 heures pour atteindre l'équilibre. Malgré cette observation, les tests ont été effectués avec des temps de relaxation de 15 minutes. Le protocole de test a été établi de manière à isoler au maximum le comportement des fibres de collagène. Ainsi, le protocole utilisé permet à l'échantillon de relaxer pendant plusieurs heures (variant de 5½ à 10½) entre chaque déformation, qui sont de faible amplitude. Aussi, pour augmenter la quantité

d'informations provenant des tests mécaniques, le modèle mathématique analytique a été appliqué à la géométrie des tests en tension. Le modèle prévoit un comportement presque élastique du cartilage en tension, principalement basé sur un comportement élastique des fibres de collagène.

Les tests en tension n'avaient jamais été faits dans notre département ce qui a demandé un développement de certaines méthodes et une adaptation du testeur mécanique. Ainsi, la méthode pour obtenir l'échantillon a été basée principalement sur celle développée pour les tests en compression, à l'exception que les échantillons de cartilage étaient conservés sans être détachés de l'os et que l'échantillon était coupé aux dimensions voulues immédiatement avant un test. Aussi, le testeur mécanique a été adapté afin de pouvoir étirer un échantillon de cartilage en utilisant un système d'anneau qui permet à l'actuateur d'étirer l'échantillon poussant. Finalement, un montage utilisant le même système d'attache que le testeur mécanique et permettant d'effectuer des étirements sous microscopie a été développé afin de déterminer la déformation réelle ayant lieu lors d'un étirement.

L'objectif principal de ces tests en tension est d'obtenir de l'information sur les fibres de collagène composant le cartilage articulaire. De manière plus spécifique, cette étude comporte trois objectifs :

- Montrer que les modules en tension du cartilage augmentent avec les étirements de tests en tension uniaxial
- Montrer que les modules en tension du cartilage diminuent en fonction de la profondeur dans le cartilage
- Montrer que la rigidité du cartilage augmente avec l'âge

Afin de caractériser les courbes obtenues, la rigidité au pic et le module à l'équilibre étaient calculés en utilisant la théorie des déformations infinitésimales. Ces données ont été calculées pour chaque étirement (5 au total) ce qui nous donne la pente de ces 5

étirements. Pour le cartilage jeune, la rigidité au pic et le module à l'équilibre ont une valeur de, respectivement, 10.0 ± 3.3 MPa et 0.0 ± 0.5 MPa. La pente de cette rigidité au pic et de ce module à l'équilibre est de, respectivement, 0.8 ± 0.4 MPa/% et -0.09 ± 0.19 MPa/%. Pour le cartilage adolescent, la rigidité au pic et le module à l'équilibre ont une valeur de, respectivement, 18.7 ± 5.9 MPa et 4.7 ± 3.8 MPa. La pente de cette rigidité au pic et de ce module à l'équilibre est de, respectivement, 1.8 ± 0.4 MPa/% et -0.28 ± 0.22 MPa/%. Pour le cartilage adulte, la rigidité au pic et le module à l'équilibre ont une valeur de, respectivement, 28.3 ± 16.6 MPa et 15.6 ± 10.2 MPa. La pente de cette rigidité au pic et de ce module à l'équilibre est de, respectivement, 3.1 ± 1.7 MPa/% et 1.75 ± 1.02 MPa/%. Aussi, les pentes des régressions linéaires effectuées sur un graphique des modules à l'équilibre en fonction de leur module au pic montre une différence extrêmement significative entre les différents groupes d'âge. Les valeurs de ces pentes sont de, pour les épaules adolescentes et adultes respectivement, 0.257 et 0.588. Les modules à l'équilibre des épaules jeunes étant pratiquement nuls, la régression linéaire n'a pas donné de bons résultats, la pente s'approchant de 0. Les tests mécaniques faits sur des couches profondes du cartilage n'ont pas donné de résultats quantitatifs, étant donné que ces couches lorsqu'elles étaient installées dans le montage ont montré un courbage entre les serres non-négligeable, ce qui ne permettait pas d'établir si la force provenait du décourbage ou de l'étirement. Tout de même, les résultats au cinquième étirement montrent une rigidité plus faible que la rigidité de la surface articulaire. Les résultats des étirements effectués sous microscope ont montré une déformation longitudinale (dans le sens de la déformation induite à l'échantillon) constante dans la longueur et largeur de l'échantillon et donnent une amplitude approximative de 1.5% par pas successif de 2% théorique, pour un total de $7.7 \pm 1.0\%$. La déformation transversale totale (0 à 10%) montre une très grande variation de sa moyenne dans la longueur de l'échantillon, étant de $-4.7 \pm 3.0\%$ et $-4.6 \pm 1.6\%$ proche des pinces, et étant, au maximum, de $-16.5 \pm 4.2\%$ au centre de l'échantillon. Le ratio de la déformation transversale sur la déformation longitudinale (ratio similaire au

coefficient de Poisson pour les matériaux élastique, isotrope et homogène) est d'environ 2.1 au centre de l'échantillon.

Pour les épaules adolescentes et adultes, les résultats montrent une augmentation du module à l'équilibre et de la rigidité au pic avec une augmentation de la déformation, alors que seulement la rigidité au pic augmente pour les épaules jeunes. Aussi, les résultats des tests mécaniques indiquent que le module à l'équilibre du cartilage jeune est nul (ou presque), augmentant par la suite avec l'âge des groupes testés. Ces résultats coïncident avec les résultats d'étude montrant que la quantité de réticulation augmente avec l'âge. Une augmentation des réticulations des fibres de collagène entraîne une diminution de la flexibilité et une augmentation de la rigidité du réseau. Ainsi, pour un même déplacement, le réseau de fibres de collagène fortement réticulé va opposer une plus grande résistance qu'un réseau peu réticulé, et inversement. La diminution de la rigidité avec la profondeur coïncide avec les résultats présentés en littérature. Aussi, la déformation longitudinale réelle est homogène et constante avec les étirements et correspond à 77% de la déformation appliquée. La déformation transversale montre une très grande variation étant proche de zéro sur le bord des serres et étant de 16.5% au centre de l'échantillon.

Le modèle mathématique analytique a été appliqué à la géométrie des tests en tension. Les courbes théoriques obtenues du modèle ne correspondent pas aux courbes expérimentales, l'amplitude de la relaxation des courbes théoriques étant trop faible. Premièrement, les conditions aux frontières ne correspondent pas aux conditions réelles. Deuxièmement, les hypothèses et approximations impliquent que la relaxation est causée par une entrée de fluide dans le cartilage, alors qu'une revue de littérature suggère fortement que la relaxation soit causée par une sortie de fluide. Par contre, les résultats des modules à l'équilibre obtenus théoriquement sont du même ordre de grandeur que les résultats expérimentaux, variant entre ~6 MPa et ~13 MPa. L'effet non-linéaire prévu par le modèle utilisant les éléments finis est beaucoup trop élevé.

Cette différence est peut-être causée par une différence entre la géométrie des échantillons des tests en compression (cylindrique) et en tension (rectangulaire).

Abstract

Collagen fibers constitute one of the main components of articular cartilage. They form a network in which the gel formed by the interaction of the negative charges of proteoglycans and the liquid phase's positive charge is entrapped. Collagen fibers, with their rope like structure, have the properties to resist tensile load and they have a major role in the tensile properties of articular cartilage. Tensile tests of articular cartilage enable to find the behavior of collagen fibers.

Mathematical models, developed from unconfined compression tests, provide information on cartilage microstructure by curve fitting experimental mechanical results. These models, base on unconfined compression test results, provide theoretical collagen fiber properties. These models assume collagen fiber non-linearity, which means that their modulus increases with deformation. The main objectives of the tensile tests are to verify this non-linear effect.

Few studies on tensile mechanical properties of articular cartilage were performed previously. One of these studies mentioned that, when doing a stress relaxation; the relaxation may take up to 7 hours to reach equilibrium. Despite this observation, their relaxation time was of 15 minutes. Our protocol was established in order to isolate as most as possible the collagen fiber's behavior. The protocol we used enables the cartilage to relax for several hours ($5\frac{1}{2}$ to $10\frac{1}{2}$) between each deformation, which are of small amplitude. Also, to increase the amount of information provided by the mechanical test, the analytical mathematic model was applied to the tensile test geometry. The model predicts a quasi-elastic behavior mainly based on the collagen fiber's behavior.

Tensile tests had never been done in our laboratory so the development of some methods and an adaptation of the mechanical tester were needed. The method to obtain

the samples is mainly based on the method used for compression tests with the exception that the samples were kept attached to the bone and were cut at the wanted dimension just before the tests. Also, the mechanical tester was adapted with a ring system, which enables the actuator to stretch the sample by pushing. Finally, pieces were designed to perform stretching under a light microscope while using the same gripping system as the mechanical tester in order to determine the real deformation occurring when stretching a sample.

The main objectives of this study are to obtain information on collagen fibers that are present in articular cartilage. More specifically, this study has three objectives:

- To show that tensile equilibrium modulus of articular cartilage with uniaxial tensile strain
- To show that tensile stiffness decreases with depth from the articular surface
- To show that tensile stiffness increases with age

In order to characterize the curve obtained, the peak's rigidity and the equilibrium's modulus were calculated using infinitesimal deformation theory. These data were calculated for each stretching (total of 5), which also gives the slope of these 5 stretchings. For young cartilage, peak's rigidity and equilibrium modulus are, respectively, of 10.0 ± 3.3 MPa and 0.0 ± 0.5 MPa. The slope of the peak's rigidity and equilibrium modulus are, respectively, of 0.8 ± 0.4 MPa/% and -0.09 ± 0.19 MPa/%. For adolescent cartilage, peak's rigidity and equilibrium modulus are, respectively, of 18.7 ± 5.9 MPa and 4.7 ± 3.8 MPa. The slope of their peak's rigidity and equilibrium modulus are, respectively, of 1.8 ± 0.4 MPa/% and 0.28 ± 0.22 MPa/%. For adult cartilage, peak's rigidity and equilibrium modulus are, respectively, of 28.3 ± 16.6 MPa and 15.6 ± 10.2 MPa. The slope of their peak's rigidity and equilibrium modulus are, respectively, of 3.1 ± 1.7 MPa/% and 1.75 ± 1.02 MPa/%. Also, a linear fit was made to find the ratio equilibrium-modulus/peak stiffness. It gave an extremely significant difference between the three age groups. The values of these slopes are, respectively for

adolescent and adult shoulders, of 0.257 et 0.588. Because the equilibrium modulus of the young was near zero, the linear fit did not give good results. Mechanical test on the deeper zone in cartilage did not gave good quantitative results because, once install in the device, the samples showed a non-negligible curvature between the grips, which did not allow us to establish if the force was from decurvature or tensile properties of the samples. Nevertheless, the rigidity obtained from last stretching was smaller then the rigidity from the articular surface. The results from the stretching under light microscopy showed that the computed longitudinal deformation between each strain showed a constant deformation within the length and the width of the sample. An average of 1.5% deformation was computed between successive stretches and the overall computed deformation (0% to 10%) had an average of $7.7 \pm 1.0\%$. The overall computed transversal deformation (0 to 10%) shows a large variation along the length of the sample. Near the grips, the deformation is $-4.7 \pm 3.0 \%$ and $-4.6 \pm 1.6 \%$, and the largest deformation was in the center of the sample, with an average of $-16.5 \pm 4.2 \%$. The ratio of the computed transversal deformation on the longitudinal deformation (Poisson's ratio for elastic, isotropic and homogeneous materials) is approximately 2,1 in the center of the sample.

For the adolescent and adult shoulders, the results are showing an increase of both peak's rigidity and equilibrium modulus with increasing strains, while only peak's rigidity increases for the young shoulders. Increased cross-linking of collagen fibers leads to a decrease in flexibility and an increase in the networks toughness. For a similar displacement, the highly cross-linked collagen fiber network will show higher resistance than a low cross-linked network, and vice-versa. The decrease in rigidity with depth correlates with results in literature. Also, the computed longitudinal deformation is homogenous and constant with stretching and corresponds to 77% of the applied deformation. Transverse deformation shows a big difference, being near zero near the grips, and being of 16.5% in the center.

An analytical mathematical model was applied to the tensile test geometry. The force-displacement curve does not correspond to the experimental curve, the amplitude of the relaxation being too small. First, the frontier conditions did not correspond to the real ones. Second, the hypothesis and assumption implies that the relaxation is caused by fluid entering in the cartilage, while a literature review strongly suggests that the relaxation is caused by a fluid exudation. On the other hand, theoretical equilibrium modulus results obtained are at the same magnitude of experimental results, varying from ~ 6 Mpa et ~ 13 Mpa. The non-linear effect found with the finite element method is a lot higher then what is found in this study. This discrepancy might by cause by the geometrical difference of the sample used in compression tests (cylindrical) and tensile test (rectangular).

Table des matières

Résumé.....	iv
Abstract	ix
Table des matières	xiii
Liste des tableaux.....	xvi
Liste des figures.....	xvii
Liste des annexes.....	xxiv
Introduction.....	1
CHAPITRE 1 Description du cartilage	5
1.1 Composition biochimique du cartilage	5
1.1.1 Protéoglycanes.....	6
1.1.2 Fibres de collagène.....	8
1.1.3 Les chondrocytes	11
1.1.4 Autres composantes	11
1.1.5 Hétérogénéités	11
1.2 Propriétés mécaniques du cartilage (Manklin et al., 1994).....	13
1.3 Le vieillissement du cartilage (Manklin et al., 1994)	14
1.4 Conclusion	16
CHAPITRE 2 Modèles mathématiques : Effet non-linéaire	18
2.1 Test en compression : impact des fibres de collagène	18
2.2 Modèle analytique.....	19
2.2.1 Description générale.....	19
2.2.2 Non-linéarité des fibres de collagènes	22
2.3 Modèle par éléments finis	24
2.4 Conclusion	26
CHAPITRE 3 Test en tension : Comportement des fibres de collagène	27
3.1 Protocole de test	27
3.2 Modèle mathématique analytique en tension.....	29

3.2.1 Géométrie en tension : Approximation supplémentaire.....	30
3.2.2 Résultats théoriques	31
3.3 Conclusion	32
CHAPITRE 4 Méthode : Isolation et coupe de l'échantillon	33
4.1 Dimension des échantillons	33
4.2 Isolation et conservation des blocs os-cartilage.....	34
4.2.1 Chambres humides.....	35
4.2.2 Isolation bloc os-cartilage	35
4.2.3 Rinçage des échantillons	37
4.3 Coupe parallèle à la surface.....	37
4.4 Mesure de l'épaisseur	41
4.5 Conclusion	42
CHAPITRE 5 Méthode : test mécanique	43
5.1 Montage	43
5.1.1 Système d'attache.....	44
5.1.2 Montage des tests en tension	45
5.2 Évolution et résultats pertinents.....	48
5.2.1 Amélioration du montage	48
5.2.1.1 Généralité	49
5.2.1.2 Séries de tests A et B.....	51
5.2.1.3 Série de tests C	53
5.2.1.4 Séries de tests D et E	55
5.2.2 Résultats pertinents.....	58
5.2.2.1 Résumé des résultats des tests des séries A à E.....	58
5.2.2.2 Comparaison des séries 1 et 2	60
5.3 Précision du montage	61
5.3.1 Résultats	62
5.3.2 Discussion.....	65
5.4 Conclusion	68

CHAPITRE 6 Méthode : Étirement sous-microscopie	69
6.1 Méthode	69
6.2 Évolution et résultats pertinents.....	73
6.3 Conclusion et présentation de l'article	74
CHAPITRE 7 Nonlinear tensile properties of bovine articular cartilage and their variation with age and depth	75
7.1 Materials and methods	78
7.1.1 Tissue isolation	78
7.1.2 Tension tests.....	81
7.1.3 Stretching as viewed under light microscopy	86
7.2 Results	88
7.2.1 Age- and maturation-dependent behavior.....	88
7.2.2 Stretching as viewed under light microscopy for tissue strain distribution	92
7.2.3 Mechanical testing of cartilage at different depths from the articular surface	96
7.3 Discussion	98
7.4 Acknowledgements	102
CHAPITRE 8 Résultats complémentaires et discussion générale : Comparaison des résultats expérimentaux avec les modélisations.....	103
8.1 Résultats du modèle analytique appliqué au test en tension.....	104
8.2 Comparaison des modules des fibres	111
8.2.1 Modèle analytique	112
8.2.2 Modèle par éléments finis	113
8.2.3 Interprétation	113
8.3 Conclusion	115
Conclusion	116
Références.....	121
Annexes.....	127

Liste des tableaux

Tableau 2.1. Listes des différentes équations qui incluent les hétérogénéités et la non-linéarité du cartilage (Li et al, 1999).	24
Tableau 5.1. Caractéristique de chacune des séries de tests effectués avant ceux présentés dans l'article. * L'acquisition de données se fait lorsqu'il y a variation de la force et/ou de la position.	50
Tableau 5.2. Tableau montrant les pentes des courbes de déviation ainsi que la force maximum.	64
Tableau 5.3. Tableau montrant l'incertitude des modules à l'équilibre en fonction du groupe d'âge et des étirements (résultats présentés dans l'article soumis du chapitre 7).	67
Tableau 7.1. Incremental transverse deformation (%).	95

Liste des figures

Figure 1.1. Schéma d'un protéoglycane (chapitre 1 du livre Orthopaedic Basic Science, Manklin et al., 1994).....	7
Figure 1.2. Schéma d'un agrégat de protéoglycanes (chapitre 1 du livre Orthopaedic Basic Science, Manklin et al., 1994).	7
Figure 1.3. Micrographie d'un agrégat de protéoglycanes (chapitre 1 du livre Orthopaedic Basic Science, Manklin et al., 1994).....	8
Figure 1.4. Étapes de la formation des fibrilles de collagène (chapitre 7.2.1 du livre Osteoarthritis, Heinegård et al., 1998).....	9
Figure 1.5. Schéma d'un assemblage de fibrilles de collagène.....	10
Figure 1.6. Schéma montrant l'hétérogénéité des fibrilles de collagène (chapitre 1 du livre Orthopaedic Basic Science, Manklin et al., 1994).	12
Figure 1.7. Schéma montrant l'hétérogénéité des cellules (chapitre 1 du livre Orthopaedic Basic Science, Manklin et al., 1994).....	13
Figure 1.8. Photo du cartilage de lapin jeune (A), adolescent (B) et adulte (C) (chapitre 1 du livre Orthopaedic Basic Science, Manklin et al., 1994).	15
Figure 2.1. Schéma d'un test en compression non-confinée. Coté gauche) Cartilage non-compressé. Coté droit) Cartilage compressé avec présence d'une expansion latérale.....	19
Figure 2.2. Figure montrant le résultats d'une régression linéaire du modèle analytique inclut le renforcement des fibres de collagène. $E_f = 11.0$ MPa, $E_m = 1.01$ MPa, $\nu_m = 0.0$, $k = 1.1 \times 10^{-15} \text{ m}^4/\text{N.s}$	21
Figure 2.3. Courbes théoriques obtenues du modèle analytique montrant l'influence des fibres de collagène sur la réponse transitoire. Une augmentation du module des fibres correspond à une augmentation de la force au pic.....	22

Figure 2.4. Graphique montrant la non-linéarité de la perméabilité et du module à l'équilibre des fibres de collagène. Le module à l'équilibre de la matrice est linéaire. L'obtention des valeurs aux différents étirements proviennent de régression linéaire appliquée à chaque compression (Fortin et al, 2000).	23
Figure 2.5. Exemple de régression du modèle par éléments finis sur une série de compressions non-confinées. $E_m = 0.290$ MPa, $\nu_m = 0.42$, $E_f^0 = 3$ MPa, $E_f^e = 2420$ MPa, $k_0 = 1.6 \times 10^{-15} \text{m}^4/\text{Ns}$, $M = 18$	25
Figure 3.1. A) Schéma de la géométrie réelle du cartilage. B) Schéma du modèle utilisé pour le modèle mathématique.	30
Figure 3.2. Exemples d'une courbe théorique obtenue du modèle analytique appliqué aux tests en tension. $E_f = 10$ MPa, $E_m = 0.22$ MPa, $\nu_m = 0.12$, $k = 2 \times 10^{-15} \text{m}^4/\text{N.s.}$..	31
Figure 4.1. Photo d'une chambre humide.	35
Figure 4.2. Photo d'un épaule à la suite des coupes rectangulaires.	36
Figure 4.3. Photo du support (avec le styrofoam), du poids et d'une lame servant à couper le styrofoam.	38
Figure 4.4. Schéma des pièces servant à la coupe en épaisseur.	39
Figure 4.5. Support et poids installés dans le vibratome.	40
Figure 4.6. Séparateur de 2mm.	40
Figure 4.7. Photo du micromètre et du multimètre.	41
Figure 5.1. Photo de l'actuateur et de la cellule de charge.	44
Figure 5.2. Photo des serres principales et secondaires.	45
Figure 5.3. Schéma des composantes du testeur mécanique.	46
Figure 5.4. Photo du testeur mécanique lors d'un test.	46
Figure 5.5. Exemple de fichier de résultats obtenus d'un test mécanique.	47
Figure 5.6. Exemple de courbe force-temps obtenue d'un test de rampe-relaxation. L'augmentation de la force correspond à l'étirement de l'échantillon alors que la diminution de la force correspond à la relaxation.	49
Figure 5.7. Photo du montage ayant servi à la série de tests A.	51
Figure 5.8. Photo du montage ayant servi à la série de tests B.	52

Figure 5.9. Exemple de résultats peu précis obtenus des séries de tests A et B.	52
Figure 5.10. Photo du montage ayant servi aux séries de tests C et D.	53
Figure 5.11. Photo du montage sans papier cellophane ayant servi à la série de tests E.	56
Figure 5.12. Photo de coupes histologiques faites sur des échantillons fixés chimiquement entre les serres. A) Le papier sablé utilisé est de grosseur 1500. B) Le papier sablé utilisé est de grosseur 400. C) Le papier sablé utilisé est de grosseur 150.	57
Figure 5.13. Déviation de la cellule de charge dans le montage servant au test en tension sur une période de 24 heures.	63
Figure 5.14. Déviation de la cellule de charge dans le montage servant au test en tension sur une période de 48 heures. Inclut les déplacements de l'actuateur.	63
Figure 5.15. Déviation de la cellule de charge dans le montage servant au test en tension sur une période de 96 heures.	64
Figure 6.1. Photo des pièces du montage servant à faire les tests d'étirement sous- microscopie.	70
Figure 6.2. Photo du montage assemblé.	70
Figure 6.3. Photo du montage installé dans le microscope.	71
Figure 6.4. En haut) Schéma du positionnement des cellules. k étant numéro de l'étirement. En bas) Formule permettant le calcul des déformations en fonction de la position de chaque cellule (P_{kij}).	72

Figure 7.1. A: Schematic of the apparatus used to cut parallel to the articular surface.

The cartilage was placed articular surface down onto the styrofoam stage of the holder, which was fixed to the Vibratome. The weight ensured flat contact and cuts parallel to the articular surface. B: Schematic drawing of the mechanical tester. The upper clamp is fixed to the U support, which is fixed to the crossbeam, and the lower clamp is fixed to the pieces that move with the actuator (ring, load cell, piston of the actuator). The actuator is fixed to the crossbeam. C: Schematic representation of the cartilage strip installed in the clamps, showing the captured images and locations of cell fiducial markers (P_{kij}) used to evaluate deformation.

..... 80

Figure 7.2. Photomicrographs of histological sections made on samples that were chemically fixed between the clamps. The left parts of the samples are the region between the clamps. A) sample installed in sandpaper with 1500 grain size. B) sample installed in sandpaper with 400 grain size. C) sample installed in sandpaper with 150 grain size. 83

Figure 7.3. Picture of the tensile mechanical tester with the sample installed and ready to start a test. A plastic film encloses the bath in order to prevent evaporation because of the long duration of the testing protocol. The bath is made of glass and aquarium silicone sealant. B: Picture of the unit for stretching under light microscopy..... 84

Figure 7.4. Typical data of tensile tests of strips of cartilage that include the articular surface. The adult cartilage is stiffer than the adolescent, which in turn is stiffer than young cartilage. The ratio of equilibrium modulus to peak stiffness was also greatly age-dependent, with values near zero for the young cartilage, about ~20% for adolescent and ~60% for the adult cartilage. 89

Figure 7.5. A: The average peak stiffness for young, adolescent and adult cartilage. The average peak stiffness and its non-linearity increase with age. For the last deformation (8% to 10%) peak stiffness values were 10.0 ± 3.3 MPa (young), 18.7 ± 5.9 MPa (adolescent), and 28.3 ± 16.6 MPa (adult) ($p=0.0169$ with ANOVA). Non-linear dependence of peak stiffness with strain was evident with best fits providing 0.8 ± 0.4 MPa/% (young), 1.8 ± 0.4 MPa/% (adolescent), and 3.1 ± 1.7 MPa/% (adult) ($p=0.0033$ with ANOVA). B: The average equilibrium modulus for the young, adolescent and adult cartilage. The equilibrium modulus and its non-linearity increase with age with average values, for the last deformation (8% to 10%), of 0.0 ± 0.5 MPa (young), 4.5 ± 2.6 MPa (adolescent), and 15.6 ± 9.9 MPa (adult) ($p=0.0006$ with ANOVA). Nonlinear increases of equilibrium modulus with strain was found for adolescent and adult cartilage, with values of 0.28 ± 0.19 MPa/% (adolescent), and 1.76 ± 1.03 MPa/% (adult) ($p=0.0001$ with ANOVA when comparing the three groups). 90

Figure 7.6. Peak stiffness for all samples and all strains versus the corresponding equilibrium modulus. The average slope of the linear fit represents the ratio of equilibrium modulus to peak stiffness and increases with age. 91

Figure 7.7. The computed longitudinal deformation as a function of the approximate position along the length of the sample where $m=1$ and 4 are near the clamps and $m=2$ and 3 are in the middle of the sample (in between the 6 longitudinal fiducial markers in Figure 1C). Longitudinal deformation is constant throughout the length of the cartilage. The overall computed deformation was $7.7 \pm 1.0\%$ even though a 10% deformation was applied grip to grip, possibly due to deformation occurring between the upper and lower clamp surfaces. 93

- Figure 7.8.** The computed transverse deformation as a function of the approximate position along the length of the sample where $j = 1$ and $j = 6$ are near the grips and $j = 2$ to 5 are more central (corresponding to the 6 longitudinal positions in Figure 1C). Transverse deformation is higher in the center of the sample. There is also an increase in incremental transverse deformation at all positions along the sample after the first step (Table 1). The overall deformation in the center is $16.5 \pm 4.2\%$, while near the clamps the overall deformation is $-4.7 \pm 3.0\%$ and $-4.6 \pm 1.6\%$, respectively, on both side of the sample. 94
- Figure 7.9.** Pictures of slices from the different layers taken from the same sample. AS : articular surface of ~ 300 microns thickness. MZ : median zone of ~ 330 microns thickness. DZ : deep zone of ~ 320 microns thickness. The top left panel shows the samples after they had just been cut, while images on the right show the curvature of the sample once installed in the clamps. The bottom left panel shows images of the same samples once removed from the clamps, clearly indicating differences between zones. 97
- Figure 8.1.** Orientation des axes selon la géométrie de l'échantillon. 104
- Figure 8.2.** Graphique du déplacement selon l'axe x et en fonction du temps (voir annexe I). 105
- Figure 8.3.** Graphique de la déformation selon l'axe x et en fonction du temps (voir annexe I). 106
- Figure 8.4.** Graphique de la pression relative selon l'axe x et en fonction du temps (voir annexe I). 106
- Figure 8.5.** Graphique de la vitesse relative selon l'axe x et en fonction du temps (voir annexe I). 107
- Figure 8.6.** Exemples d'une courbe théorique obtenue du modèle analytique appliqué aux tests en tension. $E_f = 10 \text{ MPa}$, $E_m = 0.22 \text{ MPa}$, $\nu_m = 0.12$, $k = 2 \times 10^{-15} \text{ m}^4/\text{N.s}$. 107
- Figure 8.7.** Exemple de courbe expérimentale obtenue d'une épaule adolescente. 108

- Figure 8.8.** Graphique de la déformation transversale mesurée en fonction des positions approximatives de la longueur de l'échantillon, les positions $j=1$ et $j=6$ sont proches des serres, alors que les positions $j=3$ et $j=4$ sont dans le centre de l'échantillon. La courbe est une régression linéaire de second degré..... 110
- Figure 8.9.** Schéma illustrant l'influence d'une variation de la pression osmotique sur la force en tension exercée par un échantillon (Akizuki et al., 1987). 111

Liste des annexes

Annexe I. Modèle mathématique poroélastique	127
Annexe II. Résultats détaillés des tests mécaniques présentés au chapitre 5	167
Annexe III. Résultats détaillés des tests sous-microscopie présentés au chapitre 6	191
Annexe IV. Milieu Tampon	200
Annexe V. Comparaison des différents papiers sablés	210

Introduction

Le cartilage articulaire est situé aux extrémités des os au niveau des articulations. Le rôle physiologique du cartilage est double. Tout d'abord, ses propriétés viscoélastiques permettent au cartilage d'agir comme coussin protégeant les os des impacts rapides. Ensuite, il permet un bon glissement des articulations.

Les propriétés mécaniques proviennent des trois composantes principales du cartilage et de leur interaction : les protéoglycanes, les fibres de collagène et l'eau. Les charges négatives des protéoglycanes interagissent avec les cations contenus dans la phase liquide pour former un gel visqueux entremêlé dans un réseau des fibres de collagène. Les fibres de collagène ont une structure ressemblant à celle d'une corde, leur permettant ainsi de résister à des charges en tension. Les fibres maintiennent la structure du cartilage, empêchant le déplacement du cartilage des zones de haute pression vers les zones de basse pression lors d'une compression. L'utilité des tests en tension est d'obtenir les propriétés du cartilage en tension, dans lesquelles les fibres de collagène jouent un rôle majeur.

L'ostéoarthrite est une maladie associée à la dégénérescence du cartilage. 5% à 10% de la population âgée entre 25 et 65 ans et 80% des personnes qui ont plus de 70 ans sont atteintes de cette maladie (Buckwalter, 1997). Avec le vieillissement de la population, il est primordial de caractériser précisément les propriétés mécaniques du cartilage aidant à développer des méthodes de diagnostic (Légaré, et al., 2002; Garon, et al., 2002). Des modèles mathématiques permettent d'obtenir des informations sur les différentes composantes du cartilage en effectuant des régressions linéaires sur les résultats expérimentaux et ces modèles donnent des informations sur la microstructure du cartilage.

Ces modèles mathématiques développés pour des tests en compression non-confinée, incluent le rôle des fibres en tension. Ces modèles incluent et prévoient théoriquement les propriétés en tension des fibres de collagène car la rigidité latérale en tension affecte fortement la réponse en compression non-confinée. Les résultats obtenus des tests en tension, en appliquant les modèles mathématiques à leur géométrie, permettront de valider et/ou de raffiner ces modèles.

La surface articulaire du cartilage articulaire provenant d'épaules de jeune bœuf (~6 mois), de bœuf adolescent (entre 1 et 2 ans) et de bœuf adulte (>2ans) a été testée en tension afin de vérifier les réponses mécaniques en fonction de l'âge. Les tests en tension effectués utilisent un protocole nouveau, permettant d'obtenir des données d'une précision accrue sur le comportement du cartilage articulaire à l'équilibre en tension. Aussi, les échantillons testés n'ont subi aucune congélation.

Afin d'utiliser les résultats mécaniques à la modélisation mathématique, des tests mécaniques en tension sur des couches de cartilage ne provenant pas de la surface articulaire et des tests permettant de vérifier la déformation réelle ont été effectués. Ainsi, des étirements en tension faits sous un microscope avec un système d'attache de l'échantillon identique à celui du testeur mécanique ont été faits afin de vérifier la déformation réelle des échantillons de cartilage en tension.

Le chapitre 1 de ce mémoire consiste en une description de la composition du cartilage articulaire à l'âge adulte, des propriétés mécaniques des principales composantes du cartilage articulaire, du processus de vieillissement du cartilage articulaire. Ces descriptions vont permettre la compréhension du comportement mécanique du cartilage.

Ensuite, le chapitre 2 contient une description des deux modèles mathématiques, qui sont basés sur la microstructure du cartilage, et du comportement non-linéaire théorique des fibres de collagène que ceux-ci prévoient. Le protocole de tests a été établi afin

d'isoler au maximum le comportement des fibres de collagène, et ainsi obtenir de l'information qui pourra être comparée avec les valeurs théoriques des modèles. Le chapitre 3 contient une revue de littérature concernant les protocoles utilisés, une description générale du protocole qui sera utilisée et une brève présentation du modèle mathématique analytique appliqué à la géométrie des tests en tension. L'utilisation de ce modèle avait pour but d'augmenter la quantité d'informations obtenues des courbes expérimentales.

Les tests en tension n'ont jamais été effectués dans notre laboratoire. Ainsi, des méthodes et des montages ont dû être développés. Le chapitre 4 contient la méthode utilisée pour obtenir les échantillons de cartilage. Le chapitre 5 contient une description de l'adaptation du testeur mécanique pour permettre des étirements et une présentation des améliorations apportées au montage au cours du projet et des résultats pertinents obtenus de ces tests. Le chapitre 6 contient une description du montage qui a été développé dans le but d'effectuer des étirements sous-microscopie. Ce chapitre contient aussi les résultats pertinents obtenus de ces tests.

Le chapitre 7 contient l'article qui a été soumis. Ce chapitre contient donc une revue de littérature, les résultats importants obtenus et les objectifs de ce projet. En premier lieu, les tests présentés dans l'article ont été obtenus en utilisant les dernières versions des méthodes. Ces méthodes sont décrites dans ce chapitre, et non dans les chapitres précédents. Ensuite, des tests mécaniques faits sur des épaules d'âges différents et sur des échantillons provenant des différentes couches de cartilage et des tests sous-microscopie, permettant d'obtenir la déformation réelle des échantillons, sont présentés et discutés dans ce chapitre. Les résultats obtenus et la discussion sur ces résultats obtenus représentent la majeure partie de ce projet.

Le chapitre 8 contient une comparaison entre les résultats expérimentaux présentés dans l'article et les résultats théoriques obtenus des modèles mathématiques. En premier lieu, le comportement prévu par le modèle mathématique analytique adapté à la géométrie des tests en tension est comparé au comportement obtenu des résultats expérimentaux. Ensuite, les modules des fibres de collagène obtenus par les modèles mathématiques, analytiques et par éléments finis, appliqués à la géométrie des tests en tension sont comparés aux résultats expérimentaux.

Finalement, une discussion sur les résultats présentés dans ce mémoire et des suggestions sur des travaux futurs permettant de raffiner cette étude sont présentées en conclusion.

CHAPITRE 1 Description du cartilage

Le cartilage articulaire, situé à l'extrémité des os, permet un glissement avec peu de friction aux articulations tout en absorbant les impacts rapides. La structure du cartilage, complexe et hétérogène, est composée de trois éléments principaux: les fibrilles de collagène, les protéoglycanes et l'eau. Ces trois éléments et leurs interactions sont à l'origine des propriétés mécaniques du cartilage articulaire. Les fibres de collagène ont comme propriété mécanique la résistance en tension, qui est causée par leur assemblage qui est analogue à celle d'une corde. Les tests en tension permettent d'étudier le comportement des fibres de collagène.

La première section de ce chapitre décrit la structure des principales composantes du cartilage articulaire. Les protéoglycanes et les fibres de collagène y sont décrits de manière exhaustive, alors que les chondrocytes et les autres composantes présentes en quantité moindre et les hétérogénéités sont décrites brièvement. La section suivante explique l'origine physiologique des propriétés mécaniques du cartilage. Ensuite, le vieillissement du cartilage en fonction de ses composantes et de leur concentration est présenté.

La description faite dans cette section est basée sur le premier chapitre du livre *Orthopaedic Basic Science* (Mankin et al., 1994), sur le chapitre 7.2.1 du livre *Osteoarthritis* (Heinegård et al., 1998) et sur les sections 7.2 et 10.2 du livre *Biochimie* (Voet et al., 1998).

1.1 Composition biochimique du cartilage

Le cartilage articulaire est composé d'une importante matrice extracellulaire (plus de 90% du volume) faite principalement de protéoglycanes de fibres de collagène type II et

d'eau. La synthèse et la maintenance de cette matrice sont faites par les chondrocytes (cellules spécialisées du cartilage), qui représentent moins de 10% du volume du cartilage. La structure du cartilage varie en fonction de la profondeur du cartilage, ce qui en fait un matériau fortement hétérogène.

1.1.1 Protéoglycanes

Les protéoglycanes (PG) sont des macromolécules faites d'un assemblage de plusieurs molécules (polysaccharide). Un protéoglycane est composé d'une protéine centrale sur laquelle sont liées plusieurs glycosaminoglycanes (GAG) (figure 1.1). La molécule centrale des PGs, d'une longueur approximative de 300 à 400 nm et d'une largeur d'environ 40 nm, est la protéine centrale, sur laquelle se forme des liens covalents avec des glycosaminoglycans (kératane-sulfate et chondroïtine-sulfate). Généralement, les kératanes-sulfates sont situées près de la protéine de liaison (région riche en oligosaccharides) alors que les chondroïtines-sulfates sont situées à l'extrémité de la protéine centrale (figure 1.1). Les protéoglycanes se lient à une molécule d'acide hyaluronate pour former des agrégats (figure 1.2 et 1.3). Les PGs forment, à l'aide des protéines de liaison, des liaisons non-covalentes à tous les 20 à 30 nm sur l'acide hyaluronique, qui est d'une longueur variant entre 400 et 4000 nm. Les kératane-sulfates sont quatre fois moins longues que les chondroïtine-sulfates et ces deux disaccharides sont chargés négativement (anionique) à pH physiologique. Cette caractéristique confère un caractère fortement anionique aux protéoglycanes.

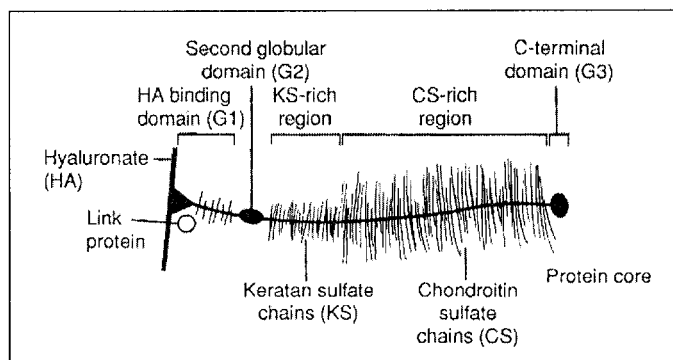


Figure 1.1. Schéma d'un protéoglycane (chapitre 1 du livre Orthopaedic Basic Science, Manklin et al., 1994).

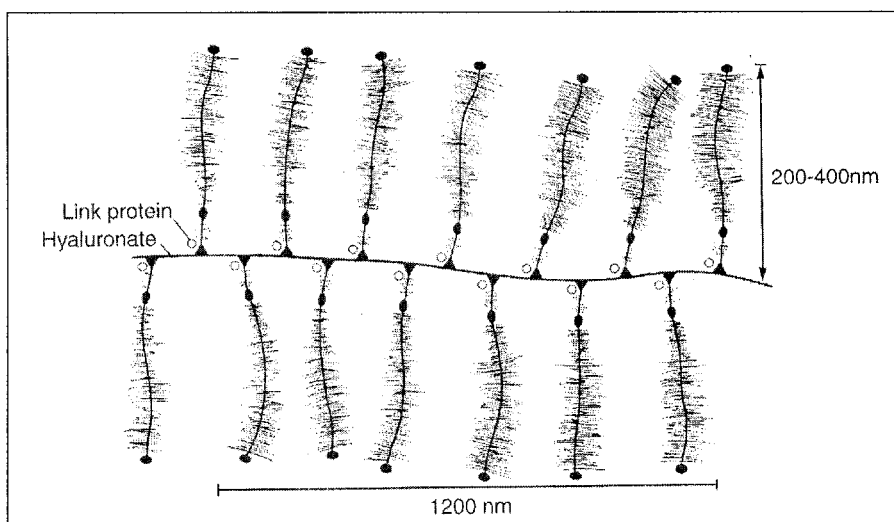


Figure 1.2. Schéma d'un agrégat de protéoglycanes (chapitre 1 du livre Orthopaedic Basic Science, Manklin et al., 1994).

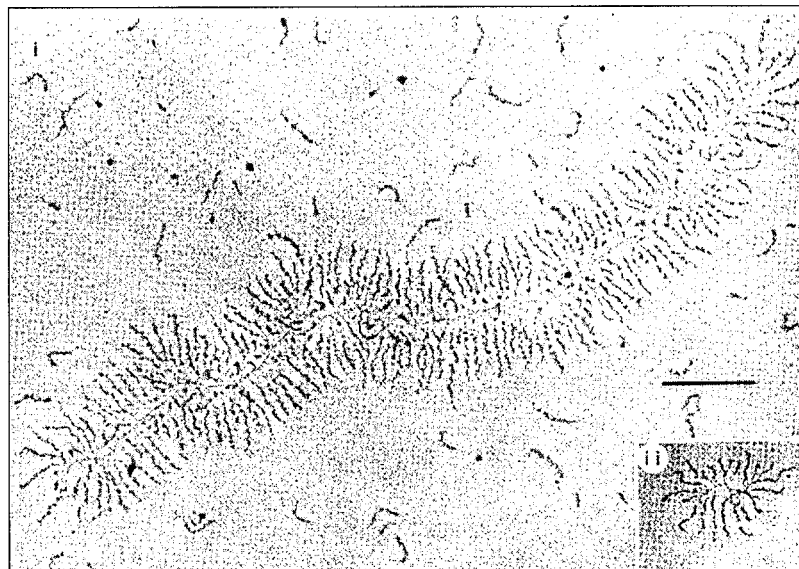


Figure 1.3. Micrographie d'un agrégat de protéoglycanes (chapitre 1 du livre Orthopaedic Basic Science, Manklin et al., 1994).

D'autres types de protéoglycanes, génétiquement distinctes, et contenant différentes protéines centrales, se retrouvent dans le cartilage en moindre quantité. Les biclycanes contiennent deux chaînes dermatane-sulfate (autre sorte de GAG) alors que les décorines n'en contiennent qu'une seule. Les fibromodulines contiennent des kératanes-sulfates.

1.1.2 Fibres de collagène

Les fibres de collagène sont un assemblage complexe et structuré de molécules de collagène. Chacune des molécules de collagène est assemblée en triple hélice, que l'on nomme tropocollagène. Chaque tropocollagène est lié à d'autres, pour former une longue chaîne, et celles-ci forment une fibrille de collagène. L'ensemble des fibrilles se nomme les fibres de collagène (figure 1.4).

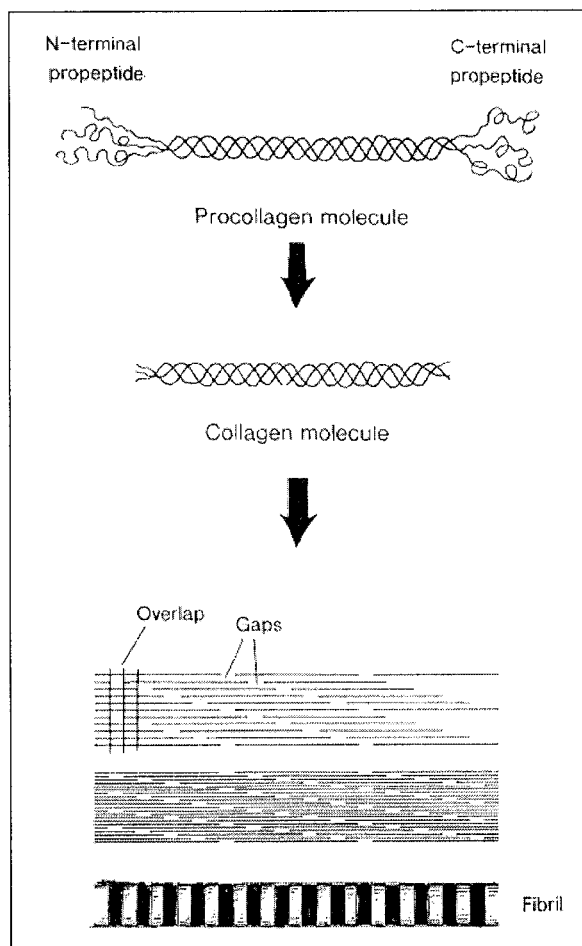


Figure 1.4. Étapes de la formation des fibrilles de collagène (chapitre 7.2.1 du livre Osteoarthritis, Heinegård et al., 1998).

La structure secondaire d'une molécule de collagène est une hélice α de pas à gauche de 330° à chaque 3 acides aminés (environ 3.3 résidus par tour). Les molécules sont principalement composées de 1/3 de glycine (présent à chaque trois acides aminés), de proline et d'hydroxyproline. Chacune des molécules est liée par liaison hydrogène à deux autres molécules pour former une triple hélice (tropocollagène). Lorsque assemblés en triple hélice, les résidus de glycine se retrouvent à l'intérieur de la chaîne et permettent ainsi une grande compacité de la triple hélice (le résidu de Gly est le plus petit, étant simplement un atome d'hydrogène) car la triple hélice est d'un léger pas à

droite (environ 30°) ce qui permet l'orientation régulière des résidus (figure 1.5). Les autres a.a. ont leur résidu à l'extérieur de la triple hélice. Ensuite, ces triples hélices sont assemblées en fibrilles de collagène et ont une conformation très structurée (figure 1.4). Les fibrilles de collagène ont une périodicité bien définie de 680 Å et un diamètre de 100 à 2000 Å. Chaque molécule est liée par des liaisons covalentes avec une molécule d'une couche voisine.

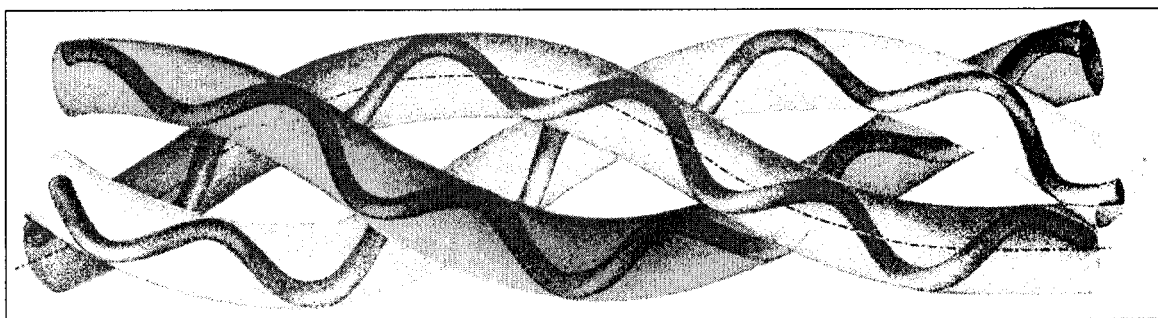


Figure 1.5. Schéma d'un assemblage de fibrilles de collagène.

La température de dénaturation des fibres de collagène est d'environ $39-40^\circ\text{C}$ et la molécule est neutre au pH physiologique.

Le cartilage articulaire contient d'autres types de fibres de collagène, moins de 10% du nombre de collagène total, qui diffèrent par leur séquence d'acides aminées. Il s'agit des collagènes types VI, IX, X (cartilage hypertrophié), et XI. Les fibres peuvent être classées comme homotrimère, où les trois chaînes sont identiques (collagène type II et type X), ou hétérotrimère, qui ont une ou des chaînes différentes (collagène type VI, IX, et XI).

1.1.3 Les chondrocytes

Les chondrocytes sont les cellules spécialisées du cartilage, et leur fonction consiste à générer une grande partie de la matrice extracellulaire durant la croissance. À l'âge adulte, elles sont responsables du maintien de cette matrice. Le cartilage est un tissu aneural et avasculaire, donc, pour maintenir la structure du cartilage, les chondrocytes répondent à d'autres sortes de stimuli, tels que des médiateurs solubles (comme des facteurs de croissance), des contraintes mécaniques et les changements de pression. L'application de ces stimuli provoque l'expression de certains gènes, mais les mécanismes sont peu connus. L'apport de nutriment du fluide synovial et de l'os se fait par diffusion et par le mouvement du fluide.

1.1.4 Autres composantes

Les autres composantes ne représentent qu'une petite partie de la masse humide du cartilage, mais peuvent jouer un rôle important dans le fonctionnement de la matrice. Parmi ces composantes, il y a les lipides, moins de 1% de la masse humide, les protéines de liaison, la fibronectine et l'hyaluronate.

1.1.5 Hétérogénéités

La composition du cartilage articulaire varie grandement de la surface articulaire à l'os. Elle peut être décrite en quatre zones : la surface articulaire (~10 à 20% de l'épaisseur), la zone médiane ou transitoire (~40 à 60% de l'épaisseur), la zone profonde (~30% de l'épaisseur) et la zone calcifiée. Les descriptions suivantes correspondent aux cartilages adultes.

À la surface articulaire, les fibres de collagène sont orientées parallèlement à la surface, alors qu'elles sont orientées aléatoirement (ou peu organisées) dans la zone médiane et

orientées perpendiculairement à la surface dans la zone profonde (figure 1.6). Leur diamètre augmente avec la profondeur, étant au plus petit à la surface et au plus grand dans la zone profonde.

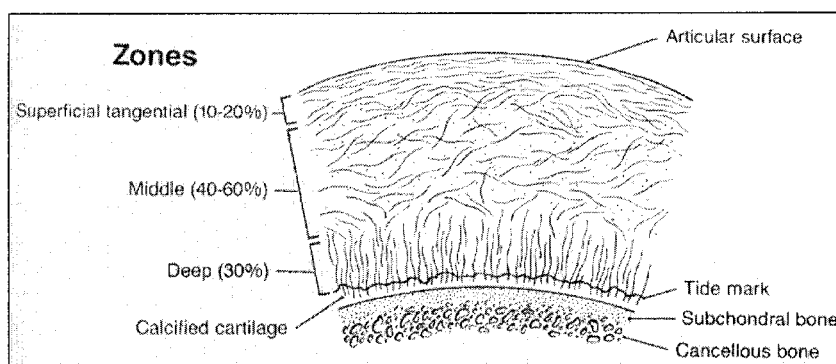


Figure 1.6. Schéma montrant l'hétérogénéité des fibrilles de collagène (chapitre 1 du livre Orthopaedic Basic Science, Manklin et al., 1994).

À la surface articulaire, les cellules sont de forme ellipsoïdale, avec l'axe long orienté parallèlement à la surface. Dans la zone médiane du cartilage, leur forme est plus ronde alors qu'elles sont sphériques, et souvent arrangées en colonne dans la zone profonde (figure 1.7).

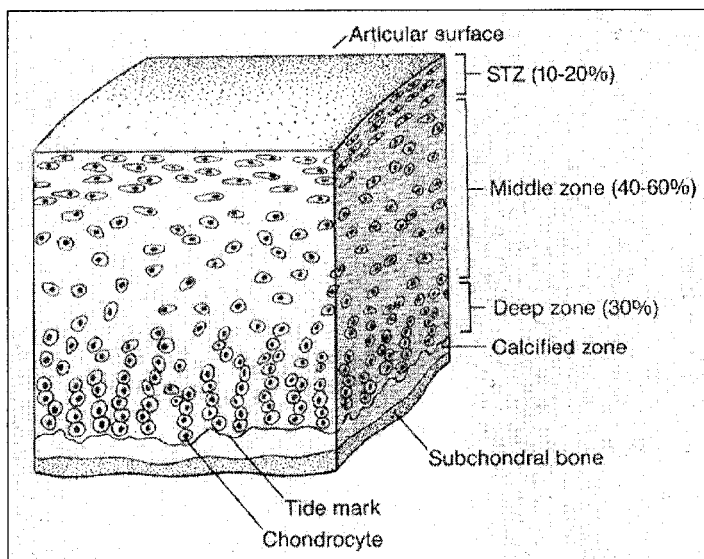


Figure 1.7. Schéma montrant l'hétérogénéité des cellules (chapitre 1 du livre Orthopaedic Basic Science, Manklin et al., 1994).

La concentration de protéoglycane augmente en s'éloignant de la surface articulaire, alors que la concentration en eau diminue, passant de 80% à 65%.

1.2 Propriétés mécaniques du cartilage (Manklin et al., 1994)

Le cartilage articulaire doit résister à des charges élevées, statiques et cycliques, durant plusieurs décennies. Le cartilage doit donc être résistant à la fatigue et solide afin de résister à de lourdes charges et de fortes contraintes. En plus, il doit lubrifier l'articulation. Les propriétés individuelles des principales composantes et leur interaction procurent aux cartilages la capacité de remplir ces fonctions.

Tout d'abord, les protéoglycanes et l'eau sont les composantes à l'origine de la faible perméabilité du cartilage. Ainsi, l'eau est contenue dans un matériau poreux (fait de la matrice solide), ce qui implique un mouvement du fluide lorsqu'un gradient de pression est appliqué. D'autre part, les protéoglycanes, de par leur structure et leur caractère

anionique, et l'eau sont à l'origine de la pression osmotique (Buschmann et Grodzinsky, 1995). Ainsi, l'interaction entre les protéoglycanes et l'eau entraîne une faible perméabilité du cartilage et lui permet de résister à l'application de charges en compression. Parfois, les protéoglycanes et l'eau sont décrites comme formant un gel ayant une certaine perméabilité (Soulhat et al., 1999). Finalement, une compression implique une sortie du fluide vers l'articulation, ce qui lubrifie l'articulation et permet un glissement sans friction. Les protéoglycanes sont donc à l'origine de phénomènes physico-chimiques tels que la pression osmotique, les phénomènes électrostatiques, les phénomènes de diffusion et d'exclusion qui sont présents dans le cartilage.

La principale caractéristique mécanique des fibrilles est la résistance en tension. Ainsi, de par leur structure, une force en tension sur la fibrille se transforme en force de compression latérale (Voet et al., 1998). Les fibrilles permettent aux cartilages de maintenir sa conformation lors de l'application d'une pression en empêchant le cartilage de se déplacer des zones de haute pression aux zones de basse pression.

1.3 Le vieillissement du cartilage (Manklin et al., 1994)

Le cartilage immature diffère beaucoup du cartilage adulte. Jeune, il est d'une apparence blanc-bleuâtre, causée par la présence de sang dans l'os immature situé sous le cartilage articulaire. À l'âge adulte, le cartilage est blanc-jaunâtre. Jeune, l'épaisseur du cartilage et la concentration de cellules sont à leur niveau le plus élevé (figure 1.8). Les cellules participent à la croissance de l'os en plus de remplir les fonctions normales du cartilage. La quantité présente d'eau et la concentration de protéoglycanes sont à leur niveau le plus élevé à la naissance. Au cours du vieillissement à l'âge adulte, ces variations de concentration persistent, mais à un taux moins élevé. En vieillissant, en plus d'une décroissance de leur concentration, l'activité de synthèse des cellules s'altère avec l'âge, ce qui contribuerait à la diminution de la longueur et de la stabilité des PGs. La concentration des collagènes reste constante mais leur diamètre et la quantité de

réticulation augmentent. L'augmentation, à l'âge adulte, des réticulations est causée par les AGEs (pour Advanced Glycation End product), rendant ainsi le cartilage plus fragile et moins élastique (Bank et al., 1998). Au cours de la croissance, le renouvellement rapide du cartilage empêcherait l'accumulation des AGEs.

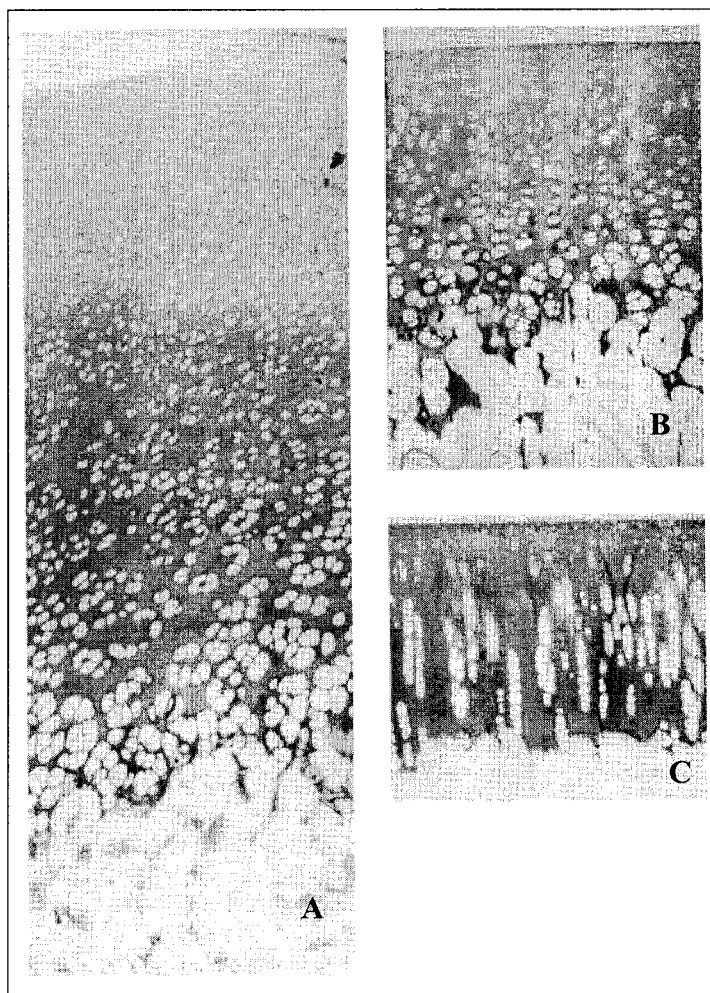


Figure 1.8. Photo du cartilage de lapin jeune (A), adolescent (B) et adulte (C) (chapitre 1 du livre Orthopaedic Basic Science, Manklin et al., 1994).

1.4 Conclusion

Le cartilage articulaire a pour fonction, à l'âge adulte, de permettre un glissement sans friction aux articulations en plus de protéger les os des impacts rapides. Pour accomplir cette tâche, le cartilage est composé de trois composantes principales, soit : les protéoglycanes, les fibres de collagène et l'eau.

Les protéoglycanes sont des macromolécules fortement chargées négativement à pH physiologique. Les charges négatives de ces molécules interagissent avec les cations contenus dans la phase liquide (l'eau) ce qui crée un matériau semblable à un gel. Aussi, les protéoglycanes sont à l'origine de la pression osmotique qui permet le maintien de l'épaisseur du cartilage.

Les fibres de collagène ont une structure semblable à celle d'une corde. Ainsi, ils ont comme propriété de pouvoir résister à des charges en tension. Les fibres de collagène assurent le maintien de la structure en empêchant le cartilage de se déplacer d'une zone de haute pression à une zone de basse pression lorsqu'il y a une compression.

Le cartilage est un matériau hétérogène dont la composition varie, entre autres, en fonction de l'épaisseur. Ainsi, les fibres de collagène, à la surface articulaire, sont orientées parallèlement à la surface alors qu'elles sont orientées perpendiculairement à la surface à l'intersection de l'os. La concentration des protéoglycanes augmente en s'éloignant de la surface articulaire alors que c'est l'inverse pour la quantité d'eau.

En plus d'être hétérogène, la composition du cartilage varie lors de la maturation. Lors de la maturation, le cartilage doit remplir les mêmes fonctions qu'à l'âge adulte en plus de participer à la croissance de l'os. Ainsi, la quantité de réticulations et le diamètre des fibres augmentent et l'épaisseur du cartilage, la concentration de protéoglycanes et la quantité d'eau diminuent lors de la maturation.

Avec les connaissances acquises sur la microstructure du cartilage, des modèles mathématiques, que l'on dit physiologiques, ont été développés. Ces modèles sont basés sur le comportement mécanique des trois principales composantes du cartilage et de leurs interactions. Le prochain chapitre décrit brièvement les deux modèles développés.

CHAPITRE 2 Modèles mathématiques : Effet non-linéaire

Les modèles mathématiques ont pour but d'augmenter la quantité d'informations provenant d'un test mécanique et aussi d'augmenter la précision des données obtenues. En effectuant une régression sur une courbe expérimentale, le modèle nous permet d'obtenir, par exemple, des données quantitatives sur les différentes composantes du cartilage. Des modèles mathématiques déduits de tests en compression non-confinée prévoient un comportement non-linéaire des fibres de collagène.

Le premier objectif de ce projet est de valider expérimentalement cette non-linéarité du module à l'équilibre des fibres de collagène. Cette non-linéarité, qui consiste en une augmentation du module à l'équilibre en fonction de l'étirement, a été déduite théoriquement à partir de tests en compression non-confinée.

Ce chapitre contient un résumé des deux modèles mathématiques qui ont été développés dans notre département ainsi que l'effet non-linéaire qu'il prévoit. La comparaison entre les résultats expérimentaux et théorique a lieu au chapitre 8.

2.1 Test en compression : impact des fibres de collagène

Une augmentation du diamètre a lieu lors d'un test en compression non-confiné. Cette expansion latérale implique que le cartilage est en tension perpendiculairement à l'axe de compression (figure 2.1). La résistance en tension des fibres de collagène a une influence sur les résultats obtenus lors d'un test en compression non-confinée car en empêchant la dilatation latérale, la rigidité hors-équilibre du cartilage augmente (Soulhat et al., 1999; Li et al., 2002).

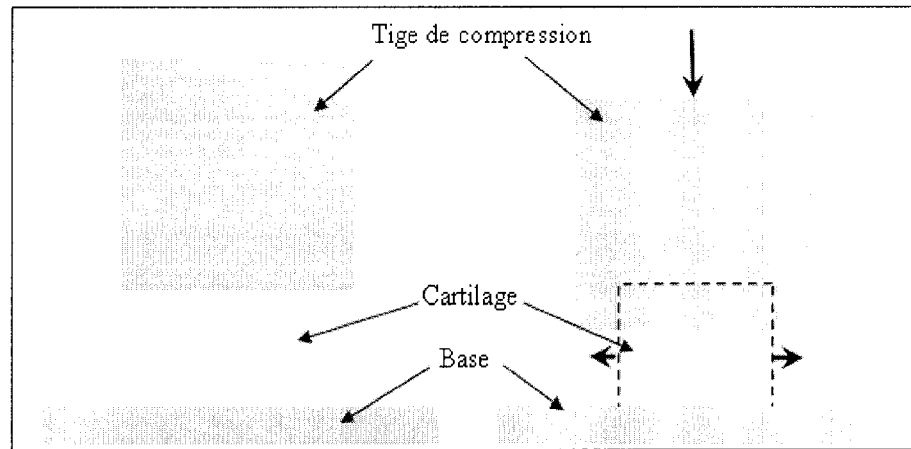


Figure 2.1. Schéma d'un test en compression non-confinée. Coté gauche) Cartilage non-compressé. Coté droit) Cartilage compressé avec présence d'une expansion latérale.

Des modèles mathématiques physiologiques ont été développés dans notre département. Le premier développé par Soulhat et al. (1999) est analytique et considère le cartilage comme étant un matériau isotrope, homogène et linéaire, alors que le modèle développé par Li et al. (2002b) utilise la méthode des éléments finis et inclut les hétérogénéités du cartilage et considère le cartilage comme étant non-linéaire.

2.2 Modèle analytique

2.2.1 Description générale

Le modèle analytique (Soulhat et al. 1999; chapitre 8 du polycopié du cours GCH 6312) considère le cartilage comme étant un gel, formé de PGs et d'eau, dans lequel une matrice solide, les fibres de collagène, est incorporée. Le gel PG-eau, appelé matrice dans ce modèle, est considéré comme étant élastique, isotrope et homogène et est caractérisé par trois paramètres intrinsèques : E_m , ν_m , et k . E_m est le module à l'équilibre (module d'Young) de la matrice et il décrit sa rigidité à l'équilibre. Le coefficient de

Poisson de la matrice (déformation transversale de la matrice à l'équilibre divisée par la déformation axiale de la matrice), ν_m , décrit l'expansion latérale de la matrice lors d'une compression, alors que k est la perméabilité de la matrice et décrit la facilité avec laquelle le fluide peut circuler. À cette matrice (gel PG-eau) est ajouté le module à l'équilibre du réseau des fibres de collagène, E_f . La combinaison de ces paramètres intrinsèques en un tout donne le coefficient de Poisson effectif et le module à l'équilibre non-confinée, ν_{eff} (déformation transversale du cartilage à l'équilibre divisée par la déformation axiale du cartilage) et E_{33} (contrainte axiale divisée par la déformation), qui sont des paramètres mesurables expérimentalement à l'équilibre. Ainsi, la mesure de ces paramètres effectifs à l'équilibre permet d'obtenir les paramètres de la matrice et des fibres. Aussi, le modèle considère que le module d'Young des fibres s'applique uniquement en tension, ce qui entraîne que, pour les compressions non-confinées, $E_m = E_{33}$ et $\nu_m = \nu_{eff}$ si $E_f = 0$. Des équations gouvernantes basées sur nos connaissances des interactions ayant lieu au niveau microscopique entre les phases solide et liquide permettent de décrire les courbes transitoires obtenues (figure 2.2). Trois équations sont associées à l'équilibre des forces, une équation associée à la continuité des deux phases (incompressibilité) et une équation constitutive pour chacune des deux phases.

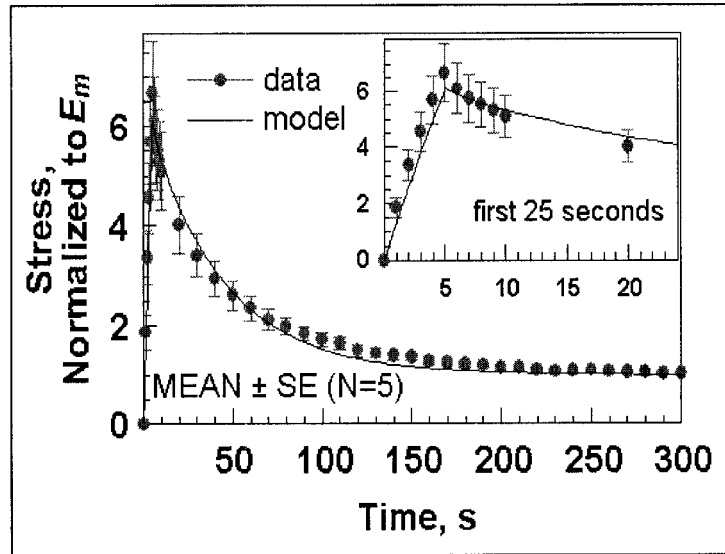


Figure 2.2. Figure montrant le résultats d'une régression linéaire du modèle analytique inclut le renforcement des fibres de collagène. $E_f = 11.0$ MPa, $E_m = 1.01$ MPa, $\nu_m = 0.0$, $k = 1.1 \times 10^{-15} \text{ m}^4/\text{N.s}$.

L'ajout du module à l'équilibre des fibres de collagène sur le comportement du cartilage en compression non-confinée a, principalement, augmenté la précision de la description des courbes transitoires. En effet, l'ajout du module des fibres augmente la force au pic des courbes théoriques (figure 2.3), ce qui correspond mieux aux courbes expérimentales (figure 2.2).

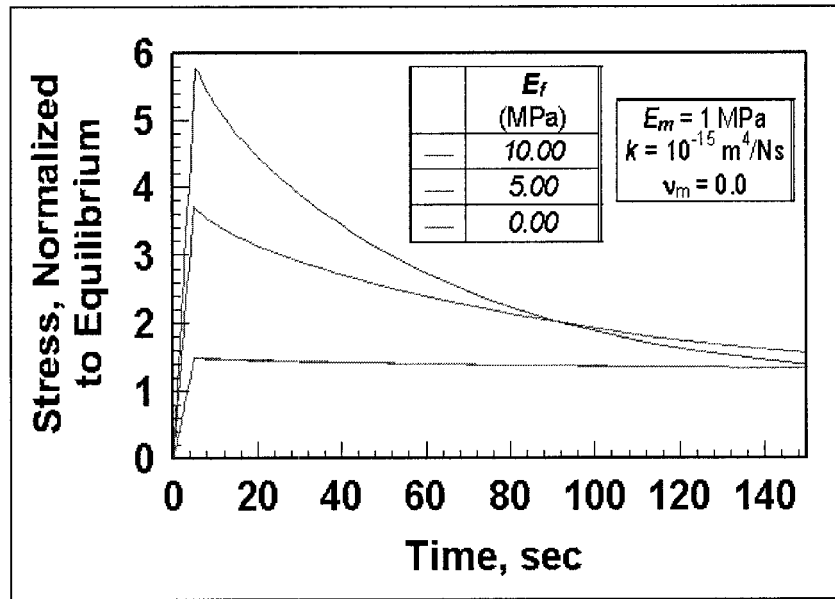


Figure 2.3. Courbes théoriques obtenues du modèle analytique montrant l'influence des fibres de collagène sur la réponse transitoire. Une augmentation du module des fibres correspond à une augmentation de la force au pic.

2.2.2 Non-linéarité des fibres de collagènes

Un comportement linéaire implique que les propriétés intrinsèques d'un matériau demeurent constantes peu importe la déformation initiale (figure 2.4 : Module de la matrice E_m). Le modèle mathématique analytique considère le cartilage comme étant un matériau linéaire, mais en effectuant des régressions linéaires sur des compressions successives, les résultats montrent une augmentation du module à l'équilibre des fibres de collagène en fonction de l'étirement (figure 2.4).

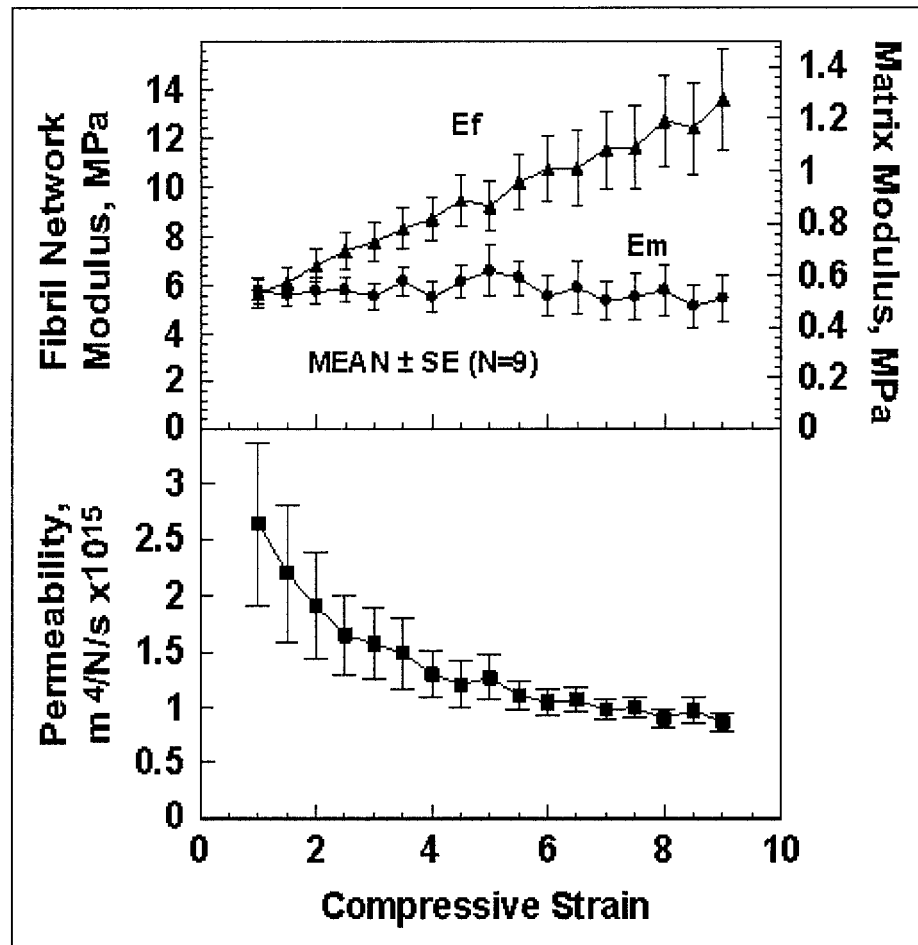


Figure 2.4. Graphique montrant la non-linéarité de la perméabilité et du module à l'équilibre des fibres de collagène. Le module à l'équilibre de la matrice est linéaire. L'obtention des valeurs aux différents étirements proviennent de régression linéaire appliquée à chaque compression (Fortin et al, 2000).

Afin de décrire cette non-linéarité, un modèle mathématique utilisant la méthode par éléments finis a été développé. Ce modèle permet de modéliser des séries successives de compressions non-confinées et permet d'obtenir une seule série de paramètres pour chaque test en compression non-confinée (qui compte des compressions successives) plutôt qu'une série de paramètres par compression.

2.3 Modèle par éléments finis

Le modèle utilisant la méthode par éléments finis considère les paramètres décrits précédemment, mais en considérant la non-linéarité et les hétérogénéités du cartilage articulaire (Li et al, 2002b). Ainsi, le module à l'équilibre de la matrice E_m , son coefficient de Poisson ν_m , le module à l'équilibre de la matrice E_f , et la perméabilité k deviennent fonction de la profondeur du cartilage, et les fibres sont aussi fonction de la déformation (tableau 2.1). Ce modèle se rapproche davantage des caractéristiques physiologiques du cartilage articulaire que le modèle analytique.

Tableau 2.1. Listes des différentes équations qui incluent les hétérogénéités et la non-linéarité du cartilage (Li et al, 1999).

	Équation
Module d'Young de la matrice	$E_m = \hat{E}_m (1 + \alpha_E z/h)$
Coefficient de Poisson de la matrice	$\nu = \nu_m (1 + \alpha_\nu z/h)$
Perméabilité	$k = k_0 \psi(z,h) \exp(M\varepsilon)$
Module d'Young des fibres	$E_f = \omega(z,h)(E_f^0 + E_f^\varepsilon \varepsilon_f)$

Ce modèle permet d'obtenir directement les valeurs théoriques du module en tension et de la non-linéarité des fibres de collagène. Ainsi, avec ce modèle, une régression peut être effectuée sur une série successive de compressions non-confinées (figure 2.5).

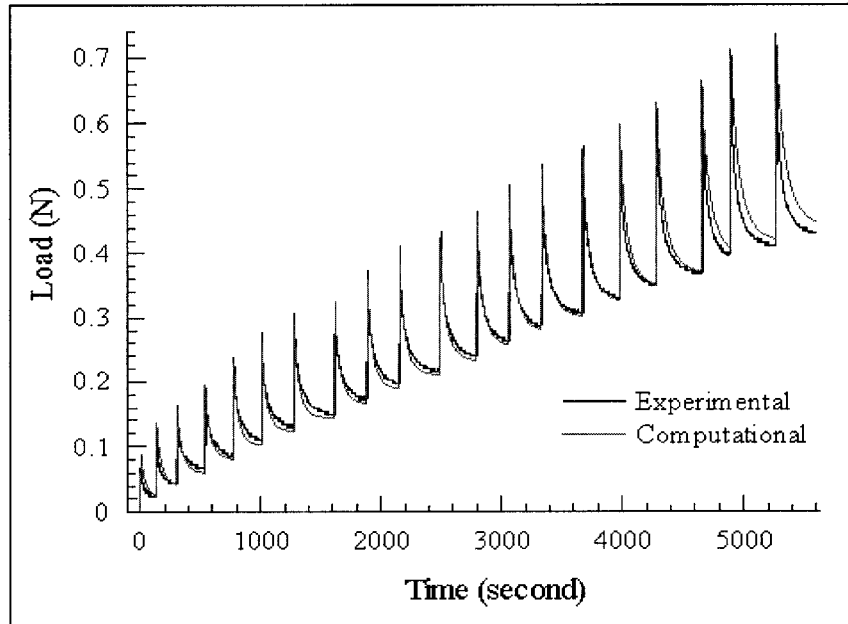


Figure 2.5. Exemple de régression du modèle par éléments finis sur une série de compressions non-confinées. $E_m = 0.290$ MPa, $\nu_m = 0.42$, $E_f^0 = 3$ MPa, $E_f^e = 2420$ MPa, $k_0 = 1.6 \times 10^{-15} \text{m}^4/\text{Ns}$, $M = 18$.

Les tests en tension permettront de vérifier les données recueillies lors des tests en compression non-confinée et ainsi valider les modèles mathématiques développés. Pour ce faire, ces modèles doivent être appliqués à la géométrie des tests en tension.

2.4 Conclusion

Ces deux modèles mathématiques sont basés sur le comportement des différentes composantes du cartilage. Ainsi, il est possible, en effectuant une régression, d'obtenir de l'information sur les différentes composantes. Ces modèles prévoient, à partir de tests en compression non-confinée, un comportement non-linéaire des fibres de collagène. La non-linéarité implique que le module à l'équilibre des fibres de collagène augmente avec la déformation. Les tests en tension ont pour objectif, entre autres, de valider cette non-linéarité.

Globalement, l'objectif des tests en tension est d'obtenir le comportement des fibres de collagène. Pour ce faire, le protocole de tests a été défini pour isoler au maximum le comportement des fibres de collagène. En plus, le modèle mathématique analytique a été appliqué à la géométrie des tests en tension afin de pouvoir effectuer, si la modélisation réussit, une régression linéaire sur les résultats expérimentaux et ainsi pouvoir isoler le comportement des fibres de collagène. Le prochain chapitre consiste en une description du protocole de tests utilisé et des résultats du modèle mathématique appliqué à la géométrie des tests en tension.

CHAPITRE 3 Test en tension : Comportement des fibres de collagène

Le principal objectif des tests en tension est de valider l'effet non-linéaire prévu théoriquement par les modèles mathématiques. Pour ce faire, il faut définir un protocole de tests qui permet d'isoler au maximum le comportement des fibres de collagène, même si en réalité le comportement mécanique du cartilage provient de toutes ces composantes. Le protocole a été établi en fonction des résultats présentés en littérature.

Ensuite, un effort a été fait afin de quantifier adéquatement le comportement du cartilage avec les courbes force-temps obtenues des tests mécaniques. Le modèle mathématique analytique a donc été ajusté à la géométrie des tests en tension et une description sommaire est faite dans ce chapitre (la description détaillée est à l'annexe I).

3.1 *Protocole de test*

Le comportement mécanique du cartilage articulaire obtenu des tests mécaniques provient de sa microstructure, c'est-à-dire, des différentes composantes du cartilage et des interactions entre elles. Bien que l'origine du comportement mécanique du cartilage en tension provienne nécessairement de toutes les composantes, des études ont montrées une grande influence des fibres de collagène. Par ailleurs, la principale propriété mécanique des fibres de collagène, la résistance en tension, est acceptée par tous et n'est jamais remis en question. L'objectif du protocole utilisé dans ce projet devait permettre d'obtenir de l'information sur les propriétés mécaniques des fibres de collagène uniquement. Le protocole a donc été basé sur des observations faites dans la littérature concernant les tests en tension sur du cartilage articulaire.

La majorité des tests en tension effectués ont utilisé un protocole avec vitesse d'étirement constante et déformation élevée ($\epsilon > 30\%$ ou jusqu'à la fracture) (Kempson et al, 1976; Kempson et al, 1973; Kempson 1982; Kempson 1991 ; Bader et al, 1981; Woo et al, 1979; Roth et Mow, 1980). Bien que ce protocole ne permet pas au cartilage d'atteindre l'équilibre, la dégradation des fibres des collagènes induit une réduction de la pente, à déformation élevée, de la courbe contrainte-déformation obtenue (Kempson et al, 1976; Bader et al., 1981). Une dégradation des protéoglycanes entraîne une réduction de la pente contrainte-déformation à faible étirement. Ces tests montrent, sans grande surprise, que les fibres de collagène ont une influence sur les propriétés en tension du cartilage. Par contre, ce protocole ne considère aucunement la poroélasticité du cartilage qui implique un mouvement de fluide lors d'une déformation.

D'autres tests ont utilisé un protocole de rampe-relaxation, c'est-à-dire que l'échantillon est déformé jusqu'à un certain point puis est maintenue étiré pendant un certain temps (temps de relaxation), ce qui permet à l'échantillon d'atteindre l'équilibre (Akizuki et al, 1986; Akizuki et al, 1987; Grodzinsky et al, 1981). Ces études ont montrées que la relaxation (diminution de la force engendrée par l'acheminement vers l'équilibre) n'est pas négligeable et aussi, dans l'article de Grodzinsky (1981), il est mentionné que l'échantillon peut prendre plusieurs heures (jusqu'à 7 heures) pour atteindre l'équilibre. Malgré cette mention, le temps de relaxation a été fixé à 15 min. Finalement, il a été montré qu'une variation de la salinité du bain dans lequel repose l'échantillon influence la force générée par l'échantillon, ce qui implique que les protéoglycanes ont une influence sur les résultats obtenus de protocole utilisant des rampes-relaxations.

Une étude utilisant un test de fluage (Schmidt et al, 1990) avec un temps de relaxation de 7 heures a montré qu'à la suite de ce temps d'attente, les fibres de collagène sont à l'origine de la force à l'équilibre (après 7 heures). La relaxation des échantillons normaux est plus lente que les échantillons ayant des protéoglycanes dégradées, mais la force à l'équilibre est similaire. Ce comportement suggère fortement que la résistance en

tension des échantillons de cartilage à l'équilibre (après 7 heures) est causée par les fibres de collagène alors que les PGs ont un impact sur les courbes transitoires.

Le protocole de tests que nous avons utilisé est du type rampe-relaxation et permettait à l'échantillon de relaxer pour plusieurs heures. Aussi, afin de réduire le temps nécessaire à la relaxation, le protocole contient 5 étirements de faible amplitude. Ce protocole a été établi de manière à isoler au maximum le comportement des fibres de collagène. Ainsi, les faibles étirements et le temps de relaxation élevé vont permettre au cartilage d'atteindre l'équilibre et cette force à l'équilibre serait principalement causée par les fibres de collagène. Le protocole a légèrement changé au cours du projet. Le protocole et ces modifications seront décrits en détails au chapitre 5.

3.2 Modèle mathématique analytique en tension

Le comportement mécanique du cartilage articulaire étant causé par ses différentes composantes et de leurs interactions, le modèle mathématique analytique a été appliqué à la géométrie des tests en tension. L'objectif était de pouvoir définir le rôle de chacune des composantes dans le comportement en tension du cartilage afin d'isoler de manière encore plus précise le comportement des fibres de collagène.

Le modèle analytique a été utilisé tout simplement parce que la théorie nécessaire à l'utilisation du modèle par éléments finis m'est inconnue. La motivation première de l'application du modèle est donc de pouvoir effectuer une régression linéaire et ainsi optimiser l'information provenant des tests en tension.

Ce chapitre comporte une brève présentation des différences d'avec le modèle pour les tests en compression non-confinée ainsi qu'un résumé des résultats. Le développement complet est placé en annexe (annexe I).

3.2.1 Géométrie en tension : Approximation supplémentaire

Tout d'abord, la géométrie des tests en tension est rectangulaire, contrairement à une géométrie cylindrique pour les tests en compression non-confinée. Afin de pouvoir résoudre analytiquement le modèle, l'approximation d'une plaque infinie s'est avérée nécessaire, ce qui revient à considérer une géométrie à deux dimensions. Aussi, la déformation est considérée comme étant homogène dans toute l'épaisseur du cartilage et est située uniquement dans la zone non-compressée de l'échantillon (figure 3.1).

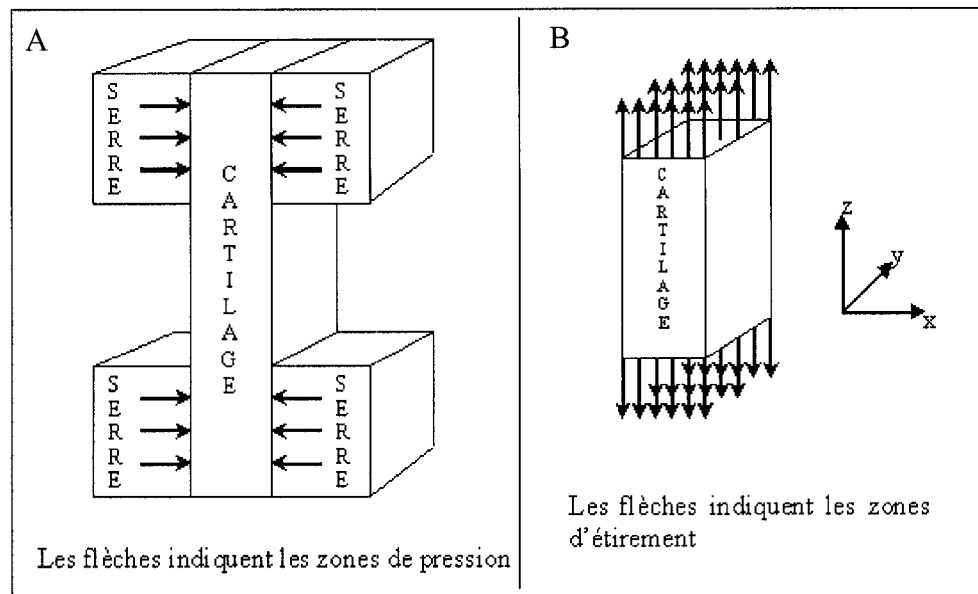


Figure 3.1. A) Schéma de la géométrie réelle du cartilage. B) Schéma du modèle utilisé pour le modèle mathématique.

3.2.2 Résultats théoriques

Le modèle mathématique considère le cartilage comme étant un matériau élastique (la matrice) renforcé en tension par les fibres de collagène qui ont un module à l'équilibre environ 10 fois supérieur à celui de la matrice. Le comportement théorique prévu par le modèle correspond bien à ces considérations.

Les courbes force-déformation obtenues ne montrent qu'une très petite relaxation (figure 3.2). Étant donné que les fibres ont un module à l'équilibre environ 10 fois supérieures à celui de la matrice, il est normal que le comportement soit similaire à un matériau parfaitement élastique (qui ne présente aucune relaxation).

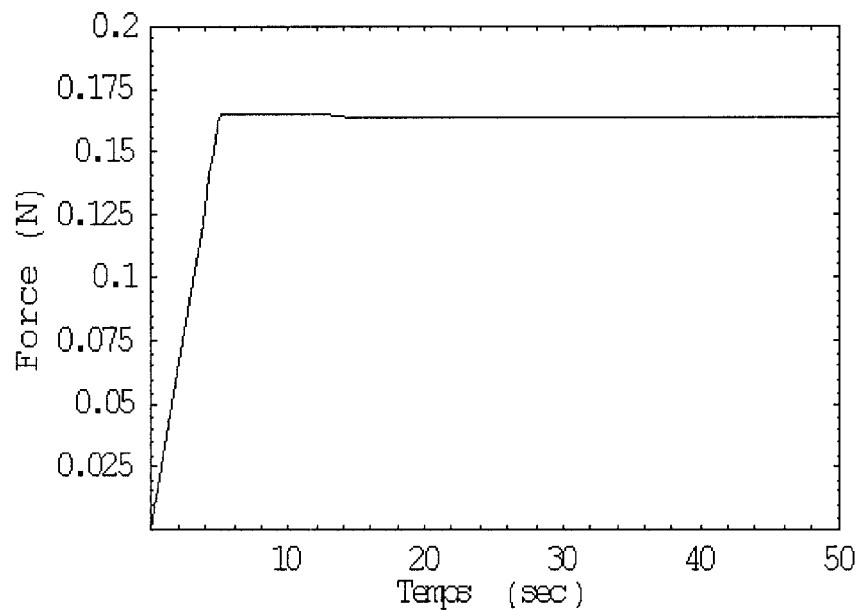


Figure 3.2. Exemples d'une courbe théorique obtenue du modèle analytique appliqué aux tests en tension. $E_f = 10\text{MPa}$, $E_m = 0.22\text{ MPa}$, $\nu_m = 0.12$, $k = 2 \times 10^{-15}\text{m}^4/\text{N.s}$.

Finalement, le modèle prévoit une diminution de l'épaisseur lors de l'étirement suivi d'une augmentation de cette épaisseur après la fin de l'étirement, si $v_m < 0.5$. Au cours de la réponse transitoire (étirement + relaxation), selon le modèle, une entrée de fluide dans le cartilage a lieu et est la source de la relaxation.

La comparaison entre les prédictions de ce modèle et les résultats expérimentaux est fait au chapitre 8.

3.3 Conclusion

Le but de ce projet étant d'obtenir le comportement des fibres de collagène, le protocole de tests a été défini dans ce sens. Le protocole est donc des rampes-relaxations de petite amplitude et avec un long temps de relaxation.

En plus, le modèle mathématique analytique a été appliqué à la géométrie des tests en tension afin de pouvoir isoler le comportement des fibres des autres composantes. Ce modèle prévoit un comportement quasi-élastique du cartilage. Ce comportement est fortement causé par le comportement des fibres qui sont considérées comme étant élastiques.

Les tests en tension n'ont jamais été faits dans le département. La méthode pour obtenir les échantillons a dû être développée et le testeur mécanique a dû être adapté aux tests en tension et, afin de quantifier la déformation réelle de l'échantillon, des tests d'étirement sous-microscopie ont aussi été développés. Le prochain chapitre consiste en une présentation des méthodes développées et de l'évolution de ces méthodes.

CHAPITRE 4 Méthode : Isolation et coupe de l'échantillon

Les tests en tension n'ont jamais été effectués dans notre laboratoire. Des tests en compression sur du cartilage articulaire ont souvent été effectués dans le laboratoire. Les méthodes développées pour effectuer les tests en tension ont tout de même été basées autant que possible sur les méthodes utilisées pour faire ces tests en compression. Une adaptation des méthodes d'isolation et de coupe des échantillons a été faite pour les tests en tension. L'isolation, qui consiste à l'obtention du cartilage d'une articulation, est similaire à celle utilisée pour l'obtention des échantillons cylindriques servant au test en compression. Par contre, la coupe parallèle à la surface est totalement nouvelle et elle est présentée de manière exhaustive.

En premier lieu, ce chapitre contient une revue de littérature sur les dimensions des échantillons qui ont été utilisées dans les études précédentes. Ensuite, afin de pouvoir effectuer les tests en tension, il faut obtenir les échantillons de cartilage aux dimensions désirées, ces échantillons n'ayant pas les mêmes dimensions que les échantillons servant au test en compression. Cette méthode est décrite dans la deuxième et dernière partie de ce chapitre.

4.1 Dimension des échantillons

Tout d'abord, deux formes d'échantillon ont été utilisées : la forme *dumbbell* (Kempson et al, 1976; Kempson et al, 1973; Kempson, 1982; Kempson, 1991 ; Bader et al, 1981; Woo et al, 1979; Roth et Mow, 1980) et rectangulaire (Akizuki et al, 1986; Akizuki et al, 1987; Grodzinsky et al, 1981, Myers et al., 1984).

La forme *dumbbell* est caractérisée pour des extrémités plus larges que le centre de l'échantillon. L'échantillon est fixé à ces extrémités et, comme l'aire de la section est plus petite au centre, on considère que la déformation a lieu seulement au centre. L'épaisseur approximative de ces échantillons varie autour de 200-300 microns, alors que la largeur au centre varie de 1-3 mm, selon les études. La dimension des échantillons rectangulaires utilisés dans les études mentionnées précédemment ont une épaisseur d'environ 200 microns et ont une largeur variant autour de 1.8 mm. La longueur totale des échantillons est d'environ 15mm.

Les coupes de ces échantillons ont été faites à la suite d'une congélation de l'échantillon, ce qui peut induire une altération des propriétés des échantillons. Dans l'article de Langelier et Buschmann (en révision), il a été montré qu'une congélation induit un affaiblissement des propriétés mécaniques en compression. Ainsi, nous voulions que la coupe des échantillons soit effectuée sur des échantillons n'ayant jamais été congelés. La méthode qui a été développée ne permettait pas l'utilisation de la forme *dumbbell*, ce qui fait que les échantillons testés sont de forme rectangulaire de dimension d'environ 250 microns d'épaisseur par 2 mm de largeur et de plus de 10mm de longueur.

4.2 Isolation et conservation des blocs os-cartilage

Les échantillons testés proviennent d'épaules de bœufs abattus la veille de l'isolation de cartilage. L'obtention des échantillons se fait tout d'abord en isolant des blocs os-cartilage rectangulaire qui seront conservés dans des chambres humides jusqu'à la journée du test.

4.2.1 Chambres humides

Avant d'effectuer une isolation, il faut fabriquer les chambres humides dans lesquelles les échantillons seront entreposés à 4°C. Les chambres humides sont fabriquées avec des tubes cryogéniques (cat : 09-761-70 de fisher) et des Kim Wipes EX-L (CA72390-010 de VWR/Canlab) imbibés de solution saline PBS (Phosphate Buffered Saline : PBS P3813 de Sigma) (figure 4.1). Afin d'éviter au maximum la contamination, les chambres humides sont fabriquées sous une hotte stérile. Lorsque les chambres humides sont placées à 4°C, l'humidité relative augmente jusqu'à saturation (100%), ce qui empêche le dessèchement du cartilage. Des tests de viabilité ont montré que la majorité des cellules (> 70 %) sont toujours vivantes après deux semaines.

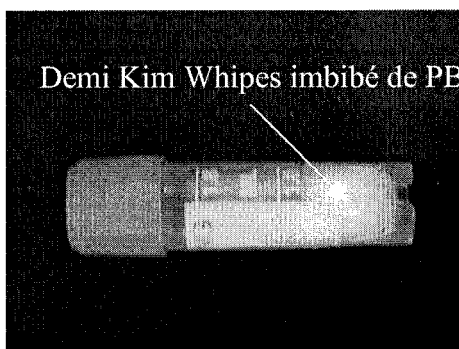


Figure 4.1. Photo d'une chambre humide.

4.2.2 Isolation bloc os-cartilage

Tout d'abord, l'isolation de cartilage doit tenir compte des hétérogénéités du cartilage articulaire. Le cartilage, étant fortement hétérogène dans le sens de l'épaisseur, se courbe lorsqu'il est séparé de l'os (Setton et al., 1998). Proche de l'os, les fibres de collagène sont orientées perpendiculairement à la surface articulaire et celles-ci ne peuvent contrer la répulsion des charges négatives. À la surface articulaire, les fibres ont

une orientation parallèle à la surface articulaire ce qui empêche le gonflement du cartilage. Il s'ensuit une courbure de l'échantillon car le gonflement n'est pas constant en fonction de l'épaisseur du cartilage. Ainsi, afin d'éviter que l'échantillon qui sera testé ne se déforme, le cartilage n'est dissocié de l'os qu'avant le début d'un test.

Une fois l'articulation ouverte, des coupes perpendiculaires à la surface, d'une profondeur minimum d'environ 1 cm et formant des rectangles d'une dimension approximative de 6 à 8 mm de largeur et 2 cm de longueur sont effectuées dans la zone de haute pression, avec un *Cast Cutter model 840* de *Stryker Instruments* (figure 4.2). Ensuite, toujours avec le même instrument, des coupes en profondeur et parallèles à la surface sont effectuées afin de dégager des blocs os-cartilage d'épaisseur approximative de 5 à 7 mm. Chaque épaule donne 10 blocs os-cartilage. Tout au long de l'isolation, le cartilage est gardé humide en l'aspergeant de solution saline contenant de l'antibiotique.

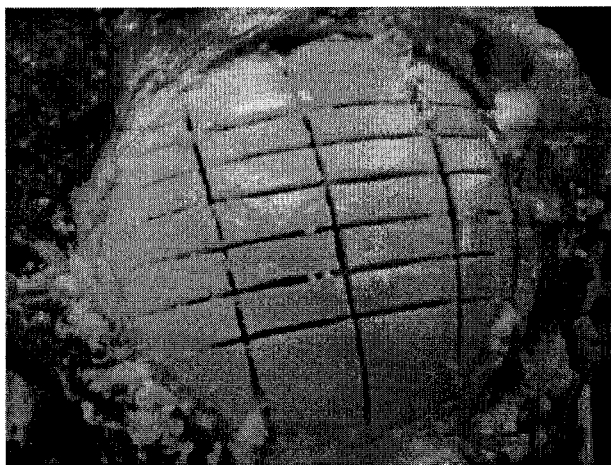


Figure 4.2. Photo d'un épaule à la suite des coupes rectangulaires.

Afin de conservé les échantillons de cartilage plusieurs semaines sans les congeler et sans qu'ils se dégradent, les blocs os-cartilage sont conservés, après avoir été rincé, dans des chambres humides fabriquées avant l'extraction.

4.2.3 Rinçage des échantillons

Le rinçage des échantillons sert à les nettoyer et à éliminer des sources de contamination. L'échantillon est placé, sous une hotte stérile, dans des tubes 15 ml stériles, dans lequel on ajoute une solution de HBSS (Hank's Buffered Saline Solution : HBSS, 14060-57 de Gibco) additionnée d'un antibiotique (Penstrep : P-0781 de Sigma). Chaque échantillon est rincé trois fois avant d'être placé dans une chambre humide. La chambre humide est ensuite placée à 4°C, jusqu'à ce que l'échantillon soit utilisé pour effectuer un test.

4.3 Coupe parallèle à la surface

Les tests en tension se font sur des couches de cartilage parallèles à la surface articulaire. Cette coupe développée pour ma maîtrise se fait tout juste avant un test. Pour effectuer cette coupe, deux pièces, le support et le poids, ont été fabriquées (figure 4.3). Le poids s'installe sur le support, et celui-ci se fixe dans le vibratome. Le support contient dans sa cavité un morceau de styrofoam (figure 4.4).

La première étape est d'installer et d'ajuster ces pièces dans le vibratome. Un morceau de styrofoam est d'abord coupé avec des lames de rasoir jusqu'à ce que ses dimensions soient exactement similaires aux dimensions de la cavité du support. Après que le styrofoam est été vissé dans le support, celui-ci fixé solidement dans le vibratome. Le styrofoam est ensuite coupé par le *Vibratome* afin de faire un plateau (figure 4.5). Le support est ensuite descendu de la distance égale à l'épaisseur du cartilage désirée. Ainsi une autre coupe du *Vibratome* va couper l'échantillon en laissant une tranche de cartilage sur le plateau du styrofoam.

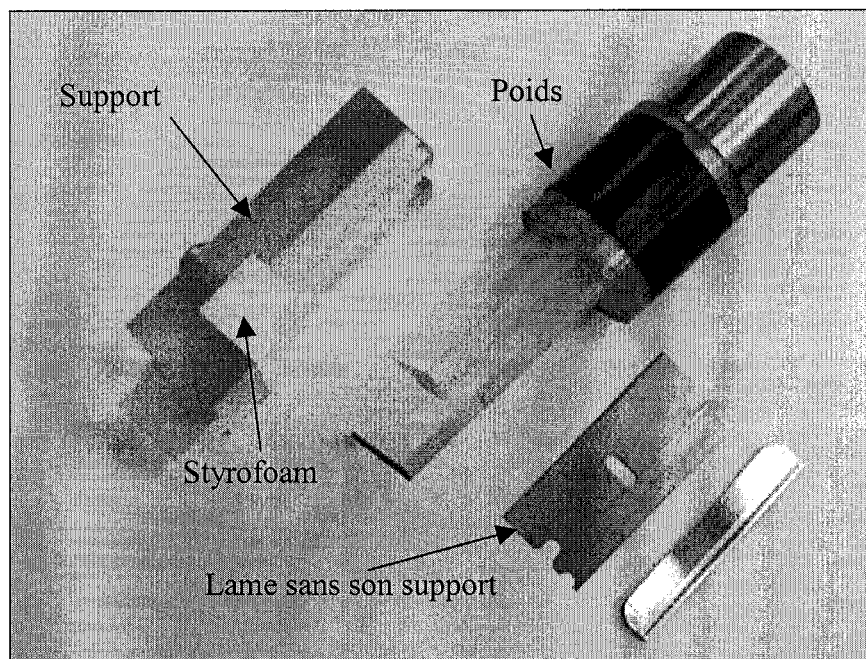


Figure 4.3. Photo du support (avec le styrofoam), du poids et d'une lame servant à couper le styrofoam.

Une fois les pièces installées dans le vibratome, un bloc os-cartilage est placé dans un étau, fixé par la partie osseuse du bloc. Après avoir fait une coupe de deux millimètres sur le cartilage avec le séparateur de 2mm (figure 4.6), le cartilage est enlevé de l'os avec une lame de rasoir. L'échantillon obtenu, de 2mm de largeur et d'environ 1mm d'épaisseur (épaisseur du cartilage), est installé surface articulaire vers le bas sur le plateau de styrofoam et est maintenu en place en installant le poids sur le support (figure 4.4 et 4.5). Le poids sert à enlever la courbure de l'échantillon et à maintenir un bon contact de l'échantillon sur le plateau lors de la coupe. Une fois l'échantillon mis en place, une coupe est effectuée. La première coupe permet d'obtenir la surface articulaire. Pour obtenir une coupe des autres zones de cartilage, il faut effectuer des coupes successives du cartilage. Une fois l'échantillon obtenu, la tranche à tester est immédiatement placée dans une solution saline et son épaisseur va être par la suite mesurée.

Finalement, cette étape ne nous permet pas d'obtenir des échantillons de forme Dumbbell à cause de la dimension du plateau en styrofoam.

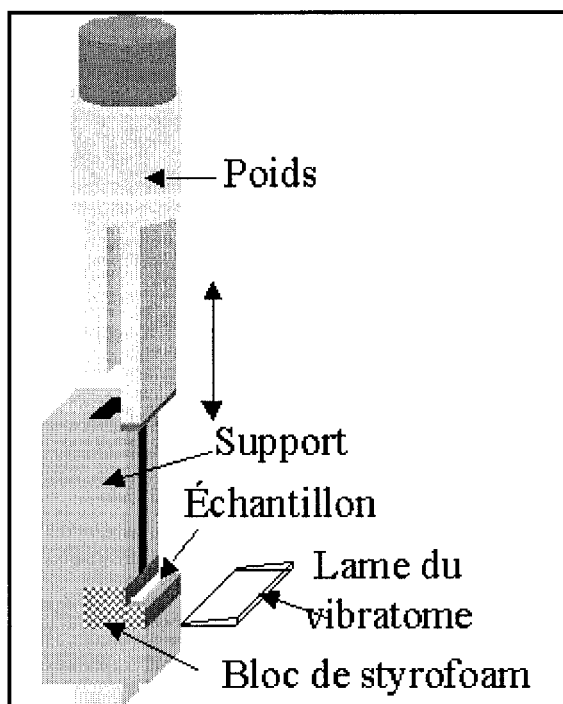


Figure 4.4. Schéma des pièces servant à la coupe en épaisseur.

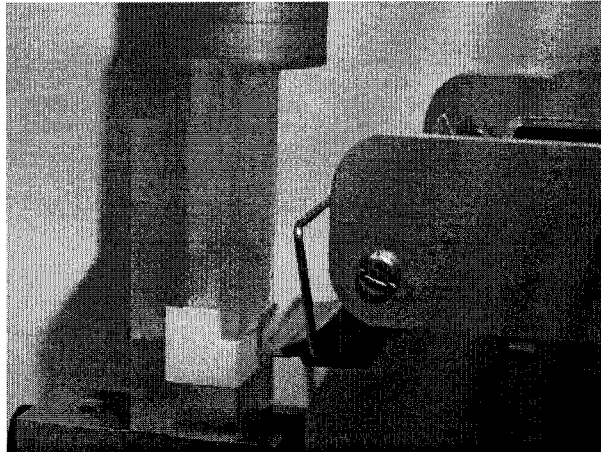


Figure 4.5. Support et poids installés dans le vibratome.

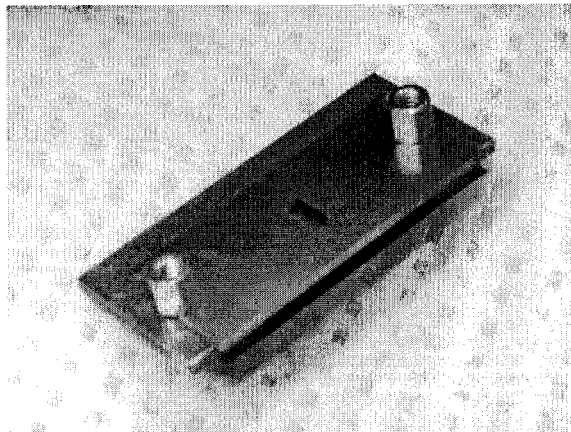


Figure 4.6. Séparateur de 2mm.

4.4 Mesure de l'épaisseur

La mesure de l'épaisseur a lieu immédiatement après la coupe parallèle à la surface. La mesure se fait dans un appareil utilisant un micromètre et un multimètre (figure 4.7). Lorsque la pointe du micromètre touche à l'échantillon, le multimètre détecte le contact, ce qui permet d'obtenir l'épaisseur de l'échantillon.

L'échantillon obtenu à la suite de la coupe parallèle à la surface est placé dans une solution saline afin d'éviter qu'il ne s'assèche. Avant la prise de l'épaisseur, afin de ne pas fausser les mesures, le surplus de solution entourant l'échantillon (lorsqu'il est enlevé de la solution saline) est imbibé en glissant l'échantillon sur un papier *Kimwhipes*. L'échantillon est placé sur le plateau du montage et son épaisseur est mesurée (figure 4.7). 4 mesures sont prises à des endroits différents. Ensuite, l'échantillon est à nouveau imbibé de solution saline et mesurer de nouveau. Au total, 12 mesures de l'épaisseur sont prises pour chaque échantillon.

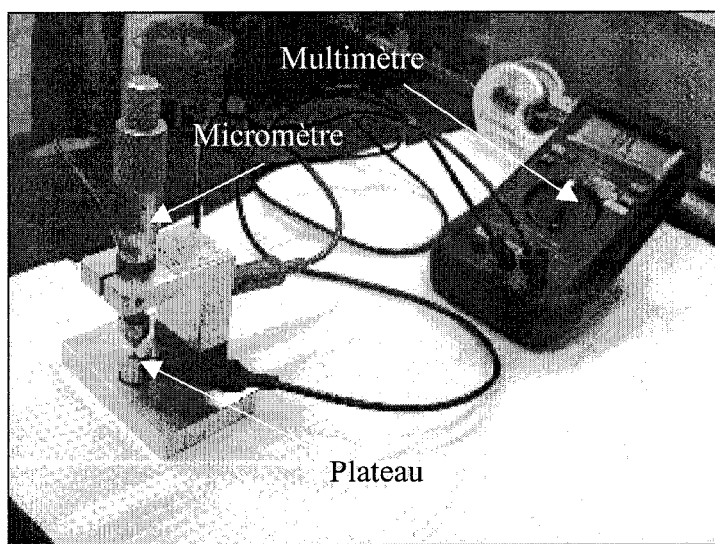


Figure 4.7. Photo du micromètre et du multimètre

4.5 Conclusion

Dans la littérature, deux formes d'échantillon ont été utilisées pour effectuer les tests en tension : la forme *dumbbell* et rectangulaire. En général, l'épaisseur de ces échantillons est d'environ 200 microns et la section étirée est d'une largeur variant entre 1 et 3mm. La forme utilisée pour ce projet est rectangulaire, de dimension $\sim 10 \times 2 \times 0.2$ mm, car la coupe en épaisseur qui a été développée ne permettait pas l'utilisation de la forme *dumbbell*.

L'obtention de l'échantillon se fait en deux étapes. Tout d'abord, un bloc os-cartilage est extrait directement de l'épaule et est conservé à 4°C dans une chambre humide jusqu'au moment du test. Ensuite, avant le test, le cartilage est séparé de l'os pour être coupé parallèlement à la surface dans le *Vibratome*. Finalement, avant d'être installé dans les serres, l'épaisseur est mesurée avec un montage utilisant un multimètre et un micromètre.

Le prochain chapitre présente l'adaptation qui a été faite au testeur mécanique afin de pouvoir effectuer les tests en tension. Ce chapitre inclut aussi un résumé de l'évolution du montage ainsi que la présentation des résultats des tests sur la précision du testeur mécanique.

CHAPITRE 5 Méthode : test mécanique

Le testeur mécanique utilisé est un appareil qui permet d'obtenir des courbes force-temps. Ce testeur dispose d'un actuateur permettant d'induire des déformations et d'une cellule de charge permettant d'obtenir la force provenant de la déformation de l'échantillon. Encore une fois, ce testeur a été utilisé principalement pour effectuer des tests en compression et, afin de l'adapter au test en tension, des pièces ont été usinées afin d'induire une déformation en tension à un échantillon de cartilage.

La première partie de cette section consiste en une description du testeur mécanique et du système d'attache servant à maintenir l'échantillon. Au cours du projet, le montage a été amélioré. Des séries de tests ont été faites à chacune des versions du montage et ces séries de tests sont nommées de A à E. Les tests suivants la série de tests E sont ceux présentés dans l'article soumis du chapitre 7. La deuxième partie de cette section présente les caractéristiques et les résultats pertinents de ces différentes séries de tests. La troisième partie consiste en une présentation de tests faits pour vérifier la précision du testeur mécanique.

5.1 Montage

Le testeur mécanique utilisé est le *Mach-1 E100 Mechanical Tester* de BioSyntech. Des pièces ont été usinées afin de l'adapter aux tests en tension. Ce testeur est composé principalement d'un actuateur et d'une cellule de charge (figure 5.1). L'actuateur induit la déformation aux échantillons alors que la cellule de charge, qui est attachée à la tige mobile de l'actuateur, enregistre la force déployée par l'échantillon lors de la déformation. Les paragraphes suivants contiennent une description du fonctionnement général de l'appareil.

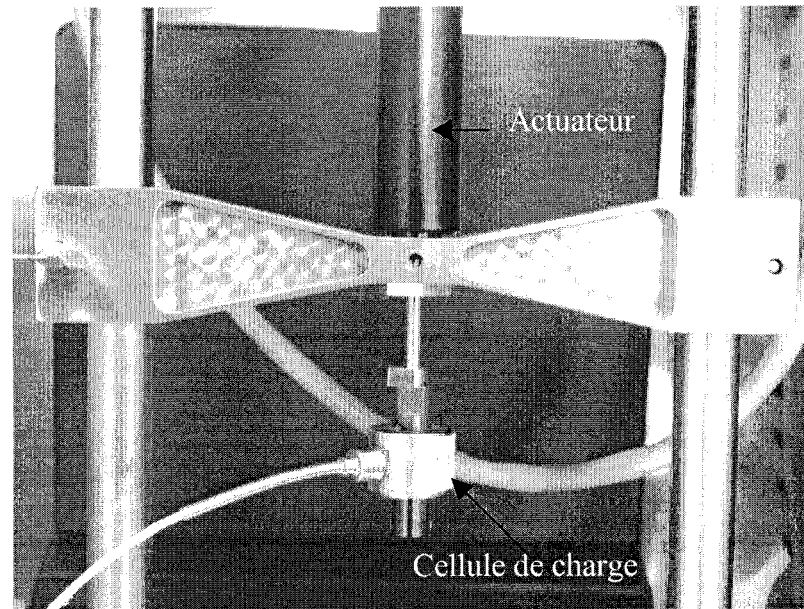


Figure 5.1. Photo de l'actuateur et de la cellule de charge.

5.1.1 Système d'attache

Des serres ont été utilisées pour fixer l'échantillon. Les serres principales sont attachées aux montages alors que les serres secondaires sont vissées sur les serres principales (figure 5.2). Deux vis situées de chaque côté de l'endroit où est installé l'échantillon servent à maintenir celui-ci. Avant chaque test, des morceaux de papier sablé sont collés sur les quatre serres afin d'empêcher l'échantillon de glisser lors de l'étirement. La colle utilisée est de la cyanoacrylate (crazy glue Lepage 8 *Acu-FloI*).

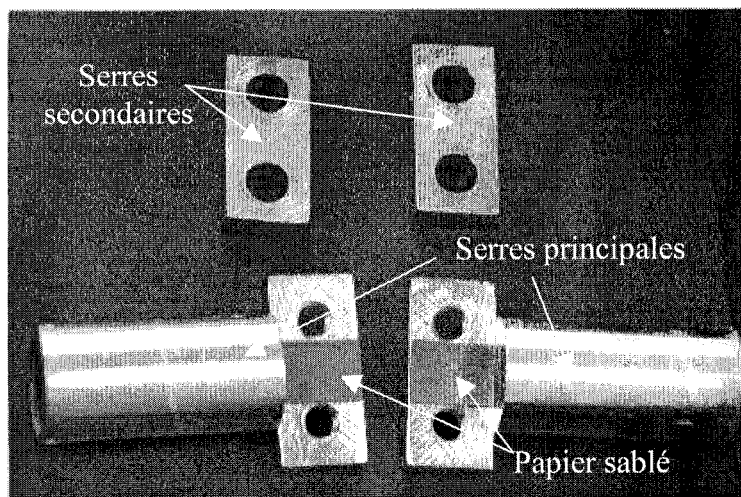


Figure 5.2. Photo des serres principales et secondaires.

5.1.2 Montage des tests en tension

L'actuateur est fixé sur une poutre centrale, elle-même fixée sur deux tiges cylindriques verticales. La cellule de charge est fixée sur la tige (partie mobile) de l'actuateur. L'actuateur n'est fort que lorsqu'il pousse. Un système d'anneau a donc été développé pour satisfaire cette condition. L'anneau, sur laquelle la serre inférieure est fixée, est attaché à la cellule de charge. Ces pièces sont mobiles et étire l'échantillon par le bas. Un support en U est fixé à la poutre transversale et la serre supérieure y est fixée (figure 5.3). L'échantillon, lors d'un test, est submergé dans une solution contenue dans un bain. La figure 5.4 montre le testeur mécanique lors d'un test.

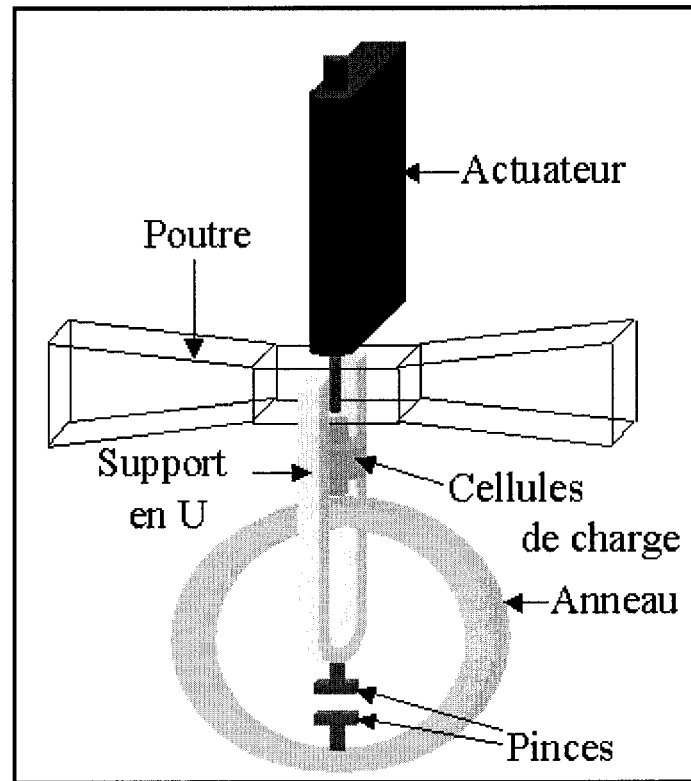


Figure 5.3. Schéma des composants du testeur mécanique.

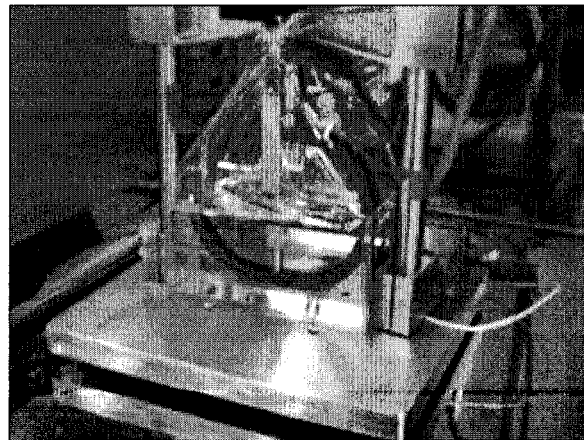


Figure 5.4. Photo du testeur mécanique lors d'un test.

Le logiciel fourni avec le testeur mécanique enregistre, dans un fichier texte, les données de déplacement et de force en fonction du temps (figure 5.5).

```

12-10-00_5ramp_sa - Notepad
File Edit Format View Help
<Mach-1 File>
<INFO>
User: MathieuC
Date: Saturday, October 14, 2000
Time: 12:37 AM
Sample name: Surface articulaire
Sample thickness, mm: 4.000000E+0
Sample area, mm2: 4.000000E-1
Load cell: BSTCell_150_1
Description:
<END INFO>
<Stress Relaxation>
Ramp Amplitude, um 4.000000E+1
Ramp velocity, um/sec 2.000000E+1
Number of Ramps 5.000000E+0
Sample Time, ms 5.000000E+1
Stop type Fixed Relaxation Time
Fixed Relaxation Time, sec 2.880000E+4
Time for Measurement of the slope, sec 6.000000E+1
Relaxation Criteria for variable Time, g/min 1.000000E-2
<DATA>
Time(sec) Position(um) Load(g)
0.000000 4000.000000 -0.825825
0.150000 4000.300000 -0.812175
0.200000 4001.600000 -0.791700
0.250000 4002.600000 -0.757575
0.300000 4003.600000 -0.709800
0.350000 4004.500000 -0.675675
0.400000 4005.500000 -0.634725
0.450000 4006.500000 -0.607425
0.500000 4007.400000 -0.559650
0.550000 4008.400000 -0.546000
0.600000 4009.300000 -0.491400
0.650000 4010.400000 -0.457275
0.700000 4011.300000 -0.416325
0.750000 4012.300000 -0.389025
0.800000 4013.300000 -0.348075
0.850000 4014.300000 -0.320775
0.900000 4015.200000 -0.286650
0.950000 4016.200000 -0.259350
1.000000 4017.000000 -0.218400
1.050000 4018.000000 -0.191100
1.100000 4019.000000 -0.150150
1.150000 4020.000000 -0.122850
1.200000 4021.100000 -0.081900
1.257000 4022.200000 -0.047775
1.308000 4023.200000 -0.027300
1.358000 4024.200000 0.013650
1.408000 4025.200000 0.034125
1.458000 4026.100000 0.068250

```

Figure 5.5. Exemple de fichier de résultats obtenus d'un test mécanique.

Les descriptions précédentes s'appliquent pour toutes les séries de tests. La prochaine section consiste en une description des améliorations apportées aux montages au cours du projet ainsi que des résultats pertinents obtenus.

5.2 *Évolution et résultats pertinents*

Comme les tests en tension n'ont jamais été effectués dans notre laboratoire, la version initiale du testeur a été améliorée à plusieurs reprises au cours du projet. À chaque amélioration, des tests mécaniques ont été effectués et des résultats pertinents peuvent être déduits de certaines de ces séries.

La première partie de cette section consiste en une présentation des améliorations apportées au montage. La deuxième partie contient les résultats pertinents obtenus de ces tests. Finalement, la précision du testeur mécanique dans la configuration qui a servi aux tests présentés dans l'article soumis du chapitre 7 est présentée.

5.2.1 Amélioration du montage

La première partie de cette section comporte une description générale des améliorations apportées aux montages et au protocole de tests. Les tests effectués sont regroupés en séries de tests ayant été faits avec un montage et un protocole identique. Au total, il y a 5 séries de tests, de A à E, en plus des tests présentés dans l'article soumis du chapitre 7.

Ensuite, les motifs à la source des améliorations ainsi que l'impact des améliorations sont décrits à chacune des séries de tests.

5.2.1.1 Généralité

Le protocole de tests est du type rampe-relaxation, c'est-à-dire que, en premier lieu, l'échantillon est étiré jusqu'à une certaine déformation, ensuite, il y a un temps d'attente, appelé temps de relaxation, qui permet à l'échantillon d'atteindre l'équilibre (figure 5.6).

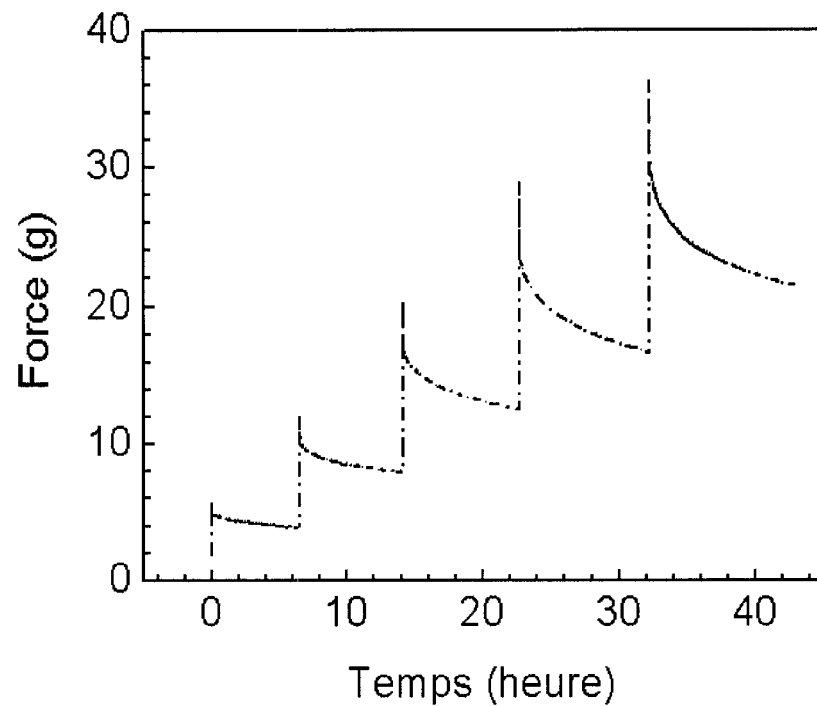


Figure 5.6. Exemple de courbe force-temps obtenue d'un test de rampe-relaxation. L'augmentation de la force correspond à l'étirement de l'échantillon alors que la diminution de la force correspond à la relaxation..

Les caractéristiques communes à chacune des séries de tests sont les suivantes :

- Temps de relaxation fixe de 8 heures par étirement
- Nombre d'étirements : 5
- 40 microns par étirement (1% de la longueur nominale)
- Temps d'attente initiale de 8 heures (sans étirement)
- La vitesse d'étirement est fixée à 20 microns/sec
- Cartilage d'épaule adolescente
- Papier sablé de grosseur 150
- Les échantillons proviennent de la surface articulaire d'épaule adolescente

Tableau 5.1. Caractéristique de chacune des séries de tests effectués avant ceux présentés dans l'article. * L'acquisition de données se fait lorsqu'il y a variation de la force et/ou de la position.

Série de test	Nombre de tests	Cellule de charge	Solution	Anneau	Chambre télescopique	2 séries d'étirements
A	5	1 kg	HBSS	Acier	Non	Oui
B	4	1 kg	HBSS	Aluminium	Oui	Oui
C	7	150 g *	HBSS	Aluminium	Oui	Oui
D	4	150 g *	Milieu de culture	Aluminium	Oui	Non
E	18	150 g *	PBS	Aluminium	Non	Non

Les différentes caractéristiques du tableau 5.1 sont expliquées dans les prochaines sections à l'exception des 2 séries d'étirements. Les séries de tests ayant 2 séries d'étirements ont un protocole qui inclut un retour à la déformation originale après les 5 étirements initiaux et, après un temps d'attente de 2 heures, 5 autres étirements sont appliqués à l'échantillon.

Les tests présentés dans l'article soumis du chapitre 7, ont un protocole légèrement différent alors que le montage est identique à celui de la série E, à l'exception du papier sablé qui a des grains de grosseur 1500 (1500 grains par pouce). Le protocole de tests est décrit dans l'article soumis.

5.2.1.2 Séries de tests A et B

Les deux premières séries de tests ont été effectuées avec la cellule de charge de 1 kg car l'anneau, qui est suspendu par la cellule de charge, est en acier et a un poids supérieur à 150 g (figure 5.7), qui est la charge maximale de la cellule de charge la plus précise.

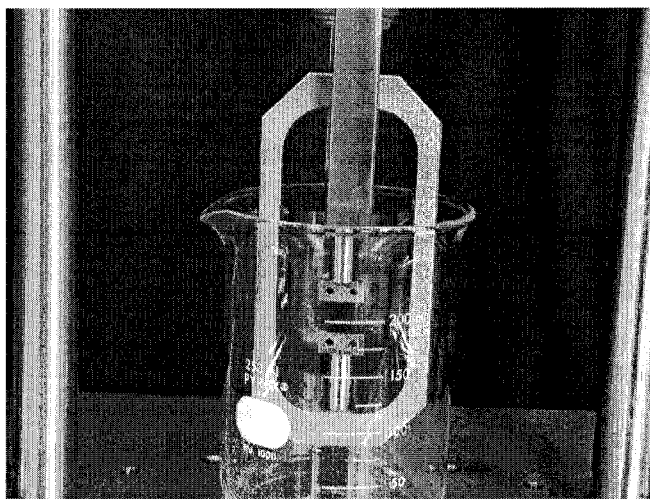


Figure 5.7. Photo du montage ayant servi à la série de tests A.

La série de tests B utilisait l'anneau en aluminium, plus léger, et une chambre télescopique (figure 5.8), mais l'installation de l'échantillon dans les serres induisait d'importantes surcharges sur la cellule de charge de 150g. L'utilisation de la chambre télescopique devait permettre d'effectuer, avec son volume d'environ 6ml, une analyse de la perte des PGs lors d'un test. La cellule de charge de 1 kg a donc continué à être

utilisée pour la série de tests B jusqu'à ce que les immobilisateurs de l'anneau soit usinés (figure 5.10). Les résultats obtenus dans ces séries de tests sont très imprécis, comme le montre la figure 5.9.

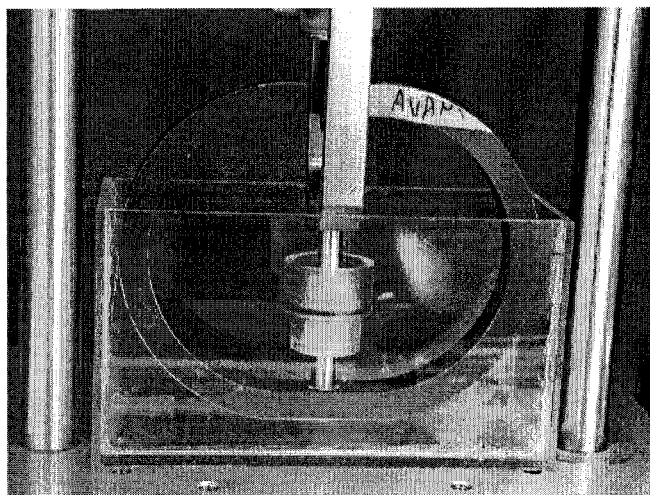


Figure 5.8. Photo du montage ayant servi à la série de tests B.

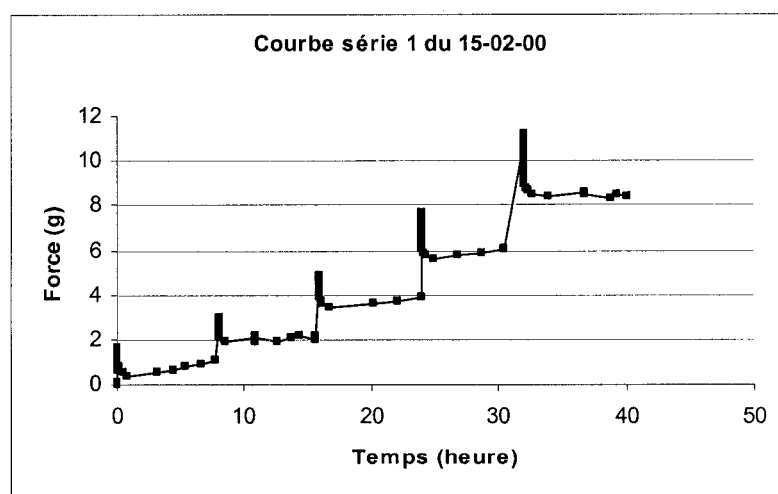


Figure 5.9. Exemple de résultats peu précis obtenus des séries de tests A et B.

5.2.1.3 Série de tests C

Les tests de la série de tests C ont été faits avec la cellule de charge de 150 g, l'anneau en aluminium et la chambre télescopique. L'ajout d'immobilisateurs qui empêchent l'anneau de bouger lors de l'installation de l'échantillon et de la chambre télescopique a permis l'utilisation de la cellule de 150 g. Aussi, l'acquisition de données se fait lorsqu'il y a une variation de position de l'actuateur et de la force.

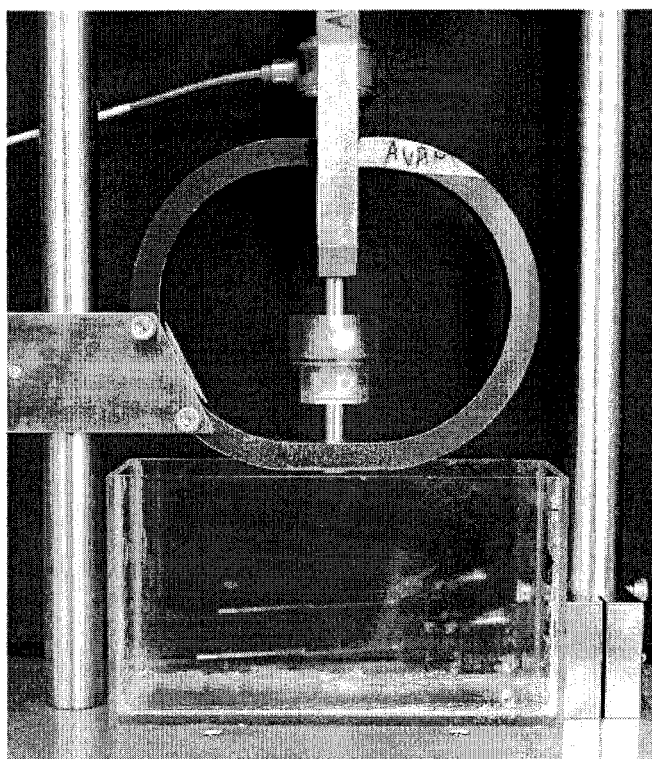


Figure 5.10. Photo du montage ayant servi aux séries de tests C et D.

À la suite de ces tests, il a été remarqué que les propriétés de la solution dans laquelle l'échantillon est submergé durant le test changeaient. Ainsi, le pH augmentait et la solution s'évaporait d'une quantité non-négligeable. Étant donné que les variations de la

solution ont été observées à la fin de cette série de tests, il n'y a aucune donnée quantitative sur le pourcentage d'évaporation.

Tout d'abord, le HBSS, solution utilisée pour faire les tests des séries A à C, contient du *Phenol Red*, ce qui confère à cette solution la propriété de changer de couleur en fonction du pH. À pH acide, la solution devient jaune, alors qu'elle devient mauve à pH basique. À pH physiologique, la solution est orange-rouge. Or, il a été remarqué que le pH de cette solution devenait basique (mauve) à la fin d'un test. Par la suite, différents tests ont été effectués, et le pH de cette solution augmente lorsqu'elle est placée à l'air libre. Une présentation des tests effectués sur le pH ainsi qu'une modélisation sommaire de cette solution est présentée à l'annexe IV. Aussi, l'impact d'une augmentation du pH, de 7.3 à 8.3, sur la réponse du cartilage en tension n'a fait l'objet d'aucune étude publiée. Il est donc impossible de savoir quel est l'impact de cette augmentation de pH sur les résultats.

En plus, le faible volume de la chambre télescopique rendait importante l'évaporation. L'évaporation de la solution dans la chambre télescopique, en plus de causer une augmentation de la salinité de la solution, augmente la force sur la cellule de charge, alors que l'évaporation de l'eau du bain diminue cette force. Quelques tests ont été faits afin de quantifier l'effet de l'évaporation, mais ils n'ont apporté aucun résultat concluant. Un test montre que les deux effets de l'évaporation se balancent, alors qu'un autre montre une augmentation de la force. Aussi, l'augmentation de la concentration de sel pourrait avoir un impact sur la réponse mécanique obtenue en faisant varier la pression osmotique des PGs.

Ces deux variations non-désirées sont présentes pour les séries de tests B et C. Par contre, le changement de la cellule de charge et l'amélioration de l'inquisition de données ont permis d'avoir des résultats ayant une précision satisfaisante. Une revue de la littérature et des tests ont été effectués afin de vérifier si le changement des

caractéristiques de la solution avait un impact sur les résultats obtenus, mais aucune réponse claire n'a été trouvée. Pour palier à ces incertitudes, d'autres séries de tests ont été effectuées.

5.2.1.4 Séries de tests D et E

Pour ces séries de tests, la deuxième série d'étirements a été abandonnée pour réduire la durée de chaque test. La série de tests D regroupe les tests ayant été faits dans des milieux de culture et la série E regroupe les tests faits dans du PBS et sans chambre télescopique. Ces changements de solution ont été utilisés afin d'éviter un changement de pH.

Pour les tests de la série D, le milieu de chacun des tests a été contaminé car les manipulations n'étaient pas stériles. Aussi, en considérant que ces tests ont été effectués à 37°C (contrairement à la température de la pièce pour les tests précédents), le taux d'évaporation était d'environ de 40-45%.

Ensuite, afin de prévenir l'impact de l'évaporation et en plus d'une variation de pH, la solution utilisée dans les tests de la série E a été du PBS (qui est une solution tampon indépendante de la quantité de CO₂ dans l'air ambiant) qui a un pH stable à l'air libre et l'utilisation de la chambre télescopique a été abandonnée (figure 5.11). La moyenne des pH initiaux, pris avant chaque test, est de 7.36 ± 0.07 et la moyenne des pH finaux, pris à la fin des tests, est de 7.31 ± 0.04 . L'écart moyen entre les pH initiaux et finaux est de -0.04 ± 0.06 . Le pH le plus élevé est de 7.4 et le plus faible est de 7.2. Le pourcentage de diminution du volume, et donc d'évaporation, est de 3.00 ± 1.60 %. La solution peut donc être considérée stable.

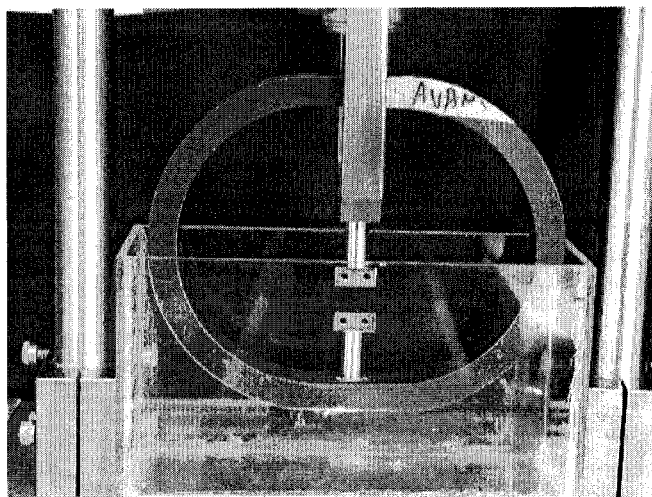


Figure 5.11. Photo du montage sans papier cellophane ayant servi à la série de tests E.

La série de tests E présente des résultats d'une précision suffisante et les tests ont été faits dans une solution stable. Par contre, des coupes histologiques de plusieurs échantillons ont été faites sur des échantillons ayant été testés et, suite à l'observation de ces coupes histologiques au microscope, il a été remarqué que le papier sablé 150 induisait des dommages importants à l'échantillon entre les pinces (figure 5.12C). Ainsi, un échantillon pouvait être troué proche de la zone où l'échantillon est étiré. Il nous était impossible de déterminer si cela influençait les résultats obtenus.

D'autres tests mécaniques ont donc été effectués avec du papier sablé de grosseur 1500 pour palier à cette incertitude. En effet, des coupes histologiques faites sur des échantillons ayant été placés entre les pinces avec du papier sablé de grosseur 1500, ont montré que ce papier sablé n'endommage pas le cartilage (figure 5.12A). Des étirements sous-microscopies ont montré que la déformation réelle est similaire pour chaque papier sablé (annexe V). Les résultats des tests mécaniques utilisant du papier sablé de grosseur 1500 sont présentés dans l'article soumis du chapitre 7.

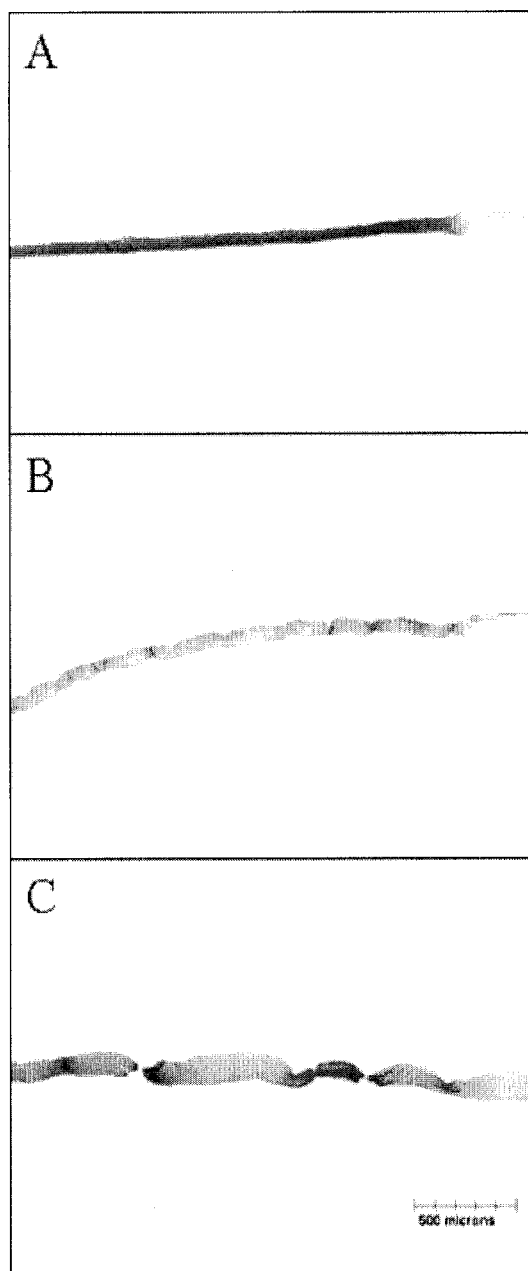


Figure 5.12. Photo de coupes histologiques faites sur des échantillons fixés chimiquement entre les serres. A) Le papier sablé utilisé est de grosseur 1500. B) Le papier sablé utilisé est de grosseur 400. C) Le papier sablé utilisé est de grosseur 150.

5.2.2 Résultats pertinents

Cette section comprend tout d'abord un bref résumé des résultats quantitatifs obtenus de ces tests mécaniques. Ensuite, les résultats pertinents obtenus de ces tests sont ensuite présentés. Une présentation exhaustive des résultats de chaque série est faite à l'annexe II.

5.2.2.1 Résumé des résultats des tests des séries A à E

Les tests effectués dans les séries A à E comportaient des étirements de 1% de la longueur initiale et d'une relaxation de 8 heures. Une attente de 8 heures précédait 5 étirements (la série 1). Ensuite, pour les séries de tests A à C, un retour à la longueur initiale, avec une attente de 2 heures, précédait 5 autres étirements (série 2). Malgré la différence entre les montages, plusieurs similitudes peuvent être dégagées de ces différentes séries de tests. La série de tests D ne fait pas l'objet de cette discussion étant donné que le milieu de chaque test a été contaminé. Bien que les séries A et B soient comparées aux séries C et E, le manque de points tend à diminuer la valeur de leurs résultats. Pour la série C (ainsi que pour la série B), le pH et la salinité de la solution n'étaient pas constants au cours de la durée du test et l'évaporation de la solution peut fausser les données de force. Des tests pour évaluer l'effet de l'évolution de ces paramètres n'ont pas réussi à montrer clairement quel est l'impact, s'il y en a un, sur les résultats mécaniques. Pour toutes les séries A à E, le papier sablé utilisé est du 150, ce qui signifie que chaque échantillon testé était grandement endommagé entre les pinces. Il est tout de même pertinent de résumer les résultats obtenus jusqu'à la série E.

Les modules au pic et à l'équilibre du dernier étirement montrent une certaine disparité. Alors que les modules des séries A et B ensemble sont similaires à ceux de la série E, ceux de la série C sont approximativement le double des autres séries. Pour la série 1, les moyennes des modules à l'équilibre varient de 4.51 MPa à 13.87 MPa alors que les

moyennes des modules au pic varient de 14.71 MPa à 31.00 MPa. Il faut préciser que la valeur maximum des modules de chacun des étirements de chacune des séries est supérieure à la valeur minimum des modules de l'étirement correspondant de chacune des autres séries. Par contre, pour la série de tests 2, la disparité est plus grande alors que le plus faible résultat pour chacun des étirements de la série C est supérieur au plus élevé des résultats des séries A et B. Les mêmes conclusions s'appliquent pour les pentes des modules.

Il est difficile d'expliquer l'écart entre ces résultats mais il est possible de rencontrer, pour un tissu biologique, une disparité aussi grande. 4 tests, deux avec le montage de la série C et deux avec le montage de la série E, faits sur des échantillons juxtaposés, ont montré des résultats similaires pour une des deux paires. Il a été déduit que le montage n'était pas responsable des écarts importants entre les résultats de ces deux séries. Il est difficile de connaître toutes les caractéristiques des sujets qui ont fourni les échantillons. Une variation d'une de ces caractéristiques, par exemple l'âge comme il est montré dans l'article soumis du chapitre 7, peut amener une forte variation dans les résultats.

Par contre, il y a une certaine similitude entre les ratios des modules à l'équilibre sur les modules au pic. Pour la série 1, ce ratio varie de 33.6% à 44.8%. Pour la série 2, les séries B et C montrent un ratio entre 55% et 60%, alors que la série A montre un ratio de 35%, ce qui entraîne une différence statistique significative. Le petit nombre de tests effectués dans la série A ($n=5$) et surtout le manque de précision des résultats sont peut-être la source de cette différence. Malgré cela, la constance du ratio tend à confirmer ce qui a été montré dans l'article soumis, car les épaules testées dans ces différentes séries de tests étaient toutes âgées de 18 mois, donc adolescentes.

Malgré la très longue relaxation du protocole utilisé, l'échantillon n'a pas le temps d'atteindre l'équilibre (si équilibre il y a). Les résultats obtenus montre une

augmentation de la décroissance de la force à la fin des relaxations avec l'augmentation de l'étirement.

Finalement, l'impact des modifications du montage sur les résultats, sauf pour la changement de cellule de charge, n'a pas pu être déterminé avec certitude. Ainsi, les résultats obtenus ne nous permettent pas d'établir quel a été l'effet du changement de solution, de la présence ou non de la chambre télescopique et du changement de la grosseur de grain du papier sablé utilisé. Il faut mentionner que la motivation première des modifications apportées était d'éliminer des sources possibles d'artéfacts et ces améliorations ont conduit au test mécanique présenté dans l'article soumis du chapitre 7.

5.2.2.2 Comparaison des séries 1 et 2

Les deux séries consécutives avaient pour but de vérifier l'élasticité du cartilage. En effet, deux courbes consécutives semblables indiqueraient que l'échantillon n'a subi aucun dommage irréversible, et donc que le cartilage n'a subi aucune déformation plastique. Les résultats obtenus montrent une différence de comportement entre les séries 1 et 2. Il se peut, bien qu'il n'y ait aucune preuve, que l'écart entre les résultats ait comme source le changement des caractéristiques de la solution et de la grosseur difficilement négligeable des grains du papier sablé. Je crois qu'il est tout de même pertinent de supposer que les résultats proviennent uniquement du comportement du cartilage. Bien que ces résultats ne donnent pas des informations directes sur le comportement des différentes composantes, il est tout de même possible d'effectuer des hypothèses.

La comparaison entre les valeurs obtenues des série de tests 1 et 2 montrent que, d'une part, l'étirement des échantillons entraîne des dommages irréversibles et, d'autre part, que la force au pic et à l'équilibre du dernier étirement semble être conservée malgré la

longue durée du test. Malgré que le cartilage *in-vivo* puisse subir des milliers de compressions sans qu'il y ait dégradation, ces résultats suggèrent que les échantillons testés en tension subissent des dommages irréversibles lors des déformations *in-vitro*. L'hypothèse principale est que la sortie du fluide lors d'un étirement n'est pas compensée (ou réversible) lors du retour de l'échantillon à sa longueur initiale. Ainsi, à la suite des étirements, l'épaisseur du cartilage aurait diminuée. L'autre hypothèse (qui n'exclut pas la première) est que les coupes de l'échantillon, qui tranchent le réseau des fibres de collagène, empêcheraient le cartilage de conserver ses propriétés élastiques. Par contre, la conservation de la force au pic et à l'équilibre du dernier étirement semble indiquer que l'échantillon ne subit aucun dommage autre que celui occasionné par les étirements. Ainsi, le retour à la déformation originale et les cinq étirements de la deuxième série ne feraient que ramener l'échantillon au même état étiré qu'à la suite de la première série d'étirements.

5.3 Précision du montage

Les tests en compression sont d'une durée relativement courte, alors que les tests en tension s'étendent sur plusieurs heures. Des tests ont été effectués pour établir la déviation des données recueillies. La source de cette déviation peut être inhérente aux instruments et peut aussi être causée par le montage.

Tout d'abord, les instruments utilisés présentent une incertitude inhérente à leur fonctionnement. La cellule de charge affiche une précision de $\pm 0.0075\text{g}$ et l'actuateur affiche une précision de ± 0.1 microns. Ces valeurs sont amplement précises et n'interfèrent pas sur l'analyse des résultats. Par contre, la cellule de charge, lorsqu'utilisée sur une longue période de temps, montre une déviation qui doit être considérée. Cette déviation peut provenir du fonctionnement de la cellule de charge mais aussi du montage (changement de température et/ou humidité relative et/ou évaporation).

Trois tests ont été effectués sur de longues périodes afin de déterminer cette déviation. Les conditions de ces tests sont identiques à celles des tests mécaniques dont les résultats sont présentés dans l'article soumis du chapitre 7, la principale différence étant l'absence d'échantillons.

Les résultats et la discussion portent uniquement sur la déviation de la cellule de charge car l'actuateur ne montre aucune déviation.

5.3.1 Résultats

Les trois tests présentent des courbes similaires, c'est-à-dire qu'il y a une augmentation relativement rapide de la force au départ, jusqu'à une certaine force, et ensuite il y a une décroissance de la force qui diminue avec le temps. Les trois tests effectués ont une durée différente : 24 heures (figure 5.13), 48 heures (figure 5.14) et 96 heures (figure 5.15). Le test de 48 heures inclut les déplacements de l'actuateur.

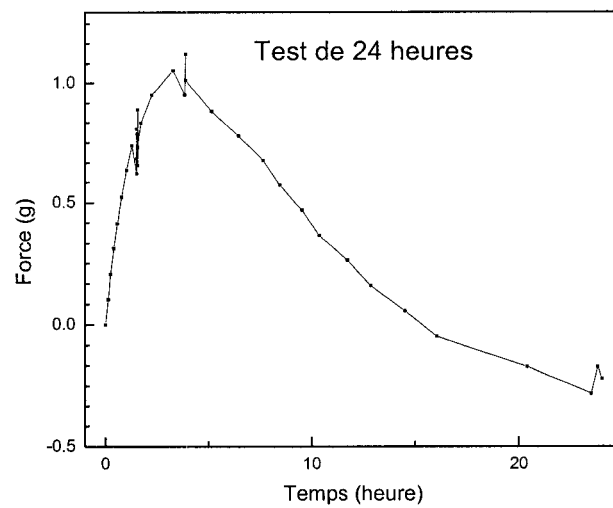


Figure 5.13. Déviation de la cellule de charge dans le montage servant au test en tension sur une période de 24 heures.

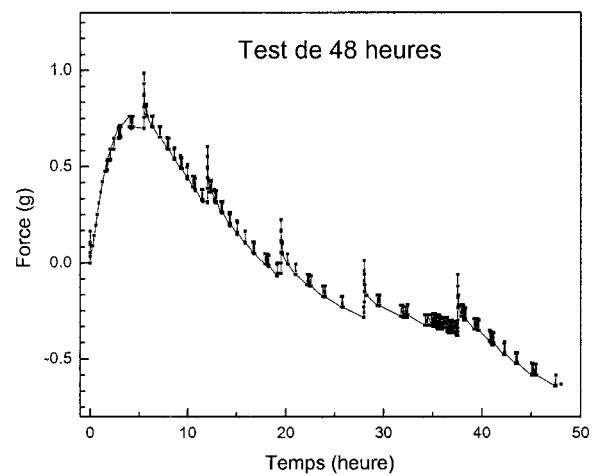


Figure 5.14. Déviation de la cellule de charge dans le montage servant au test en tension sur une période de 48 heures. Inclut les déplacements de l'actuateur.

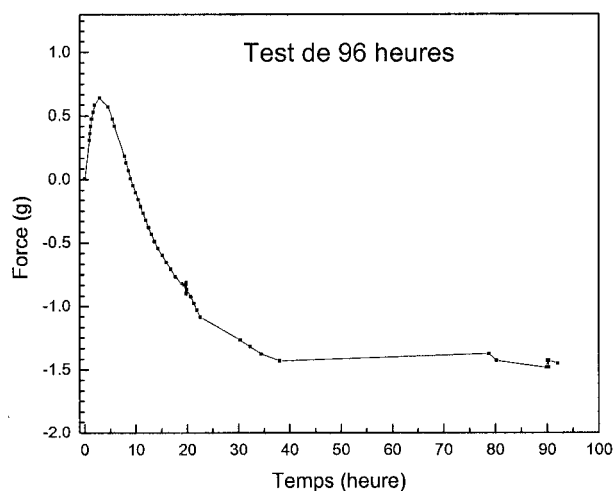


Figure 5.15. Déviation de la cellule de charge dans le montage servant au test en tension sur une période de 96 heures.

Les augmentations de force créées par le déplacement de l'actuateur dans les tests de 48 heures sont d'amplitude approximativement égale à 0.3g. Les résultats sont présentés au tableau 5.2.

Tableau 5.2. Tableau montrant les pentes des courbes de déviation ainsi que la force maximum.

	Croissance initiale (g/h)	Force au pic (g)	Temps pour atteindre le pic (h)	Décroissance max (- g/h)
24 heures	0.619	1.12	~ 3.90	0.116
48 heures	0.250	0.69	~ 5.5	0.092
96 heures	0.335	0.63	~ 2.83	0.076

5.3.2 Discussion

Les courbes obtenues de ces trois tests présentent un comportement similaire et il semble présent pour la majorité des tests effectués. Ainsi, lors de la relaxation initiale, une croissance de la force est souvent présente (17 tests sur les 19 présentés dans l'article). Ainsi, la croissance initiale de la déviation est souvent présente dans la relaxation initiale, mais n'est pas présente dans les étirements subséquents. La plus forte décroissance de la déviation de la cellule de charge serait présente dans les premiers étirements, et diminuerait par la suite. Il faut noter que le calcul des modules est basé sur les déformations infinitésimales, ce qui implique que les modules calculés pour les derniers étirements est indépendant des étirements initiaux. Aussi, cette déviation n'a aucun impact sur les modules au pic.

Des tests vérifiant l'effet de la température sur la cellule de charge de 1kg ont montré que la force enregistrée par la cellule de charge augmentait linéairement avec une augmentation de la température (approximativement 1g pour 5°C). Suite à ces résultats, les tests mécaniques ont été effectués dans un incubateur qui pouvait contrôler les variations de température. Par contre la température de l'incubateur était légèrement supérieure à celle ambiante (~28°C), ce qui peut impliquer une légère hausse de température lors du début du test, et ainsi une augmentation de la force. Aussi, le papier cellophane entourant le bain et la cellule de charge est quasi hermétique, ce qui peut impliquer une hausse d'humidité relative dans l'air entourant la cellule de charge jusqu'à ce qu'il y ait saturation. Aucun test n'a par contre été fait pour vérifier cette hypothèse. Finalement, une évaporation de la solution saline implique une diminution du volume imbibé de l'anneau qui est fixé sur la cellule de charge, ce qui tend à diminuer le poids sur la cellule de charge. L'évaporation pourrait peut-être expliquer la déviation négative de la cellule de charge, par contre des tests ont montré qu'approximativement 15 ml en moyenne s'évaporerait et qu'une perte de 25 ml entraîne

une diminution d'environ 1.2g de force. Le montage pourrait donc être la cause de la déviation de la cellule de charge.

L'écart maximal entre les modules à l'équilibre obtenu directement des résultats mécaniques et le module à l'équilibre ajusté est d'environ 1MPa supérieur. En supposant un échantillon fictif qui a un module à l'équilibre de 'x' MPa, une épaisseur de 250 microns, une largeur de 2 mm et une déformation appliquée de 2%, le module à l'équilibre obtenu en éliminant une déviation de -0.1g/h sur 8 heures est de 'x + 0.8' MPa. Cette déviation est du même ordre de grandeur que l'incertitude sur les résultats obtenus pour les pentes de fin de relaxation (tableau 5.3). Aussi, la pente de la fin des relaxations augmente avec les étirements, ce qui implique que la réponse mécanique du cartilage a sans doute une influence sur cette relaxation car cette augmentation de la pente est contraire aux résultats de déviation, qui montre que la pente diminue en fonction du temps. Aussi, l'écart type des modules à l'équilibre est supérieur à 1MPa à l'exception des épaules jeunes qui ont un module à l'équilibre pratiquement nul. Ainsi, cette déviation peut être considérée faible, principalement pour les derniers échantillons, car elle diminue avec le temps et elle est inférieure à l'écart type des résultats à l'équilibre.

Tableau 5.3. Tableau montrant l'incertitude des modules à l'équilibre en fonction du groupe d'âge et des étirements (résultats présentés dans l'article soumis du chapitre 7).

	Étirement 1	Étirement 2	Étirement 3	Étirement 4	Étirement 5
Jeune	1.10	0.99	0.88	0.47	0.54
Adolescent	1.28	1.55	1.45	1.93	2.57
Adulte	4.08	4.63	6.43	8.38	10.17

Bien que la déviation de la force semble conserver son comportement dans les différents tests, un ajustement des résultats mécaniques serait précaire car l'amplitude de la déviation peut varier et surtout l'impact sur cette déviation de l'étirement d'un échantillon, et donc d'une augmentation de la force, n'est pas connu. Il est préférable de travailler avec les résultats mécaniques sans ajustement car la précision de l'appareil est suffisante pour pouvoir obtenir l'information désirée sur le comportement du cartilage en tension.

5.4 Conclusion

Tout d'abord, l'étirement de l'échantillon s'est fait en serrant l'échantillon à ses extrémités. Ensuite, comme l'actuateur n'est fort que lorsqu'il pousse, un système d'anneau a été développé pour que l'actuateur étire l'échantillon en poussant l'extrémité qui est à son opposé.

Ensuite, ce montage a été amélioré afin d'augmenter la précision des résultats et dans le but d'éliminer au maximum les artefacts. Ainsi, la cellule de charge de 1 kg a été remplacé par la cellule de charge de 150g et le papier sablé utilisé pour maintenir l'échantillon en place a été changé afin de diminuer la taille des grains et ainsi éviter d'endommager l'échantillon entre les pinces. Finalement, la solution utilisée a été changée à quelques reprises jusqu'à ce que le PBS sans la chambre télescopique soit utilisée, car celle-ci avait un pH physiologique constant et l'évaporation devenait négligeable.

Finalement, des tests ont été faits sans échantillon pour vérifier la déviation au niveau de l'acquisition de données. Ces tests montrent une augmentation de la force au début du test. Ensuite, cette force diminue avec une pente inférieure à la pente de l'augmentation initiale. Cette déviation est tout de même faible lorsque comparée à l'écart type des résultats obtenus.

Le prochain chapitre présente le montage qui a été développé afin de pouvoir quantifier la déformation réelle ayant lieu lors d'un test en tension. Ce chapitre consiste en une présentation du montage et en un résumé des résultats pertinents obtenus avant les tests présentés dans l'article soumis du chapitre 7.

CHAPITRE 6 Méthode : Étirement sous-microscopie

Des tests ont été développés afin de quantifier la déformation réelle ayant lieu lors d'un étirement en tension du cartilage. Un montage a donc été développé afin de pouvoir effectuer un étirement sous-microscopie avec un système d'attache de l'échantillon identique à celui utilisé dans le testeur mécanique. Afin de pouvoir quantifier la déformation, des marqueurs cellulaires ont été utilisés afin de pouvoir déterminer la position relative des cellules à chaque étirement.

La première partie de ce chapitre consiste en une présentation du montage et de la méthode développée afin de pouvoir obtenir les résultats quantitatifs. La deuxième partie de ce chapitre présente l'évolution de la méthode et les résultats pertinents obtenus des tests qui ont été faits avant ceux présentés dans l'article.

6.1 Méthode

Tout d'abord, jusqu'à la mesure de l'épaisseur, les échantillons utilisés sont obtenus et manipulés de la même manière que pour les tests mécaniques. Par contre, avant l'installation des échantillons dans le montage, les cellules sont étiquetées avec du Hoescht 33258, ce qui permet de voir les cellules sous le microscope à fluorescence. Donc, après avoir effectué la coupe en épaisseur, l'échantillon est placé dans une solution de 4ml de PBS additionné de 0.4µl de Hoescht 33258 pour une période d'au moins trois heures dans un incubateur à 37°C et 5% CO₂.

Des pièces, permettant l'utilisation de serres identiques à celui du testeur mécanique, ont été fabriquées afin qu'elles puissent être placées sous le microscope à fluorescence Axiovert S100 TV (figure 6.1; figure 6.2; figure 6.3). L'étirement se fait à l'aide d'un micromètre métrique non rotatif Mitutoyo (no de cat :153-203) auquel est attaché une

des deux serres principales. L'autre serre est fixe et est vissée sur le bâti. Un couvercle de pétrie de dimension 100×20mm est utilisé comme bain.

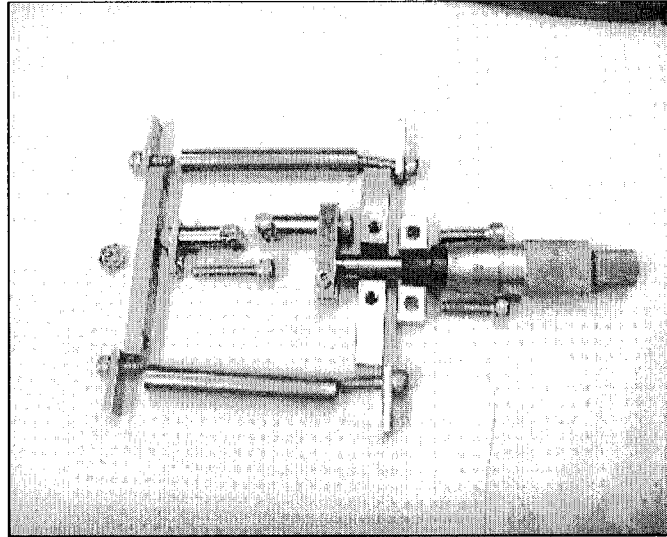


Figure 6.1. Photo des pièces du montage servant à faire les tests d'étirement sous-microscopie.

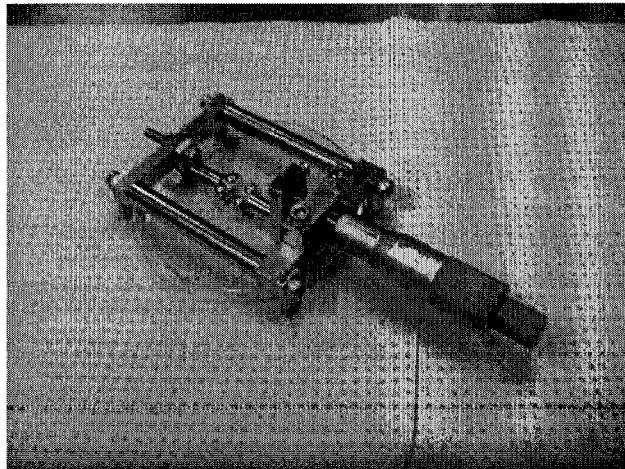


Figure 6.2. Photo du montage assemblé.

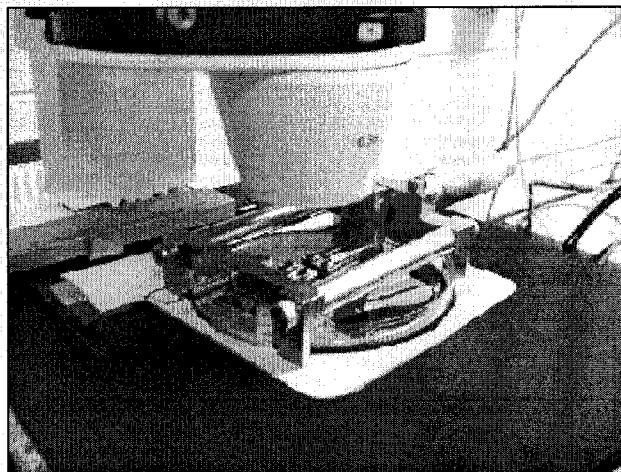


Figure 6.3. Photo du montage installé dans le microscope.

À chaque étirement, deux photos sont prises avec l'objectif de 4X, recouvrant la majeure partie de l'échantillon (figure 6.4). Les dimensions d'une photo de ce grossissement sont de 2.2 mm par 1.7 mm. Afin d'obtenir les mêmes cellules à chaque étirement, une attention particulière est accordée sur le positionnement de la photo et de l'emplacement du focus dans l'épaisseur de l'échantillon. Aussi, l'axe long de la photo coïncide avec l'axe long de l'échantillon. Ensuite, 9 cellules sont choisies sur chacune des deux photos et les déformations longitudinales et transversales sont établies en fonction de la variation de la distance entre les cellules (figure 6.4).

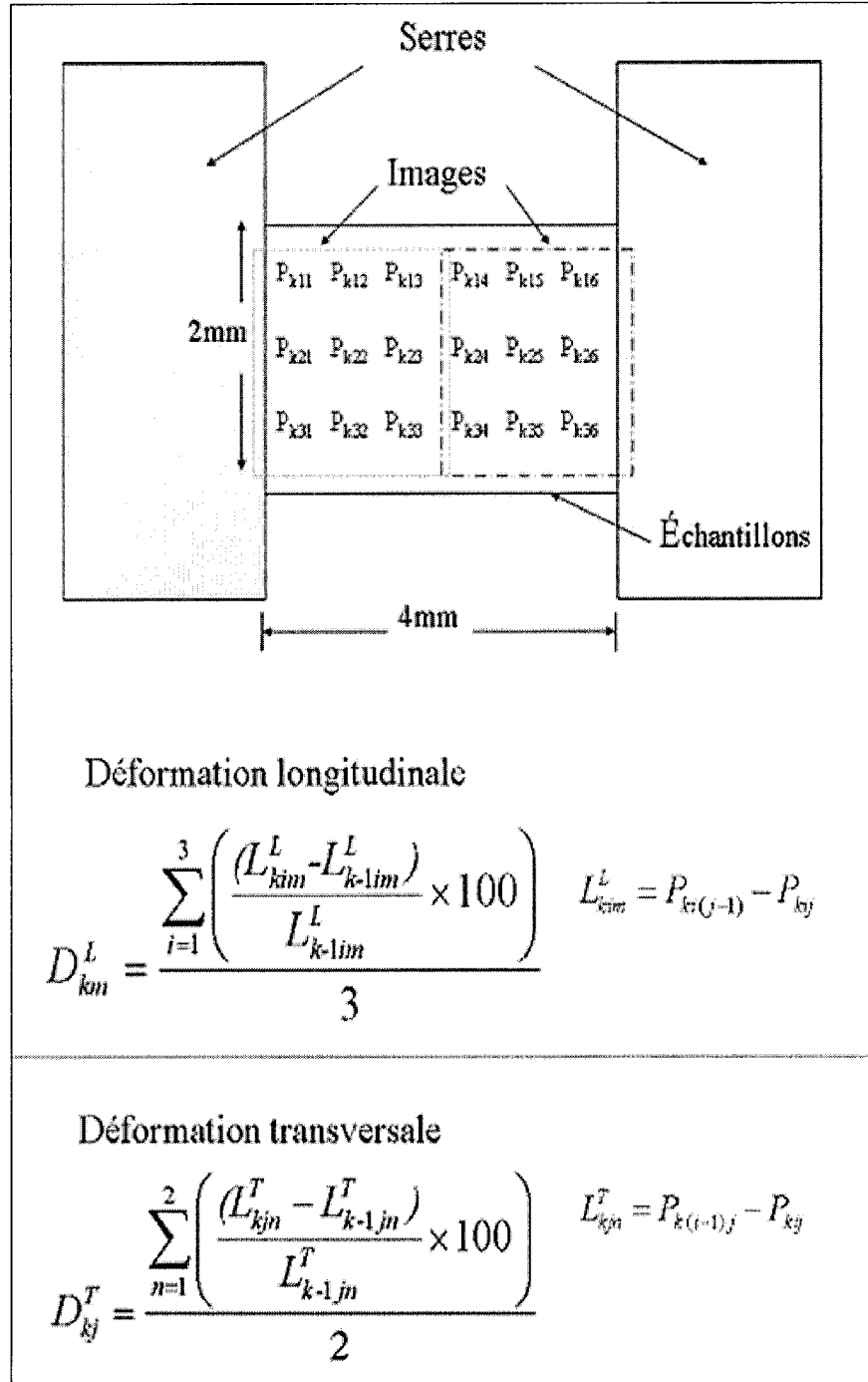


Figure 6.4. En haut) Schéma du positionnement des cellules. k étant numéro de l'étirement. En bas) Formule permettant le calcul des déformations en fonction de la position de chaque cellule (P_{kij}).

La méthode utilisée permettant d'obtenir la déformation à partir de ces photos est expliquée dans l'article soumis présenté au chapitre 7.

6.2 Évolution et résultats pertinents

Ce chapitre présente les résultats des étirements sous microscope qui ont été faits avant ceux présentés dans l'article. Contrairement, au testeur mécanique, le montage pour effectuer les tests sous-microscopie n'a jamais été modifié. Par contre, le protocole a été modifié tout comme le protocole des tests mécaniques. Une présentation exhaustive des résultats et une discussion détaillée se retrouvent à l'annexe III.

Le protocole initial utilisait des étirements de 1% de la longueur nominale (40 microns) et une déformation initiale de 1%, alors que les tests présentés dans l'article sont de 2%. Les résultats obtenus sont très similaires à ceux de l'article, sauf qu'il montre une déformation de moitié inférieure. Par contre, pour les premiers étirements, la déformation est inférieure à la moitié et ce serait possiblement causé par un décourbage initial de l'échantillon.

Les tests mécaniques montrent une relaxation très longue de plusieurs heures. Des photos sur des échantillons étirés jusqu'au cinquième pas (5% ou 10%) depuis ~24 heures ont été prises sous microscope sur certains échantillons afin de vérifier si les dimensions de l'échantillon variaient sur une longue période sans changer la déformation induite. Ainsi, les positions relatives des cellules entre elles mesurées sur des photos de l'échantillon prises à la suite du dernier étirement sont comparées à celles des photos prises approximativement 24 heures plus tard. Les résultats obtenus suggèrent (l'imprécision de la méthode n'est pas négligeable) que la largeur de l'échantillon diminue après une longue période de temps. Il est par contre impossible, avec ces résultats, de déterminer la variation de la déformation transversale à la suite

d'un étirement en fonction du temps et ainsi d'effectuer une comparaison précise entre la diminution de la largeur et la relaxation. L'incertitude reliée à cette méthode est d'environ $\pm 0.25 \%$ et la décoloration des cellules pouvait rendre imprécise l'identification des cellules ce qui rendrait difficile de détecter une déformation sur une courte période de temps.

6.3 Conclusion et présentation de l'article

Le montage des étirements sous-microscopie utilise le même système d'attache que le testeur mécanique et il permet d'étirer un échantillon sous un microscope et ainsi voir la déformation de l'échantillon. Les échantillons utilisés sont identiques à ceux utilisés pour les tests mécaniques à l'exception que l'échantillon était submergé pour plusieurs heures dans une solution contenant un marqueur cellulaire avant d'être installé dans le montage.

Uniquement le protocole a été changé au cours du projet. Les résultats obtenus des tests faits avant ceux présentés dans l'article confirment les résultats des tests dans l'article. Aussi, des tests tendent à montrer qu'il y a une contraction de l'échantillon lorsqu'il est maintenu étiré, mais les résultats sont trop peu précis pour tirer des conclusions.

Le prochain chapitre est l'article qui a été soumis à la revue *Journal of Biomechanical engineering* le 17 octobre 2002. Les résultats présentés dans l'article correspondent aux dernières série de tests mécaniques et des étirements sous-microscopie ayant été effectué dans cette étude. Pour cette série de test, en plus de confirmer la présence de l'effet non-linéaire, des échantillons d'âge et de provenance différentes dans l'épaisseur du cartilage ont été testés afin de caractériser les variations du comportement mécanique du cartilage selon ces paramètres.

CHAPITRE 7 Nonlinear tensile properties of bovine articular cartilage and their variation with age and depth

Articular cartilage is primarily characterized for its mechanical properties in compression due to its ability to resist loading while providing low friction in articulating joints. The mechanical properties of this anisotropic and heterogeneous material arise from its three principal components, collagen, proteoglycan and water and their physical interactions. The negatively charged proteoglycans form a gel-like material that has a tendency to swell and imbibe water. This gel is entrapped in a cross-linked collagenous fibril network that integrates the entire structure and attaches it to underlying bone via the calcified cartilage layer. While the hydrated proteoglycan phase provides much of the compressive stiffness to cartilage, the ability of the collagenous network to resist tension is just as critical to cartilage compressive strength as indicated in recent experimental and theoretical studies. For example, in the case of unconfined compression, a high tensile stiffness in the direction orthogonal to compression dramatically increases fluid pressurization that is isotropic and therefore active in the direction of compression, contributing very significantly to the measured load and dynamic stiffness (Soulhat and al, 1999). In this case, specifying the equilibrium tensile modulus in the transverse direction to be 10 MPa and the compressive modulus in the axial direction to be 1 MPa in a biphasic model with a composite solid allows an accurate description of the high transient stiffness (~ 6 MPa) and strong relaxation behavior (to ~ 1 MPa at equilibrium) of cartilage in unconfined compression. Furthermore, stress relaxation data from a sequence of superimposed ramp displacements revealed an increasing transient stiffness with subsequent ramps, called compression-offset dependent stiffening, that could only be described with this composite model when the equilibrium tensile stiffness was increased for subsequent ramps (Fortin and al, 2000). The latter suggests that axial compression was stretching

and stiffening the fibrillar network in the transverse direction. This was reaffirmed in nonlinear finite element analysis where other sources of nonlinearity such as strain-dependent permeability were found to be incapable of producing compression-offset dependent stiffening of this magnitude (Li and al, 1999). Finally, an additional nonlinear behavior, where further compression from a static offset results in a larger transient than release of the same amplitude from the same offset, was also only predicted when tensile stiffness was permitted to increase with tensile strain (Li and al, 2001). The net result of these latter studies was that nonlinear behavior in compression could be theoretically described if a nonlinear increase of equilibrium tensile modulus on the order of 10-20 MPa per % tensile strain was included, a property that has never been measured directly.

The mechanical properties of articular cartilage in tension have been characterized previously using stress relaxation, creep and constant speed protocols applied to dumbbell-shaped and/or rectangular samples derived from animals of different ages and from different depths from the articular surface. Early studies applied mostly constant speed stretching of dumbbell-shaped samples to failure, revealing a fracture stress that decreased with age, in the range of 10-25 MPa (Weightman and al, 1976; Kempson and al, 1980). Later studies indicated that this decrease in fracture stress with age was site specific, being much more present in the femoral condyle than in the talus (Kempson and al, 1991). Tensile stiffness in the latter studies was calculated at a stress of 1 MPa during the constant speed stretch, resulting in values of 10-100 MPa and suggesting a slight decrease with age in the condyle but an increase with age in the talus. These results are of clinical significance since osteoarthritis is much more prevalent in the hip than the ankle, correlating positively with the presence of lower tensile stiffness and fracture stress. Equilibrium tensile stiffness of human and bovine articular cartilage derived from different depths from the articular surface revealed much lower stiffness values in general and a very significant decrease in equilibrium tensile stiffness with depth where ~10 MPa was found at the articular surface reducing to ~1 MPa in deeper

zones (Akizuki and al, 1986). This decrease in tensile stiffness with increasing distance from the articular surface has been found repeatedly (Kempson and al, 1991; Kempson and al, 1976; Kempson and al, 1973) and most likely is attributable to depth-dependent orientation of collagen where fibrils are parallel to the articular surface near to that surface and more randomly or vertically oriented in deeper zones (Hedlund and al, 1993). This depth-dependent stratification of articular cartilage structure is also generally accentuated with age (Schenk and al, 1986). In contrast to previous studies (Kempson and al, 1980), a more recent one (Akizuki and al, 1986) did not find any decrease in tensile stiffness with age and suggested that the previously found decrease in tensile stiffness with age was due to pathological degeneration and fibrillation in some of the tested samples. Finally, only one published study has mentioned the linearity of the equilibrium response of articular cartilage to tension (Akizuki and al, 1986), suggesting that the response was essentially linear in the range of 0 to 15% tensile strain.

Given the importance of tensile properties of articular cartilage in determining its response to compression, the ability of nonlinear stiffening of tensile stiffness to describe dynamic nonlinear responses of cartilage to compression, and the established relationship between weakened tensile stiffness and incidence of osteoarthritis, we designed a study to investigate nonlinear properties of articular cartilage in tension, taking into account age and depth from the articular surface. The hypotheses were that 1) tensile equilibrium modulus of articular cartilage increases with uniaxial tensile strain, 2) tensile stiffness decreases with depth from the articular surface and 3) tensile stiffness increases with age. In addressing these hypotheses our results are clinically relevant to articular cartilage function in situ, to how maturation and age affects cartilage function, and they are additionally valuable in the diagnosis and treatment of osteoarthritis and other pathologies of articular cartilage.

7.1 *Materials and methods*

7.1.1 Tissue isolation

Articular cartilage was isolated from bovine humeral heads of animals with ages under 12 months (young, $n = 9$), between 12 and 24 months (adolescent, $n = 11$), and over 24 months (adult, $n = 6$) about 16 hours after sacrifice. The shoulders were obtained with joints and synovial membranes closed and intact. Once the shoulder joint was opened, blocks of bone-cartilage having dimensions of 6 to 8 mm in width by 2 cm in length and 5 to 7 mm in thickness were obtained using a cast-cutter (bone was retained to minimize distortion). Ten blocks were taken from each shoulder (5 rows $\times$ 2 columns). Exposed cartilage was kept moist during the entire procedure using Hanks Buffered Saline Solution (HBSS, 14060-57 from Gibco) with 1% Penstrep (P-0781 from Sigma). Blocks were then rinsed and placed at 4°C in sealed tubes containing sterile PBS (P-3813 from Sigma) soaked tissue paper to humidify the inside of the tube. Cell viability was assessed using ethidium homodimer-1 (E-1169) and calcein AM (C-1430 both from Cedarlane, Mississauga, Ontario) demonstrating acceptable viability (>70% live cells, while 100% live cells in the middle of the sample) under these storage conditions for up to two weeks.

Before each tensile test, samples were cut parallel to the surface using a Vibratome 1000 (Scott Scientific, Montreal) with custom holders and a weight (Fig. 7.1 A) enabling cartilage slices to be cut parallel to the articular surface without the need for prior freezing. The bone-cartilage block was initially immobilized in a bench vice, and then two blades with a 2 mm separation were used to cut perpendicularly into the cartilage. The cartilage was then removed from the bone using another razor blade providing a two-millimeter wide, full-thickness articular cartilage sample with no underlying bone. The cartilage-only sample was then quickly placed onto the holder in the vibratome with the articular surface facing down and a weight placed on top to force

the articular surface into contact with the lower surface. This lower surface of the chamber was made of styrofoam that had just been cut with the vibratome blade so that it was parallel to this blade. The vibratome blade was then raised to the desired thickness of 250 microns and a thin cartilage slice retaining the articular surface and of uniform thickness was cut and removed. The slices were immediately placed in PBS/Penstrep to prevent drying of the sample during thickness measurements. Thickness was then measured at 4 sites using a micrometer attached to a multimeter that detects resistance resulting in an average of $267 \pm 53 \mu\text{m}$ (mean $\pm$ sd, $n=19$) for the mechanical test samples and an average of $273 \pm 68 \mu\text{m}$ (mean $\pm$ sd, $n=7$) for samples stretched and viewed under light microscopy. The average variation of thickness within a sample was $31 \pm 13 \mu\text{m}$ (mean $\pm$ sd, $n=19$) for the mechanical test and $31 \pm 12 \mu\text{m}$ (mean $\pm$ sd, $n=7$) for the samples stretched and viewed under light microscopy.

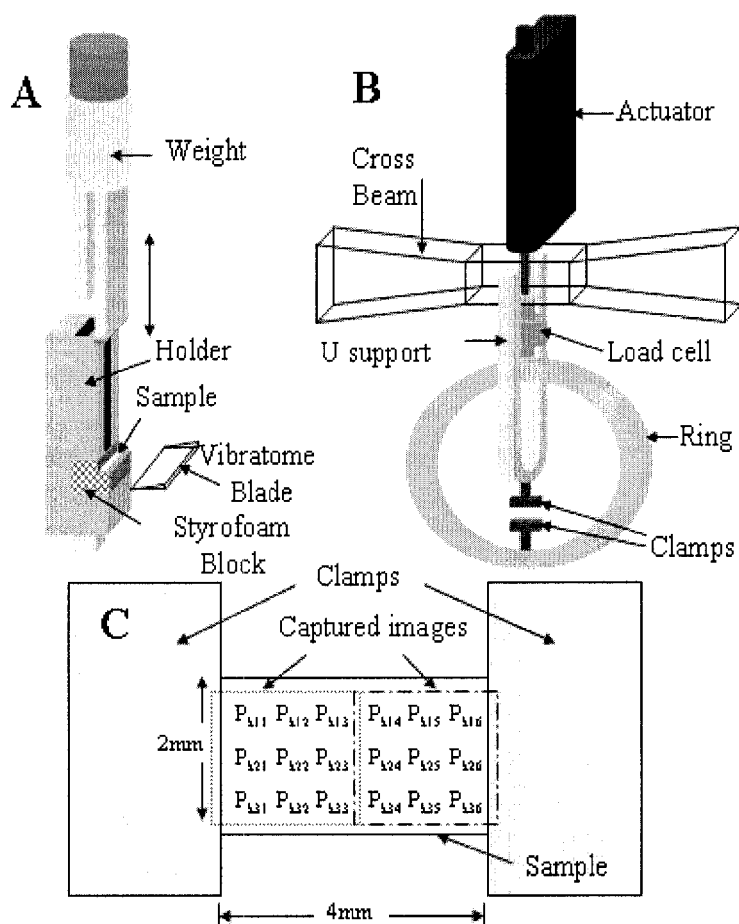


Figure 7.1. A: Schematic of the apparatus used to cut parallel to the articular surface. The cartilage was placed articular surface down onto the styrofoam stage of the holder, which was fixed to the Vibratome. The weight ensured flat contact and cuts parallel to the articular surface. B: Schematic drawing of the mechanical tester. The upper clamp is fixed to the U support, which is fixed to the crossbeam, and the lower clamp is fixed to the pieces that move with the actuator (ring, load cell, piston of the actuator). The actuator is fixed to the crossbeam. C: Schematic representation of the cartilage strip installed in the clamps, showing the captured images and locations of cell fiducial markers (P_{kij}) used to evaluate deformation.

7.1.2 Tension tests

Tension tests were performed on young (n=7), adolescent (n=6), and adult (n=6) articular cartilage using a Mach-1 A-class mechanical tester (from BioSyntech, www.biosensing.com) with customized grips made for tensile testing (Fig. 7.1 B & 7.3 A). The actuator of this instrument has an accuracy of 0.1 μm and the 150 g capacity load cell has a display resolution of 0.0075 g and a nonlinearity of $\pm 0.2\%$. Before testing, a calibration of the load cell with a ~ 100 g weight was performed. Tests regarding load cell drift showed a deviation maximum of ~ 0.1 g/h in the absence of a sample. In this set-up, the load cell is fixed to the moving part of the actuator, and a metal ring, on which the lower clamp is attached, is fixed to the load cell. The actuator and the U support, on which the other (upper) clamp is attached, are both fixed to the crossbeam. Waterproof sandpaper was fixed onto the inside of each clamp using cyanoacrylate glue to prevent slipping of the sample. Initially, sandpaper with grain size 150 was used, but histology showed that this grain size was too large since cutting and damage to the sample within the clamps was observed (Fig. 7.2), and which also induced irregular sample shape near the edge of the grips. Following these observations, we decided to use the smallest grain size available, type 1500. A gauge length of 4 mm was exposed between the grips while about 2-3 mm of the sample was present inside the grips at each end (for ≈ 10 mm total sample length). The sample and grips were then immersed in a bath containing approximately 400 ml of PBS with 1% Pen/Strep, which was also covered with plastic film, to reduce evaporation (Fig. 7.3 A). Because of the long duration of the test (48 hours), pH and volume were measured before and after, to ensure their stability. The average change in volume was $-2.0 \pm 0.8\%$ (mean $\pm$ sd, n=10), and the value of initial pH and final pH were 7.35 ± 0.04 and 7.36 ± 0.05 (mean $\pm$ sd, n=10), respectively. A sequence of 5 ramp extensions was then applied, each of 2% strain (80 μm at 6 $\mu\text{m}/\text{second}$) after an initial offset of 2% was imposed. The relaxation time for each step was chosen to increase for subsequent steps such that the load decay at the end of each step was similar and therefore the degree of attainment of equilibrium

would be similar for different steps. This criterion was met with a relaxation time of $5\frac{1}{2}$ hours for the initial offset, $6\frac{1}{2}$ hours for the first step, $7\frac{1}{2}$ hours for the second, $8\frac{1}{2}$ hours for the third, $9\frac{1}{2}$ hours for the fourth, and $10\frac{1}{2}$ hours for the fifth and last step resulting in a total time of each test of 48 hours. Some 96-hour tests were also made using two 48-hour protocols of constant relaxation time of 8 hours, the second one after the sample was returned to its original length. These tests showed similar responses comparing the first and second series of ramps, suggesting that sample properties were not greatly altered by the stretching or the long duration of the test.

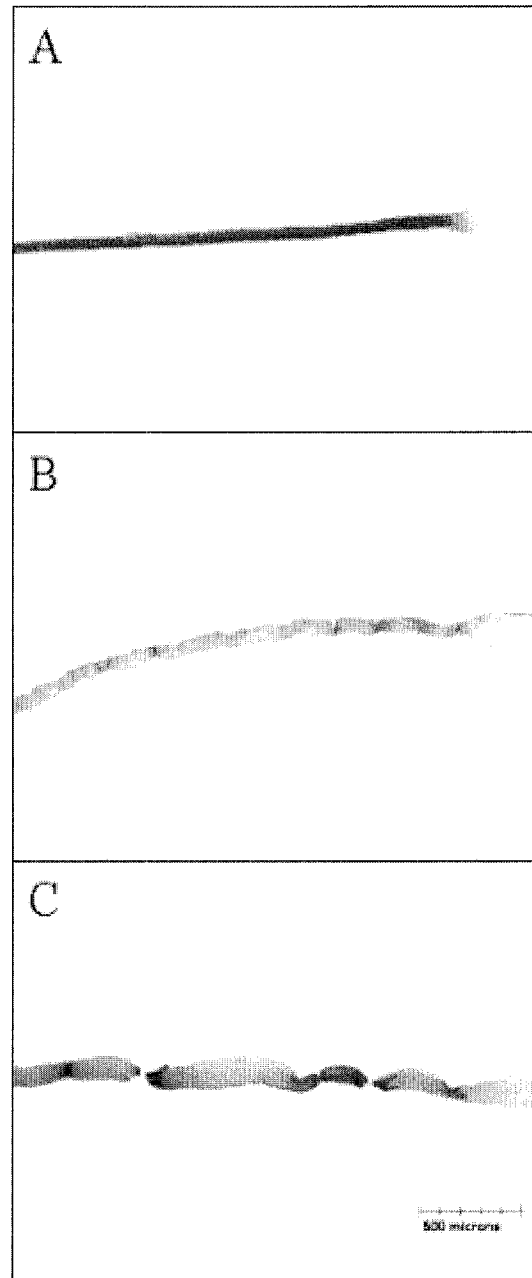


Figure 7.2. Photomicrographs of histological sections made on samples that were chemically fixed between the clamps. The left parts of the samples are the region between the clamps. A) sample installed in sandpaper with 1500 grain size. B) sample installed in sandpaper with 400 grain size. C) sample installed in sandpaper with 150 grain size.

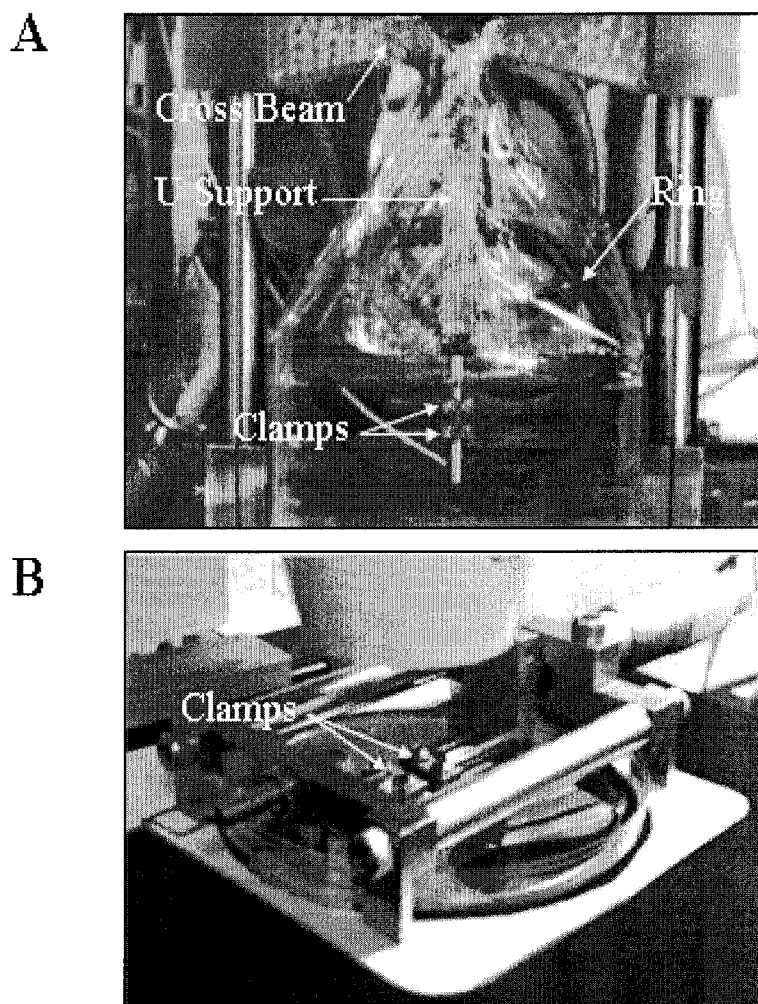


Figure 7.3. Picture of the tensile mechanical tester with the sample installed and ready to start a test. A plastic film encloses the bath in order to prevent evaporation because of the long duration of the testing protocol. The bath is made of glass and aquarium silicone sealant. B: Picture of the unit for stretching under light microscopy.

Equilibrium and peak force data were treated with the nominal dimensions ignoring the effect of the thickness/width variation. Equilibrium moduli were calculated using the incremental infinitesimal deformation for each step as a reasonable approximation, given that maximum strain was 10% with individual steps of 2%, according to

$$E = \frac{\Delta F / A}{\varepsilon_{zz}} \text{ and } \varepsilon_{zz} = \frac{\Delta L}{L} \quad \text{Eq 1}$$

where E (MPa) is the equilibrium modulus, ΔF (N) is the detected increment in axial force at equilibrium relative to the beginning of the ramp, A is the initial cross-sectional area (mm^2), ΔL (μm) is the incremental extension of the sample relative to the beginning of the ramp and L (μm) is the length of the sample at the beginning of the ramp. The initial cross-sectional area was calculated using the 2 mm width and the average measured thickness of the slice. As a simple means of representing transient and dynamic behavior, we calculated a peak stiffness using exactly the same procedure as the equilibrium modulus except ΔF (N) was the detected increment in axial force at the peak, just when the ramp was completed. A characteristic relaxation time for each ramp was also calculated as the time necessary to reach half of the load decay during relaxation. To assess the extent of attainment of equilibrium, the stress decay (g/hour) at the end of each relaxation curve was calculated with the load decay of the last two hours. The non-linearity (MPa/%) of equilibrium modulus and peak stiffness was evaluated by fitting a straight line to the values of equilibrium modulus and peak stiffness as a function of % strain. The ratio equilibrium-modulus/peak-stiffness (%) was calculated for each curve to provide an index of the magnitude of relaxation.

7.1.3 Stretching as viewed under light microscopy

Stretching as viewed under light microscopy was performed on young (n=2) and adolescent (n=5) articular cartilage using the same clamps and sandpaper as those used for the mechanical testing. Additional adaptor pieces were designed to perform the stretching manually on the stage of a Zeiss inverted fluorescence microscope using a Mitotoyo non-rotating micrometer head (Fig. 7.3 B). After the sample was cut, it was placed in 4 ml PBS with 4 μ l Hoescht 33258 for at least 3 hours to label cells. The sample was then installed in the clamps and stretched using a protocol similar to the above mechanical test, the only differences being that the relaxation time was 30 minutes and the ramp velocity was not controlled since it was manually stretched. Although the relaxation time may influence the measured deformation, we did not detect any clear difference (within $\pm 0.25\%$ strain) in preliminary experiments comparing deformation at 30 minutes vs deformation at 8 hours (in contrast to the force measurements described above) so that a 30 minute relaxation was chosen. In order to visualize the entire sample, two images were captured using a 4X objective 30 minutes after stretching by 2% (Fig. 7.1 C). Care was taken to make sure that each image was taken at the same location and focus, to enable valid comparison between images at different deformation, and to maintain the same orientation of the sample image (the larger side of the picture was parallel to the axis of stretching). On each of the two images taken before the first stretch, 9 cells were chosen, each of them at different periodic positions in the image (Fig. 7.1 C). The same cells (18 overall) were then identified and marked with an imaging software (Paint Shop Pro 7) for images taken after each of the subsequent 5 stretches. Images were then analyzed using Northern Eclipse software (Empix Imaging, Mississauga Ontario) to identify the position of the cells. Data was exported to Microsoft Excel, where the distances between chosen cells were computed, in pixels, and separately for two directions (longitudinal and transverse). With reference to Fig. 7.1 C, each chosen cell is indicated by P_{kij} where i and j designate the row and the column of the cell position and k designates the

deformation step (1 to 5). The longitudinal lengths, designated L_{kim}^L , were then evaluated as distances between chosen cells in the longitudinal direction (component of the distance parallel to the long axis of the sample) where i still indicates the transverse row while m indicates the longitudinal position - $m=1$ between $j=1$ and $j=2$; $m=2$ between $j=2$ and $j=3$; $m=3$ between $j=4$ and $j=5$; $m=4$ between $j=5$ and $j=6$. The transverse lengths were similarly designated by L_{kjm}^T , where j indicates the longitudinal column while the label n indicates the transverse position: $n=1$ between $i=1$ and $i=2$; $n=2$ between $i=2$ and $i=3$. Finally, the deformation was computed between each image, the longitudinal deformation according to

$$D_{km}^L = \frac{\sum_{i=1}^3 \left(\frac{(L_{kim}^L - L_{k-1im}^L)}{L_{k-1im}^L} \times 100 \right)}{3} \quad \text{Eq 2}$$

and the transverse deformation as

$$D_{kj}^T = \frac{\sum_{n=1}^2 \left(\frac{(L_{kjm}^T - L_{k-1jn}^T)}{L_{k-1jn}^T} \times 100 \right)}{2} \quad \text{Eq 3}$$

Statistical analysis was performed with InStat version 3.05 for Windows 95 (GraphPad Software, San Diego), using one-way ANOVA (to compare three or more groups) and paired one-way ANOVA when possible. Statistical results from mechanical tests were obtained from comparison between the three age groups, unless otherwise mentioned.

7.2 Results

7.2.1 Age- and maturation-dependent behavior

The sequence of stress relaxation tests revealed significant viscoelastic behavior (Fig. 7.4) with a peak force being attained at the end of the ramp followed by rapid dissipation of some of the peak load, followed by a very slow relaxation that never quite reached equilibrium. Nonetheless, our relaxation times were chosen such that the rate of stress decay at the end of the relaxation period was similar for each ramp. There was an evident stiffening of peak and equilibrium stiffness with age, the latter being so weak for the young tissue that all of the developed force appeared to be dissipated by the end of the relaxation phase producing a near null equilibrium modulus.

Peak stiffness showed a significant increase with age (Fig. 7.5 A) and was statistically significant ($p=0.017$ by ANOVA) for the fifth and last step only, where stiffness values were (mean $\pm$ sd), 10.0 ± 3.3 MPa for young ($n=7$), 18.6 ± 5.9 MPa for adolescent ($n=6$), and 28.3 ± 16.6 MPa for adult ($n=6$). A linear fit of peak stiffness versus strain for each test was made to quantify the nonlinearity of the peak stiffness resulting in 0.8 ± 0.4 MPa/% for young, 1.8 ± 0.4 MPa/% for adolescent, and 3.1 ± 1.7 MPa/% for adult ($p=0.0033$ using ANOVA). The increase of peak stiffness with strain was present in each age group ($p<0.0001$ for each group using paired ANOVA) indicating that, for the peak modulus, the non-linearity increased with age.

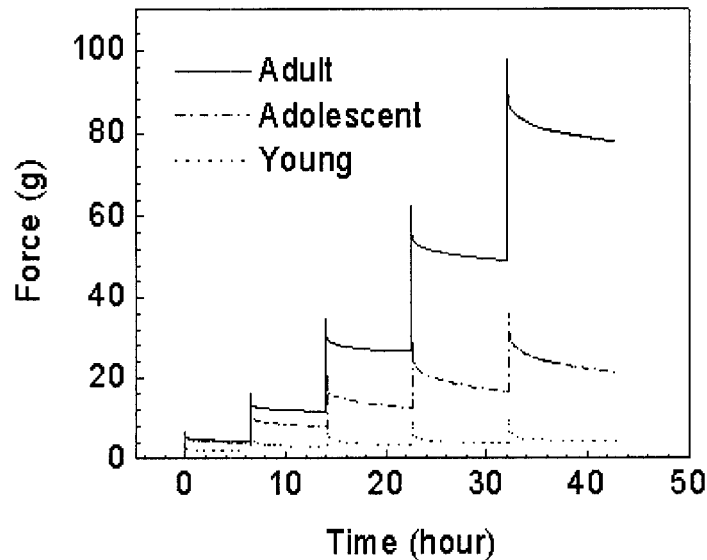


Figure 7.4. Typical data of tensile tests of strips of cartilage that include the articular surface. The adult cartilage is stiffer than the adolescent, which in turn is stiffer than young cartilage. The ratio of equilibrium modulus to peak stiffness was also greatly age-dependent, with values near zero for the young cartilage, about ~20% for adolescent and ~60% for the adult cartilage.

The equilibrium modulus also showed a striking dependence on age (Fig. 7.5 B). Young cartilage had an equilibrium modulus near zero while adult cartilage revealed an average modulus for the fifth deformation of ~15 MPa. Once again, the differences with age increased with increasing strain, where only the first deformation appeared statistically insignificant when using ANOVA. There was no significant increase of the equilibrium modulus with strain for the young cartilage, while the adolescent and adult cartilage showed a significant increase ($p=0.0009$ and $p<0.0001$ for adolescent and adult respectively with paired ANOVA) with slopes of the linear fit resulting in (mean $\pm$ sd) – 0.10 ± 0.19 MPa/% for young ($n=7$), 0.28 ± 0.19 MPa/% for adolescent ($n=6$), and 1.76 ± 1.03 MPa/% for adult ($n=6$) ($p=0.0001$ with ANOVA).

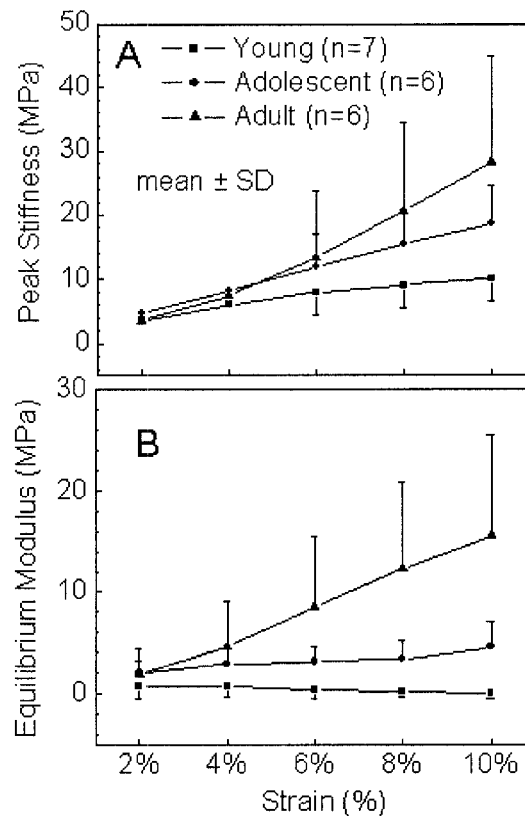


Figure 7.5. A: The average peak stiffness for young, adolescent and adult cartilage. The average peak stiffness and its non-linearity increase with age. For the last deformation (8% to 10%) peak stiffness values were 10.0 ± 3.3 MPa (young), 18.7 ± 5.9 MPa (adolescent), and 28.3 ± 16.6 MPa (adult) ($p=0.0169$ with ANOVA). Non-linear dependence of peak stiffness with strain was evident with best fits providing 0.8 ± 0.4 MPa/% (young), 1.8 ± 0.4 MPa/% (adolescent), and 3.1 ± 1.7 MPa/% (adult) ($p=0.0033$ with ANOVA). B: The average equilibrium modulus for the young, adolescent and adult cartilage. The equilibrium modulus and its non-linearity increase with age with average values, for the last deformation (8% to 10%), of 0.0 ± 0.5 MPa (young), 4.5 ± 2.6 MPa (adolescent), and 15.6 ± 9.9 MPa (adult) ($p=0.0006$ with ANOVA). Nonlinear increases of equilibrium modulus with strain was found for adolescent and adult cartilage, with values of 0.28 ± 0.19 MPa/% (adolescent), and 1.76 ± 1.03 MPa/% (adult) ($p=0.0001$ with ANOVA when comparing the three groups).

A linear regression of each of the equilibrium moduli with its corresponding peak stiffness was done for all deformations showing that the percentage of relaxation (1 - ratio of equilibrium modulus to peak modulus) decreases with age (Fig. 7.6). To quantify the ratio of the equilibrium modulus to peak stiffness, a linear fit (passing through zero) for each group was calculated. For young, adolescent and adult cartilage, the slopes were 3.8%, 25.7%, and 58.8%, respectively.

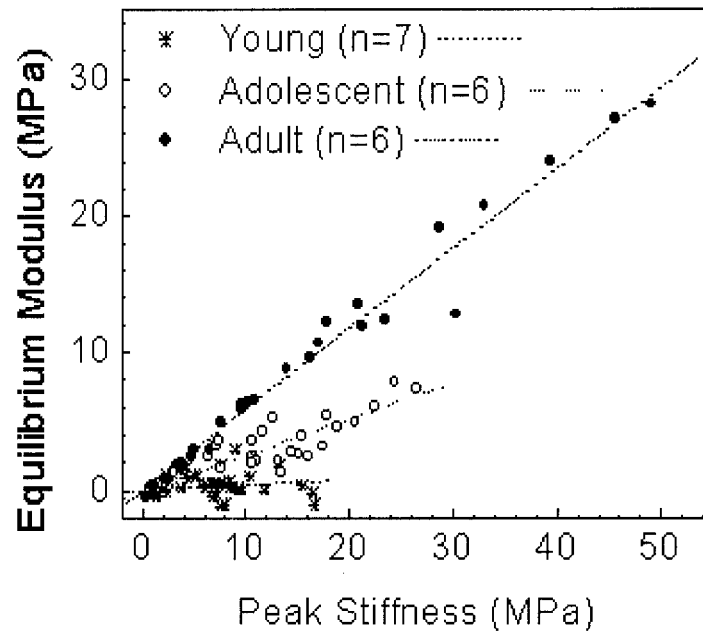


Figure 7.6. Peak stiffness for all samples and all strains versus the corresponding equilibrium modulus. The average slope of the linear fit represents the ratio of equilibrium modulus to peak stiffness and increases with age.

The half-relaxation time was computed from each stress relaxation curve for the last three steps. There was no statistical dependence of the half-relaxation time with the age with (mean $\pm$ sd) of 308 ± 162 sec ($n=21$), 562 ± 179 sec ($n=18$), and 468 ± 644 ($n=18$) seconds for young ($n=7$), adolescent ($n=6$) and adult ($n=6$), respectively. The load

decays at the end of the relaxation period did not vary significantly with step number or age, showing (mean $\pm$ sd) 0.13 ± 0.09 (g/hour), 0.16 ± 0.08 (g/hour), and 0.14 ± 0.12 (g/hour) for young (n=7), adolescent (n=6) and adult (n=6) cartilage, respectively. For a sample having 250 microns thickness, the error induced by a slope of ± 0.1 g/h during a relaxation time of 2 hours, for example, is ± 0.2 MPa and is less than the standard deviation of each age group.

7.2.2 Stretching as viewed under light microscopy for tissue strain distribution

The longitudinal deformation induced by each step for adolescent cartilage showed a constant increase with each step (Fig. 7.7). Longitudinal deformation of $1.50 \pm 0.18\%$ (mean $\pm$ sd, n=34) was computed between successive jaw-to-jaw 2% strains and the overall computed deformation (10% jaw-to-jaw) was of $7.7 \pm 1.0\%$ (mean $\pm$ sd, n=6). There was also no apparent spatial dependence of deformation. We were unable to measure the deformation immediately adjacent to the clamps. Our cell fiducial markers were generally located in the central portion of the cartilage thickness, as assessed by visual inspection while changing the focal plane.

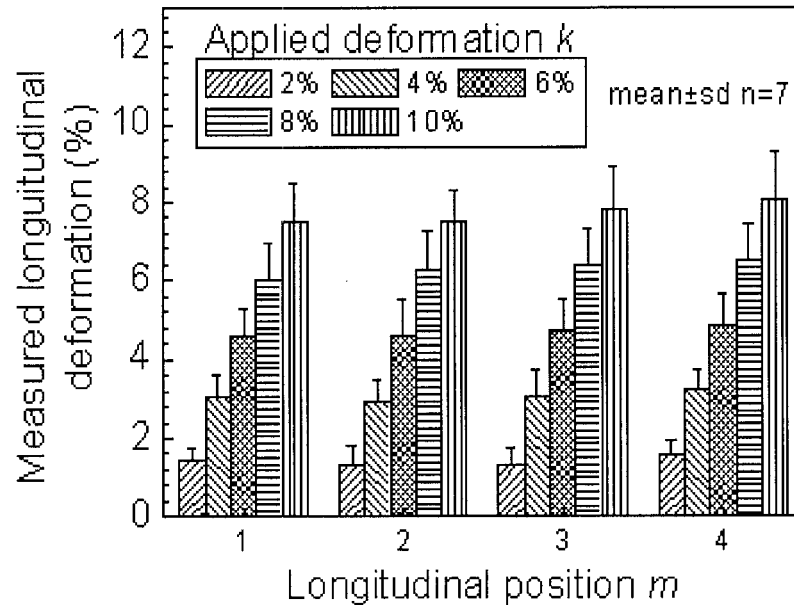


Figure 7.7. The computed longitudinal deformation as a function of the approximate position along the length of the sample where $m=1$ and 4 are near the clamps and $m=2$ and 3 are in the middle of the sample (in between the 6 longitudinal fiducial markers in Figure 1C). Longitudinal deformation is constant throughout the length of the cartilage. The overall computed deformation was $7.7 \pm 1.0\%$ even though a 10% deformation was applied grip to grip, possibly due to deformation occurring between the upper and lower clamp surfaces.

The transverse deformation induced by each step showed an increase after the first and second step, mainly in the center of the sample (position $j=3$ and 4) where the incremental deformation was $-1.96 \pm 0.95\%$ and -1.87 ± 0.94 ($n=7$) for $k=1$ and $-3.82 \pm 0.84\%$ and $-4.00 \pm 1.09\%$ ($n=7$) for $k=5$ (Fig. 7.8 and Table 7.1). The deformation pattern found showed a smaller deformation near the clamps, approximately -1% per step, and a maximum deformation of about -5% per step in the center of the sample, for each step. The total lateral computed deformation (at 10% jaw-to jaw longitudinally) revealed a large variation along the length of the sample. Near the clamps, the lateral

deformation at 10% extension was -4.7 ± 3.0 % and -4.6 ± 1.6 %, respectively, for both sides of the sample, while the largest deformation was in the center of the sample, with an average of -16.5 ± 4.2 % (mean $\pm$ sd, $n=6$). Taking the measured average longitudinal deformation as 7.7%, an empirical Poisson's ratio at the center can be estimated as $\nu = 2.1$.

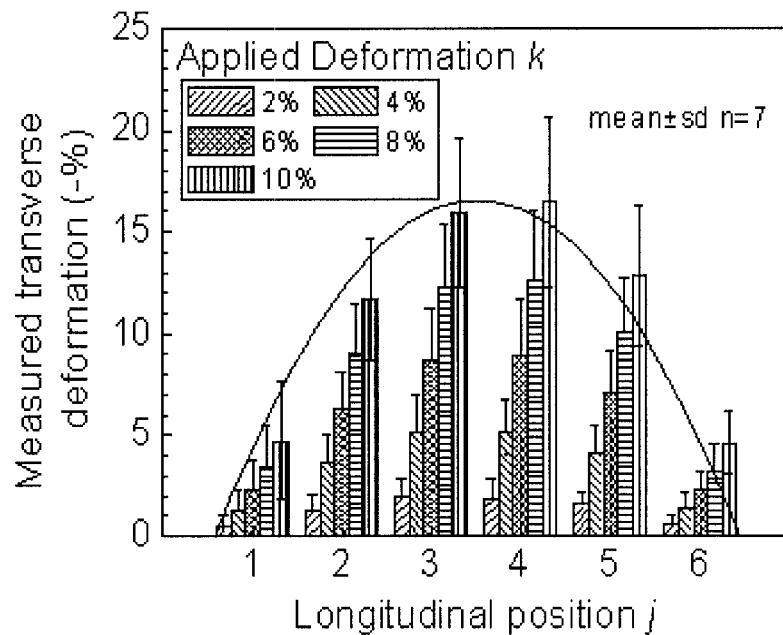


Figure 7.8. The computed transverse deformation as a function of the approximate position along the length of the sample where $j = 1$ and $j = 6$ are near the grips and $j = 2$ to 5 are more central (corresponding to the 6 longitudinal positions in Figure 1C). Transverse deformation is higher in the center of the sample. There is also an increase in incremental transverse deformation at all positions along the sample after the first step (Table 1). The overall deformation in the center is $16.5 \pm 4.2\%$, while near the clamps the overall deformation is -4.7 ± 3.0 % and -4.6 ± 1.6 %, respectively, on both side of the sample.

Tableau 7.1. Incremental transverse deformation (%).

	$j=1$	$j=2$	$j=3$	$j=4$	$j=5$	$j=6$
$k=1$	-0.44 ± 0.52	-1.30 ± 0.81	-1.96 ± 0.95	-1.87 ± 0.94	-1.55 ± 0.66	-0.56 ± 0.46
$k=2$	-0.83 ± 0.60	-2.35 ± 0.76	-3.28 ± 1.06	-3.29 ± 1.12	-2.65 ± 0.83	-0.82 ± 0.44
$k=3$	-1.00 ± 0.63	-2.74 ± 0.72	-3.76 ± 1.08	-4.10 ± 1.30	-3.09 ± 0.99	-0.88 ± 0.41
$k=4$	-1.17 ± 0.70	-2.95 ± 0.75	-3.88 ± 0.88	-4.02 ± 1.14	-3.20 ± 0.80	-1.04 ± 0.51
$k=5$	-1.25 ± 0.78	-2.87 ± 0.71	-3.82 ± 0.84	-4.00 ± 1.09	-3.01 ± 0.90	-1.21 ± 0.35

We also measured the deformation after a 24-hour relaxation period following the last step to see if there was any deformation during the long relaxation time. We found changes in measured longitudinal and transverse deformation of (mean $\pm$ sd) 0.09 ± 0.52 % and -0.89 ± 1.00 %, respectively ($n=4$ adolescent and $n=1$ young), relative to that after 30 minutes. Using a two-tailed t-test, these results did not differ significantly from zero. We also verified the deformation of the articular surface of young cartilage, and we obtain an overall measured longitudinal deformation (10% jaw-to-jaw) of 8.00 ± 1.13 % (mean $\pm$ sd, $n=2$), and a transverse measured deformation varying from -4.99 ± 1.95 % (mean $\pm$ sd, $n=2$) at the border of the clamps, to -19.89 ± 2.06 % (mean $\pm$ sd, $n=2$) in the center of the sample. The deformation of both young and adolescent cartilage were grouped together since they appeared similar.

7.2.3 Mechanical testing of cartilage at different depths from the articular surface

Tensile tests were also performed on slices from deeper regions of articular cartilage that did not include the articular surface. However, we found a non-negligible curvature was induced in the sample when it was installed in the clamps (Fig. 7.9). We found that increasing the distance between the clamps by approximately 800 μm could straighten out this curvature, but this offset value varied between samples. Thus, it was difficult to decide whether the force generated was attributable to extension or straightening out of sample curvature in these samples from deeper regions. We also noticed considerable plastic deformation due to gripping in samples from deeper regions suggesting irreversible sample alteration and further incertitude regarding initial boundary conditions (Fig. 7.9). For these reasons we did not perform extensive tests comparing the tensile properties from the different layers. However, at the last step (8% to 10%), the average for the peak modulus and the equilibrium modulus, for samples not including the articular surface was 2.6 ± 2.4 MPa (mean $\pm$ sd, n=7) and 0.5 ± 0.54 MPa (mean $\pm$ sd, n=7) for adolescent articular cartilage and were much lower than those found from cartilage containing the articular surface. Furthermore, these averages did not include some tests that generated little force above noise without a peak or apparent relaxation.

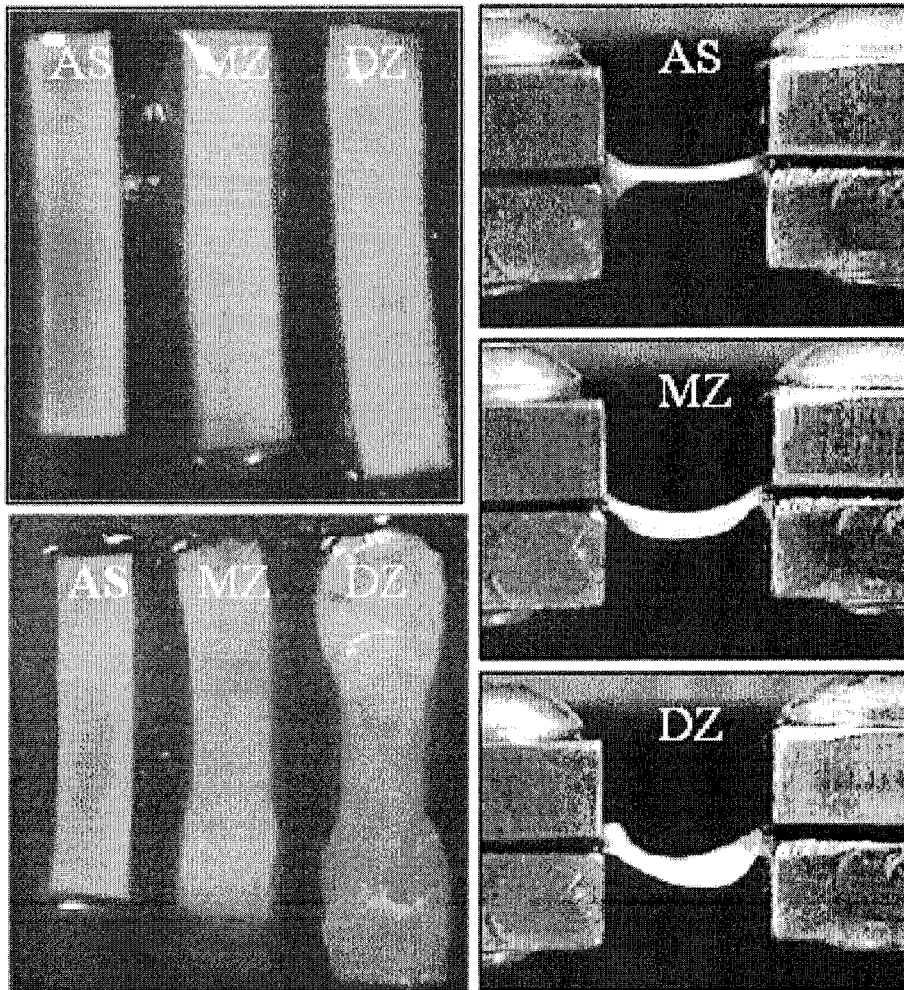


Figure 7.9. Pictures of slices from the different layers taken from the same sample. AS : articular surface of ~300 microns thickness. MZ : median zone of ~330 microns thickness. DZ : deep zone of ~320 microns thickness. The top left panel shows the samples after they had just been cut, while images on the right show the curvature of the sample once installed in the clamps. The bottom left panel shows images of the same samples once removed from the clamps, clearly indicating differences between zones.

7.3 Discussion

Tensile stress relaxation tests (5 ramps of 2% strain each) of bovine articular cartilage strips that included the articular surface revealed a strong increase in stiffness with age (young = 6 months, adolescent = 18 months, adult > 24 months) with mean values ranging from 0 to 15 MPa, for young to adult cartilage at equilibrium, and 10 to 28 MPa, for young to adult cartilage at the transient peak. As can be appreciated from these relative values of equilibrium and transient stiffness, the amount of the peak force that relaxed was greatly reduced with age, where young cartilage could relax entirely (100% of) its developed force whereas adult cartilage typically still retained at equilibrium about 60% of the maximum transient force. We also detected a significant nonlinear increase in tensile stiffness with tensile strain at all ages, and the magnitude of this nonlinearity also increased with age. For example, the slope of equilibrium modulus versus strain was 0.1 MPa/% for young and 1.8 MPa/% for adult cartilage. In order to appreciate the state of deformation of the sample and aid interpretation of mechanical tests, longitudinal and transverse deformation fields were calculated by observing labeled cells with a microscope before and after stretching. The results indicated that longitudinal deformation was uniform across the sample but was only 77% of the jaw-to-jaw deformation calculated based on imposed displacements. Transverse deformation was, however, quite non-uniform. For example, at 10% applied longitudinal strain transverse strain was -5% near the grips and -15% in the sample centre. In addition to these tests on strips that were prepared to include the articular surface, tests were performed on samples from deeper regions of the articular cartilage, however technical difficulties related to instability in sample geometry and grip-induced sample curvature precluded us from quantitatively analyzing these measurements. Nonetheless, it was evident that deeper regions were much less stiff than the articular surface for all ages confirming numerous previous studies.

Comparison of our results with those of previous studies requires examination of technical differences in terms of sample preparation (e.g. shape, fresh vs frozen) and loading protocols (e.g. gripping technique, presence of tare load, speed of stretch, determination of equilibrium, measurement of strain). Sample shape is usually in the form of a dumbbell in tests when the sample is loaded to failure (Kempson and al, 1991; Roth and Mow, 1980) in order to ensure failure in the mid region where stress and strain are supposedly uniform, away from the grips. Rectangular shapes are smaller, and more easily obtained and are used in small deformation tests (up to 15% in Akizuki and al (1986)), usually assuming that jaw-to-jaw strain is equivalent to sample strain in the mid-region. We have found in our study that this latter assumption may be subject to an error of about 25% in overestimating the sample stretch. Nonetheless, longitudinal strain was found to be uniform throughout most of the sample. Gripping technique may be more critical than previously appreciated in light of our micrographs of samples gripped with different grain sizes of sand paper (Fig. 7.9). Larger grain size can clearly cut the cartilage within the grips in an unpredictable manner, possibly weakening the observed response. Freezing of cartilage could also weaken mechanical properties as has been observed recently in compression tests (Langelier and Buschmann, in revision). Yet another technical factor to account for in comparisons is speed of stretch and time to equilibrium. Our studies found that estimation of equilibrium properties required long relaxation times of 5-10 hours, in stark contrast to that of compression tests where 5-15 minutes usually suffices. Some previous studies allowed only 15 minutes to equilibrium for uniaxial tension (Akizuki and al, 1986) while others (Grodzinsky and al, 1981; Schmidt and al, 1990) have recognized the need for a much longer time to establish equilibrium. Finally, the influence of imposing a tare load is difficult to assess. For example, some samples could be highly curved due to swelling before gripping or plastic deformation induced by the grips (Fig. 7.9) such that a small tare load could stretch such weak samples until they stiffen enough to produce a detectable load. In a similar way, weakening by freezing or by sandpaper grains cutting the sample in the grip could be uncontrollably compensated by imposing a tare load.

These technicalities are important when interpreting and comparing age-related findings and nonlinear properties.

We have found that tensile stiffness of articular cartilage increases with maturation and age in contrast to previous studies observing a decrease with age (Kempson and al, 1991) or no age-dependence (Akizuki and al, 1986). On the other hand our data is consistent with tensile tests of other non-mineralized collagenous connective tissues such tendon (Bailey and al, 1998). Possible reasons for the decrease in tensile stiffness with age found by others in human femoral head cartilage are the freezing, gripping technique, tare load, high strain rate and the confounding factor of fibrillation or spontaneous degeneration (Kempson and al, 1991). Similarly, the observation of no age dependence in bovine articular cartilage could be due to freezing, gripping technique (400 grain size sand paper), tare load and an insufficient time to equilibrium of 15 minutes (Akizuki and al, 1986). In contrast to these studies on cartilage, measurements of tendon, lens capsules and vascular tissues demonstrate stiffening with age in terms of tensile stiffness and fracture stress, although strain at fracture is reduced (Bailey and al, 1998). This age-dependent stiffening has been related to changes in composition, especially in the quantity and type of cross links found between fibrillar collagens. The concentration of enzymatically produced trivalent cross links (hydroxylysyl-pyridinoline) increases until maturity and is stable thereafter (Eyre and al, 1988) while concentrations of non-enzymatic glucose-derived cross-links (i.e. pentosidine) increase continually from maturity until death (Verzijl and al, 2000). Additionally, increased concentrations of glucose-derived cross links were found to correlate with stiffening of cartilage as indicated by microscopic observation of reduced lateral expansion under compression (Bank and al, 1998). Thus, according to our studies, it appears that articular cartilage stiffens in tension with maturation and age, as do most other non-mineralized connective tissues, and that technical difficulties in measuring these properties in the absence of disease sometimes preclude accurate assessments.

We found that tensile stiffness of cartilage at equilibrium and during the transient, increases with tensile strain in contrast to one previous study of cartilage (Akizuki and al, 1986) but in agreement with measurements made on self-assembled collagen fibres (Pins and al, 1997). As with age-related discrepancies, contradictory results obtained in the previous study may be due to freezing, gripping technique, tare load and insufficient time to equilibrium of 15 minutes (Akizuki and al, 1986). Our estimation of the nonlinear increase in equilibrium tensile stiffness of adult articular cartilage, 1.76 ± 1.03 MPa/%, is within the range of that of self-assembled collagen fibers, 0.5–5.0 MPa/% (Pins and al, 1997), but much smaller than values needed to predict non-linear properties of cartilage in compression, 10–30 MPa/% (Li and al, 2002a). Although we have no firm explanation for this discrepancy, we speculate that our measured non-linearity in uniaxial tension is lower than that required to explain nonlinear compressive properties since axial compression places the transverse plane in biaxial tension. The latter would be expected to generate a much higher force in both transverse directions than uniaxially. The only biaxial tension tests of cartilage (Kamalanathan and al, 1993) do appear to support this hypothesis since the biaxial tensile modulus could be several times higher than the uniaxial tensile modulus. Taken together, our study indicates for the first time that tensile stiffness of articular cartilage increases with maturation and age and that any measured decrease could signal degeneration. Uniaxial tension tests of cartilage also revealed that stretching increases cartilage tensile stiffness at small strains (2-10%), qualitatively in agreement with measurements of compressive nonlinearities in cartilage. These results are essential when interpreting functional measurements for clinical use or when designing therapies to heal articular cartilage that is damaged due to trauma and arthritis.

7.4 Acknowledgements

This research was supported by the Natural Sciences and Engineering Research Council of Canada, the Canadian Arthritis Network, and Arthritis Society of Canada. The authors would like to thank Caroline Tanguay for preparing histological sections.

CHAPITRE 8 Résultats complémentaires et discussion générale : Comparaison des résultats expérimentaux avec les modélisations

Les deux modèles mathématiques, analytiques et par éléments finis, ont été présentés au chapitre 3. Ce chapitre avait pour but d'établir l'utilité des tests en tension, d'expliquer quel est l'effet non-linéaire et d'expliquer le choix du protocole de test. Le chapitre 3 contient un résumé des résultats du modèle analytique appliqué à la géométrie des tests en tension. Maintenant, le présent chapitre compare les résultats théoriques obtenus des modélisations avec les résultats expérimentaux.

En premier lieu, les résultats obtenus expérimentalement vont être comparés aux résultats du modèle analytique appliqué à la géométrie des tests en tension. Ensuite, les valeurs théoriques, module des fibres de collagène et l'effet non-linéaire, des deux modèles seront comparées aux résultats obtenus.

Le modèle analytique a été appliqué à cette géométrie afin d'augmenter la précision des informations obtenues des tests en tension. La première section de ce chapitre présente les résultats obtenus du modèle mathématique en tension. Ensuite, les valeurs des modules d'Young obtenues des modèles théoriques seront comparées aux résultats expérimentaux.

8.1 Résultats du modèle analytique appliqué au test en tension

Le développement détaillé du modèle analytique appliqué à la géométrie des tests en tension est présenté à l'annexe I.

Voici brièvement, d'une manière qualitative, les prédictions du modèle mathématique sur le comportement du cartilage dans le sens de l'épaisseur (axe x : figure 8.1). la géométrie utilisée pour la modélisation est une plaque infinie, ce qui revient à considérer qu'il n'y a aucun déplacement selon l'axe y . Aussi, l'étirement, selon l'axe z , est considéré constant selon l'axe x .

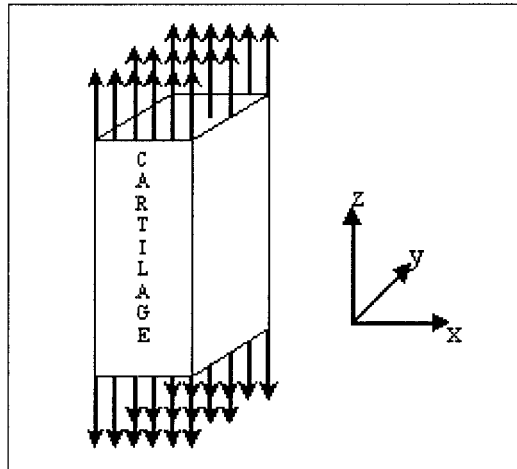


Figure 8.1. Orientation des axes selon la géométrie de l'échantillon.

Le déplacement selon l'axe x est négatif et est maximum aux extrémités de l'épaisseur de l'échantillon (figure 8.2). La déformation selon l'axe x est négative et est maximum aux extrémités de la largeur lors de l'étirement et elle devient constante à l'équilibre (figure 8.3). La pression relative est négative selon l'axe x et est maximum au centre de l'épaisseur lors de l'étirement et elle devient nulle à l'équilibre (figure 8.4), ce qui indique que la force du fluide exercée sur la matrice est positive avec l'axe x négatif. La

vitesse relative est négative selon l'axe x , est maximum aux extrémités de l'épaisseur (selon x) lors de l'étirement et elle devient nulle à l'équilibre (figure 8.5). La vitesse relative indique que le fluide entre dans le cartilage lors de l'étirement et de la relaxation. Les courbes force-temps montrent une très faible amplitude de relaxation et un temps de relaxation assez court (figure 8.6). En résumé, le modèle prévoit donc une diminution de l'épaisseur (si le coefficient de Poisson de la matrice n'est pas nul), une entrée de fluide dans l'échantillon (si le coefficient de Poisson de la matrice est inférieur à 0.5) et une petite relaxation rapide qui est causée par l'entrée du fluide.

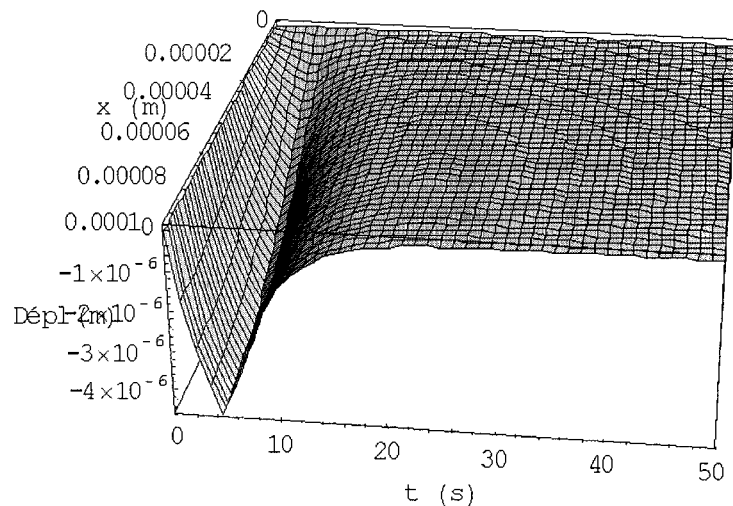


Figure 8.2. Graphique du déplacement selon l'axe x et en fonction du temps (voir annexe I).

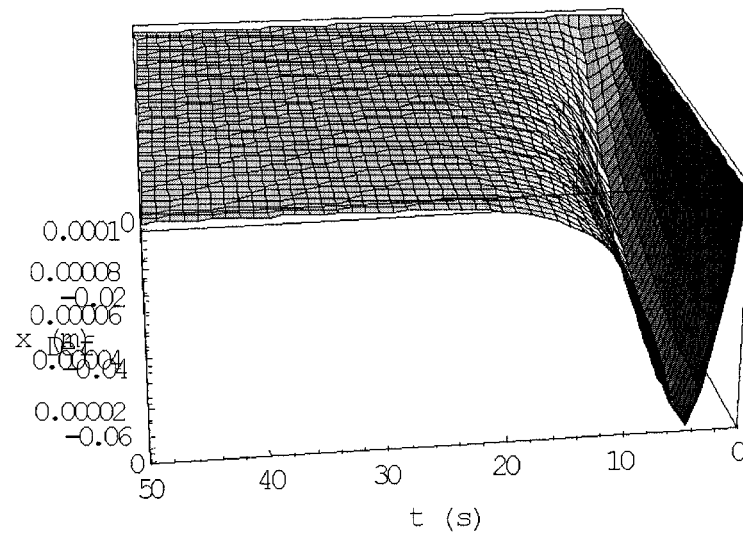


Figure 8.3. Graphique de la déformation selon l'axe x et en fonction du temps (voir annexe I).

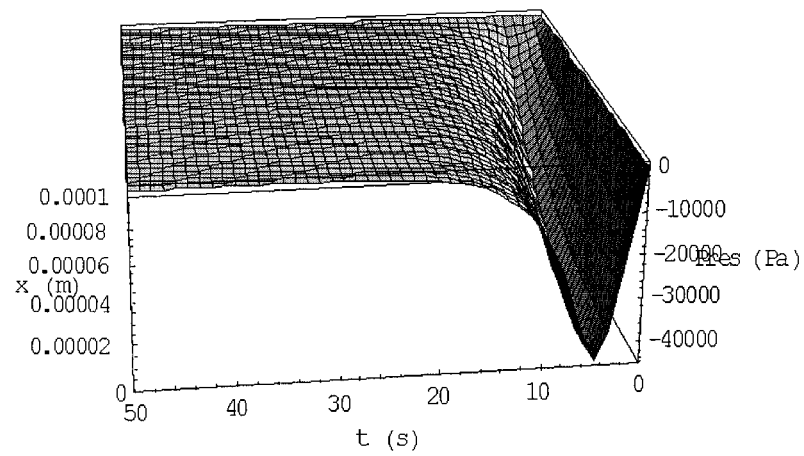


Figure 8.4. Graphique de la pression relative selon l'axe x et en fonction du temps (voir annexe I).

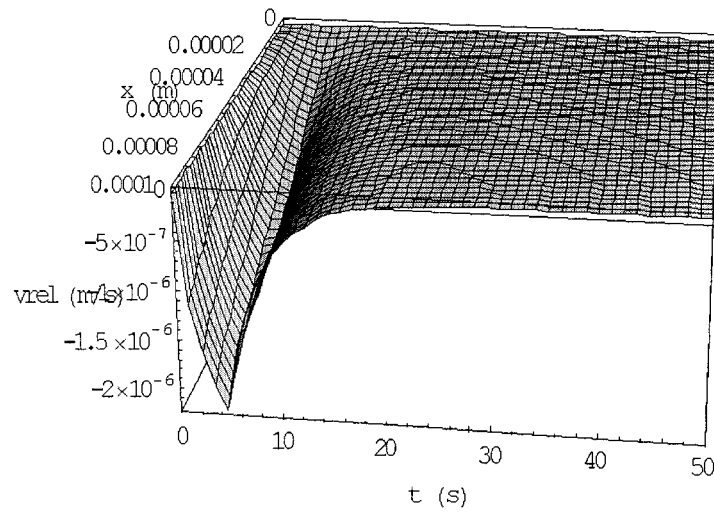


Figure 8.5. Graphique de la vitesse relative selon l'axe x et en fonction du temps (voir annexe I).

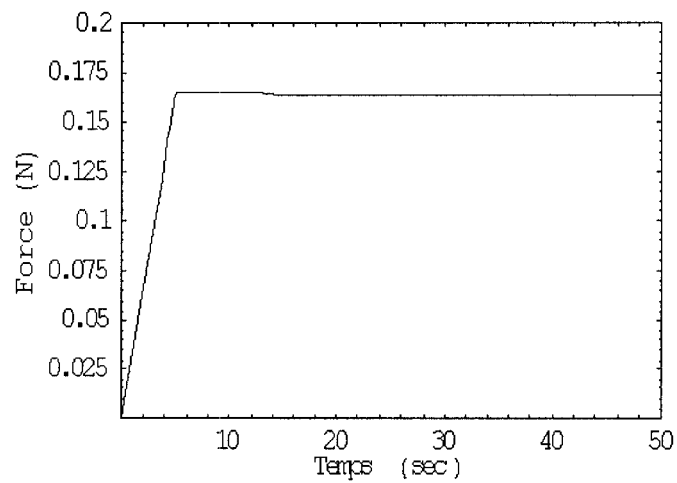


Figure 8.6. Exemples d'une courbe théorique obtenue du modèle analytique appliqué aux tests en tension. $E_f = 10$ MPa, $E_m = 0.22$ MPa, $\nu_m = 0.12$, $k = 2 \times 10^{-15}$ m⁴/N.s.

Alors que la courbe théorique a une très faible relaxation (figure 8.1), l'amplitude de la relaxation des tests expérimentaux correspond approximativement à 60% à 80% de l'amplitude du pic (figure 8.7). L'écart entre les courbes expérimentales et théoriques implique que les approximations initiales, les hypothèses initiales et la géométrie utilisée du modèle ne correspondent pas avec la géométrie réelle et le comportement réel des tests en tension.

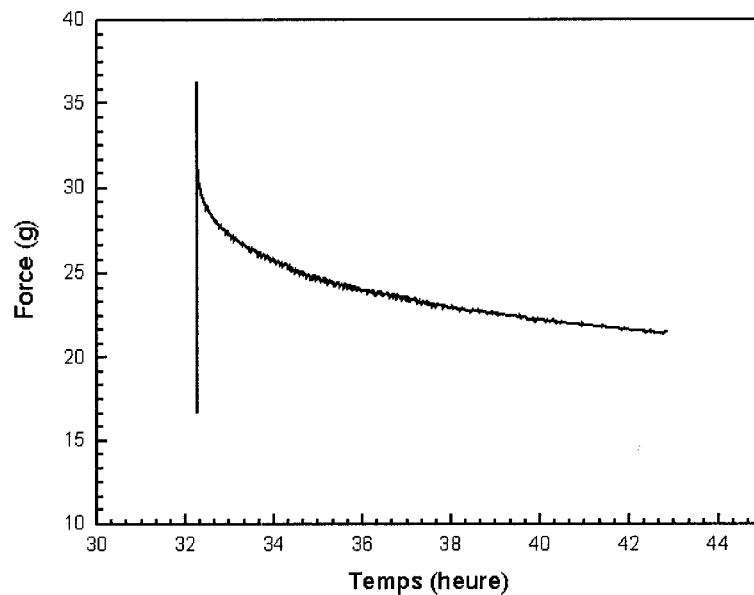


Figure 8.7. Exemple de courbe expérimentale obtenue d'une épaule adolescente.

En premier lieu, la géométrie utilisée pour la modélisation considère l'échantillon comme une plaque infinie dont la déformation est homogène. Ainsi, en considérant une sortie de fluide selon les axes x et y (figure 8.1), l'amplitude du pic augmenterait ce qui engendrerait une relaxation proportionnellement plus importante. Aussi, expérimentalement, la déformation transversale (axe y) varie énormément en fonction de l'axe z (figure 8.1) ce qui implique une déformation hétérogène. Ainsi, la variation non-uniforme de la déformation transversale implique un mouvement du cartilage selon l'axe z (figure 8.1), ce qui suggère qu'une composante de la direction de l'écoulement

du fluide est parallèle à celle de la déformation du cartilage, ce qui pourrait, encore une fois, influencer la réponse transitoire du cartilage. La géométrie complexe de l'échantillon de cartilage et de sa déformation ne peut pas être modélisée analytiquement, ce qui peut créer un écart important entre les résultats expérimentaux et la modélisation. Finalement, l'impact de la méthode utilisée pour l'étirement (extrémité de l'échantillon entre des pinces) et du glissement possible de l'échantillon entre ces pinces peuvent aussi avoir un impact non-négligeable sur les propriétés obtenues expérimentalement. Tous ces facteurs peuvent expliquer l'écart entre les résultats expérimentaux et la modélisation.

Aussi, il semble y avoir une contradiction entre le modèle mathématique et les résultats expérimentaux sur l'origine de la relaxation. En effet, selon le modèle mathématique, l'origine de la relaxation provient du fluide qui entre dans le cartilage. Selon les équations obtenues, si le coefficient de Poisson de la matrice est fixé à 0.5, il n'y a aucune relaxation alors que si le coefficient de Poisson est inférieur à 0.5 (ce qui indique une augmentation du volume créée par une entrée de fluide), il y a une relaxation.

À l'opposé, certaines observations suggèrent une diminution du volume du cartilage lors d'un test en tension. En effet, il a été observé lors d'un étirement sous-microscope que des gouttes de fluide apparaissaient à la surface du cartilage. Aussi, en approximant la déformation transversale par une courbe parabolique (figure 8.8), l'aire totale de la surface du cartilage est de $\sim 7.8 \text{ mm}^2$, ce qui laisse supposer une sortie du fluide, étant donné que l'aire initiale est de 8 mm^2 et qu'une diminution de l'épaisseur est fort probable. Des expériences mesurant directement un changement de volume devraient être effectuées pour valider ce point. Aussi, des études ont montré qu'une augmentation de la salinité de la solution, dans laquelle est submergé l'échantillon, cause une diminution de la force en tension lorsque le cartilage est préétiré (Akizuki et al., 1986; Grodzinsky et al., 1981). L'explication de ces résultats est qu'une augmentation de la concentration de sel dans l'échantillon diminue la taille de l'échantillon (Myers et al.,

1984) en augmentant l'écrantage, par les cations, entre les charges négatives des PGs, ce qui diminue la pression osmotique exercée par les PGs en causant une sortie de fluide. Ainsi, une diminution de la pression osmotique diminue la force transversale exercée sur le réseau des fibres de collagène, ce qui diminuerait la force exercée longitudinalement (figure 8.9). Il est mentionné dans l'article de Myers et al. (1984) qu'une sortie de fluide entraîne une relaxation de la force. La relaxation obtenue des tests en tension proviendrait donc d'une diminution de la force transversale exercée sur le réseaux des fibres de collagène causée par une sortie de fluide, ce qui est contraire aux prédictions du modèle mathématique analytique.

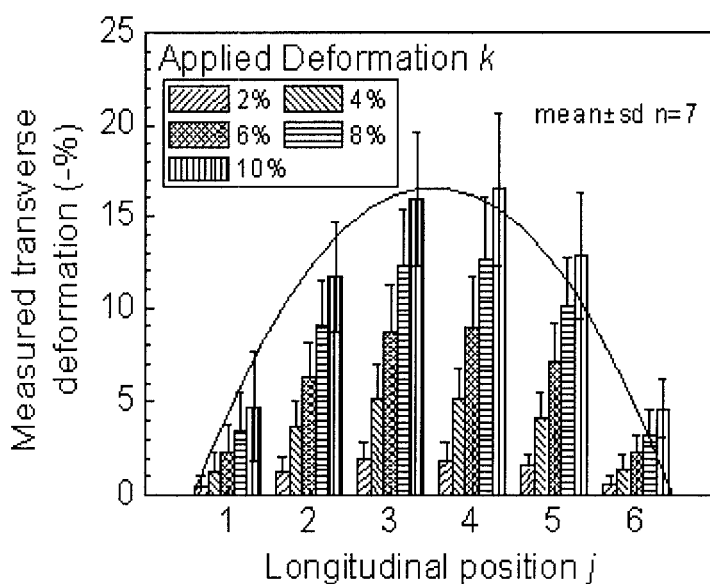


Figure 8.8. Graphique de la déformation transversale mesurée en fonction des positions approximatives de la longueur de l'échantillon, les positions $j=1$ et $j=6$ sont proches des serres, alors que les positions $j=3$ et $j=4$ sont dans le centre de l'échantillon. La courbe est une régression linéaire de second degré.

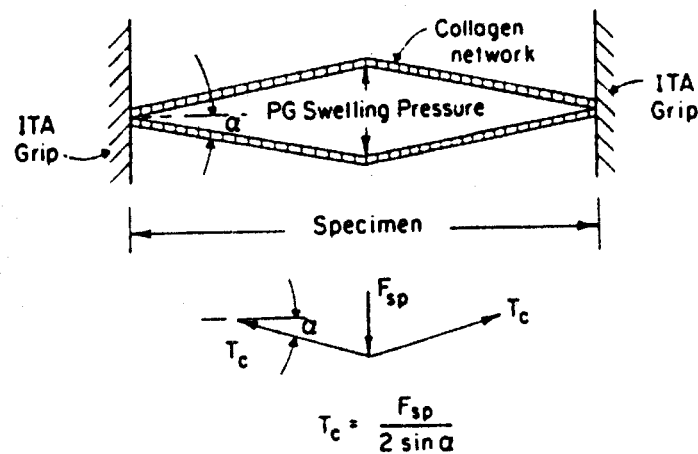


Figure 8.9. Schéma illustrant l'influence d'une variation de la pression osmotique sur la force en tension exercée par un échantillon (Akizuki et al., 1987).

Finalement, le modèle mathématique analytique appliqué à la géométrie des tests en tension ne parvient pas à expliquer le comportement du cartilage. Premièrement, la géométrie complexe du cartilage dans le montage crée un écart entre la modélisation et l'expérimentation. Aussi, l'origine de la relaxation prévue par le modèle mathématique est causée par une entrée de fluide, alors qu'une revue de littérature suggère fortement que la relaxation est causée par une sortie de fluide.

8.2 Comparaison des modules des fibres

Les résultats présentés dans cette section proviennent de régressions linéaires sur des courbes expérimentales obtenues de tests en compression non-confinée de cartilage âgé de 12 à 14 mois. Les résultats théoriques, obtenus de modèle analytique et de la méthode par éléments finis, seront donc comparés aux résultats expérimentaux des tests sur les épaules adolescentes et adultes.

Les modules au pic ne sont pas comparés étant donné que les valeurs obtenues des modèles théoriques en compression non-confinée sont des valeurs à l'équilibre. Les résultats obtenus des tests en tension présentés dans l'article soumis du chapitre 7 sont les suivants :

- Le module à l'équilibre a montré une non-linéarité (augmentation du module d'Young avec la déformation)
- Le module à 10 % d'étirement, pour les épaules adolescentes, est de 4.5 ± 2.6 MPa, et la non-linéarité est de 0.28 ± 0.19 MPa/% (ou 28 ± 19 MPa/ ϵ).
- Le module à 10 % d'étirement, pour les épaules adultes, est de 15.6 ± 9.9 MPa, et la non-linéarité est de 1.76 ± 1.03 MPa/% (ou 176 ± 103 MPa/ ϵ).

8.2.1 Modèle analytique

Dans l'article de Soulhat et al., (1999), le modèle considère que le comportement des fibres est linéaire (module d'Young constant avec les étirements). Les courbes expérimentales de cet article proviennent d'une séquence de 20 compressions de $5\mu\text{m}$, pour un total de $100\mu\text{m}$ (10%). À cette position, l'amplitude du module des fibres obtenue du modèle analytique est de 11.0 MPa et a été obtenue en considérant un coefficient de Poisson nul. Cette valeur est similaire à la moyenne des modules d'Young à 10% d'étirement pour les épaules adultes.

Dans l'article de Fortin et al. (1999), les résultats expérimentaux ont été analysés avec le modèle mathématique de l'article de Soulhat et al., (1999). Par contre, le module d'Young des fibres est calculé pour plusieurs déformations, montrant ainsi une non-linéarité sans qu'elle ne soit quantifiée. L'amplitude des modules obtenus varie de ~ 6 MPa à ~ 13 MPa, augmentant linéairement avec la déformation (de 1% à 9%). Les valeurs prédites et leur croissance avec la déformation sont similaires avec les résultats des tests en tension pour les épaules adolescentes et adultes.

8.2.2 Modèle par éléments finis

Dans l'article de Li et al., (2002b), l'équation du module d'Young est :

$$E_f = E_f^\varepsilon \bullet \varepsilon_f + E_f^0$$

Dans cette équation, la non-linéarité est exprimée par la constante E_f^ε . Cet article ne considère pas les hétérogénéités du cartilage en fonction de l'épaisseur. Tout d'abord, en considérant le module d'Young des fibres comme linéaire, ils ont obtenu une valeur de 6 MPa. Cette valeur se rapproche de la valeur expérimentale trouvée à 10%, mais elle n'inclut pas la non-linéarité. Par conséquent, les modules trouvés à plus petite déformation s'éloignent de cette valeur. La non-linéarité obtenue (E_f^ε) est d'environ 2400 MPa/ ε (variant de 1200 MPa/ ε à 2880 MPa/ ε) pour un module d'Young initial (E_f^0) de ~ 3 MPa. Le module d'Young initial est du même ordre de grandeur, mais sa croissance rapide avec la déformation ne correspond pas avec les résultats expérimentaux des tests en tension. La croissance du module d'Young avec la déformation prévue par le modèle mathématique est donc de 2 ordres de grandeur plus élevée que les résultats en tension, les valeurs expérimentales obtenues des épaules adolescentes étant de 28 ± 19 MPa/ ε .

8.2.3 Interprétation

Les modules des fibres obtenus des deux modèles mathématiques sont du même ordre de grandeur que les modules à l'équilibre obtenus des tests en tension. Par contre, étant donné la grande variation des résultats obtenus des tests en tension (en fonction de l'âge par exemple), il est risqué d'établir que les tests en tension valident les modules obtenus par les modélisations. Aussi, même si le protocole de tests tentait d'isoler au maximum le comportement des fibres de collagène à l'équilibre, les résultats obtenus proviennent 1) du cartilage avec toutes ses composantes et 2) d'une géométrie complexe qui peut avoir un impact sur les résultats obtenus.

La non-linéarité prévue par le modèle par éléments finis est de 2 ordres de grandeur plus élevée que celle obtenue expérimentalement. Cette différence peut provenir, comme mentionnée dans la discussion de l'article soumis du chapitre 7, de la différence entre les deux géométries de tests. Ainsi, en compression non-confinée, la déformation transversale se fait en deux dimensions (r et θ) et donc l'étirement en tension des fibres est biaxial, contrairement au test en tension qui est uniaxial. Une étude, Kamalanathan et Broom (1993), laisse présager qu'un module d'un test en tension biaxiale peut être beaucoup plus élevé qu'un module d'un test en tension uniaxiale. Aussi, les calculs des résultats expérimentaux sont uniquement basés sur l'aire nominale de la section de l'échantillon, alors qu'une diminution de cette aire dans les calculs des modules entraînerait une augmentation de la valeur de ces modules. Finalement, il est donc imprudent de conclure sur la précision du modèle par éléments finis car il n'a pas été appliqué à la géométrie des tests en tension.

8.3 Conclusion

Les valeurs à l'équilibre prédites par le modèle analytique correspondent au module à l'équilibre du cartilage en tension. Par contre, l'application de ce modèle pour les tests en tension a montré une mauvaise corrélation car la relaxation prévue théoriquement est beaucoup plus faible que la relaxation obtenue expérimentalement. Aussi, il ne parvient pas à expliquer l'origine de la relaxation du cartilage lors d'un test en tension.

Les valeurs des modules des fibres de collagène prévues théoriquement sont du même ordre de grandeur que les modules à l'équilibre du cartilage en tension. Par contre, la non-linéarité prévue par le modèle par éléments finis est de deux ordres de grandeur plus élevée que celle obtenue expérimentalement. Afin de valider cette non-linéarité, il faudrait appliquer le modèle à la géométrie des tests en tension et il serait intéressant de vérifier l'explication de l'origine de la relaxation selon ce modèle.

Il a été montré que les valeurs obtenues varient en fonction de l'âge. Il serait donc intéressant d'effectuer des tests en tension et en compression sur une même épaule, et de répéter l'expérience sur différents âges afin d'établir une corrélation directe entre les modules théoriques et les modules expérimentaux.

Conclusion

L'objectif principal de ce projet était d'obtenir de l'information sur le comportement des fibres de collagène. Ainsi, le protocole de tests utilisé a été basé sur des résultats et des observations trouvés dans la littérature. Bien qu'il soit indiqué dans la littérature que le temps de relaxation du cartilage en tension est élevé, c'est-à-dire plusieurs heures, aucun test en tension à relaxation de contraintes utilisant un long temps de relaxation n'avait été effectué. Des études présentant les résultats de tests en tension à vitesse d'étirement constante appliquée sur du cartilage de différents âges ont été effectuées, mais l'information déduite pour les petites déformations était limitée par le protocole utilisé. Le cartilage, étant un matériau poroélastique, présente des propriétés viscoélastiques qui ne peuvent pas être négligées. En effet, bien que les fibres de collagène soient une source majeure de la résistance en tension du cartilage, les propriétés du cartilage en tension ne correspondent pas directement à celles des fibres car l'écoulement du fluide, en diminuant la pression interne sur le réseau des fibres, contribue fortement à la réponse transitoire qui s'étire sur plusieurs heures. Ainsi, le protocole de test utilisé, grâce au temps de relaxation élevé qui permet à l'écoulement de fluide de s'effectuer, permet d'obtenir des informations concernant les fibres de collagène sous de petites déformations. Les tests mécaniques effectués dans ce mémoire ont permis de montrer clairement une très grande variation dans le comportement mécanique du cartilage en fonction de l'âge et de la profondeur dans l'épaisseur du cartilage. En plus, la méthode développée ne demande pas que les échantillons soient congelés pour la coupe en épaisseur.

L'ensemble des résultats obtenus augmente la quantité d'informations sur le comportement du cartilage en tension. Tout d'abord, les résultats montrent 1) une augmentation de la rigidité en fonction de la déformation, 2) que la rigidité du cartilage augmente avec l'âge et 3) que les propriétés mécaniques varient avec la profondeur. Ainsi, tous les tests mécaniques, à l'exception de ceux faits sur les échantillons

provenant d'épaules jeunes, ont montré une augmentation de la rigidité en fonction de la déformation. En plus, cette augmentation prend de l'ampleur avec l'âge. Aussi, ces tests ont montré que la rigidité du cartilage augmente avec l'âge. Finalement, les tests mécaniques faits sur des échantillons provenant des zones autres que la surface articulaire ont clairement montré un comportement différent des échantillons provenant de la surface articulaire. Ainsi, lors de leur installation dans les serres, une importante courbure entre ces serres apparaissait, contrairement à la surface articulaire, et la section des échantillons contenue entre les serres affichait un comportement plastique. Ces observations n'ont jamais été faites auparavant. En plus des résultats des tests mécaniques, les étirements faits sous microscopie ont permis d'obtenir de l'information nouvelle. Ces tests montrent que la déformation induite est différente de la déformation appliquée et qu'une attention particulière doit être appliquée au système d'attache étant donné qu'il est nécessairement à l'origine de l'écart entre la déformation appliquée et celle induite.

En plus des résultats expérimentaux obtenus, cette étude contient une comparaison entre les prédictions du modèle mathématique analytique en tension et le comportement du cartilage en tension. Ainsi, un écart important entre les courbes théoriques et expérimentales est noté. Alors que le comportement théorique prévu par le modèle mathématique est similaire à celui d'un matériau élastique, les courbes expérimentales montrent un comportement viscoélastique. En plus, l'explication par le modèle de l'origine de la relaxation est une entrée de fluide dans l'échantillon, alors qu'une revue de littérature suggère fortement que la relaxation soit causée par une sortie du fluide. Finalement, cette étude a montré que les valeurs des modules à l'équilibre en tension obtenues de l'application des modèles mathématiques sur des expériences de tests en compression non-confinée sont similaires à celles obtenues expérimentalement des épaules adolescentes et adultes mais que la non-linéarité ne coïncide pas.

Cette étude, bien qu'elle apporte de l'information nouvelle sur le comportement du cartilage en tension, pourrait être approfondie de différentes façons. En premier lieu, le protocole utilisé pour les tests mécaniques n'a pas permis de quantifier adéquatement le comportement mécanique des couches de cartilage autre que la surface articulaire. Deuxièmement, ce projet montre une augmentation de la rigidité avec l'âge mais ne permet pas d'établir un lien avec l'origine de ce comportement. Troisièmement, la déformation réelle du cartilage en tension n'est pas assez précise et ne permet pas de d'expliquer l'origine de la relaxation (sortie ou entrée de fluide). Quatrièmement, la modélisation des tests en tension en utilisant la méthode par éléments finis n'a pas été effectuée. Finalement, des tests mécaniques et des étirements sous-microscopie pourraient être faits avec le protocole de deux séries d'étirement.

Les faibles déformations utilisées dans le protocole de test ne permettait pas de déterminer, pour les échantillons ne provenant pas de la surface articulaire, si la force enregistrée provenait du décourbage de l'échantillon ou de la résistance en tension. Un protocole induisant un étirement initial d'une certaine force suivie d'une relaxation de plusieurs heures avant d'effectuer les étirements pourrait être essayer. Il faudrait déterminer la force initiale et définir le temps de relaxation initial.

Malgré que les résultats des tests mécaniques coïncident avec les récentes découvertes concernant la concentration des AGEs, leur concentration dans les échantillons qui ont été testés mécaniquement n'a pas été directement évaluée. Il est donc impossible d'établir un lien direct entre les propriétés mécaniques en fonction de l'âge obtenues dans ce mémoire et la concentration des AGEs. Aussi, une analyse de la solution ayant servi aux tests devrait être effectuée afin de vérifier si une variation de relargage de protéoglycanes a lieu avec l'âge. Il serait scientifiquement intéressant d'effectuer les mêmes tests en tension tout en évaluant la composition biochimique des échantillons testés, mais il faudrait modifier le protocole afin d'accommoder, sans qu'il y ait altération de la solution, un bain de volume réduit.

La méthode développée pour quantifier la déformation réelle pourrait être améliorée. Tout d'abord, elle permettait de quantifier la déformation dans le sens de la largeur uniquement, ensuite, l'imprécision liée à cette méthode ne permettait pas de vérifier s'il y a une variation des dimensions de l'échantillon lors de la relaxation. Un test permettant de quantifier la déformation précisément dans le sens de l'épaisseur et de la largeur permettrait d'obtenir la variation du volume de l'échantillon en plus de vérifier la variation de la déformation au cours de la lente relaxation. Ces données pourraient s'avérer utiles pour vérifier les hypothèses sur les causes de la relaxation des tests mécaniques en tension. Afin de remplir ces exigences, l'utilisation d'un microscope confocal pourrait être envisagée.

Le modèle mathématique utilisant la méthode par éléments finis n'a pas été appliqué à la géométrie des tests en tension. L'avantage du modèle utilisant la méthode par éléments finis, comparativement au modèle analytique, est qu'il peut considérer des conditions à la frontière s'approchant des conditions réelles de tests. Les résultats seraient plus précis que le modèle analytique car l'écart, s'il y en a un, ne pourrait pas être causé par la géométrie des tests en tension.

Il serait intéressant d'effectuer les deux séries d'étirements consécutives sur des échantillons d'âges différents. Étant donné que les réticulations du cartilage adulte sont supérieures à celles du cartilage jeune, il se pourrait que les résultats diffèrent fortement en ce sens que l'augmentation des réticulations pourrait induire un comportement presque élastique. D'un autre côté, un ajout de glucose (à l'origine des AGEs) dans la solution de test permettrait de vérifier l'impact des réticulations sur les propriétés en tension. Aussi, étant donné que les résultats suggèrent que l'échantillon à la suite de sa deuxième série d'étirements revient à la déformation finale de la première série d'étirements, l'étirement de la deuxième série de tests pourrait être supérieur à la première série afin de vérifier s'il y a un point d'inflexion des modules. Des tests

d'étirements sous microscope des deux séries consécutives pourraient permettre de vérifier si l'échantillon subit la même déformation réelle pour chacune des séries.

Références

- AKIZUKI, S., MOW, V. C., MULLER, F., PITA, J. C., et HOWELL, D. S. (1987). Tensile properties of human knee joint cartilage. II. Correlations between weight bearing and tissue pathology and the kinetics of swelling. J. Orthop. Res., 5(2), 173-186.
- AKIZUKI, S., MOW, V. C., MULLER, F., PITA, J. C., HOWELL, D. S., et MANICOURT, D. H. (1986). Tensile properties of human knee joint cartilage: I. Influence of ionic conditions, weight bearing, and fibrillation on the tensile modulus. J. Orthop. Res., 4(4), 379-392.
- ARMSTRONG, C. G., et MOW, V. C. (1982). Variations in the intrinsic mechanical properties of human articular cartilage with age, degeneration, and water content. J. Bone Joint Surg. (Am), 64(1), 88-94.
- BADER, D. L., KEMPSON, G. E., BARRETT, A. J., et WEBB, W. (1981). The effects of leucocyte elastase on the mechanical properties of adult human articular cartilage in tension. Biochim. Biophys. Acta, 677(1), 103-108.
- BAILEY, A. J., SIMS, T. J., AVERY, N. C., et MILES, C. A. (1993). Chemistry of collagen cross-links: glucose-mediated covalent cross-linking of type-IV collagen in lens capsules. Biochem. J., 296(2), 489-96.
- BAILEY, A. J., PAUL, R. G., et KNOTT, L. (1998) Mechanisms of maturation and ageing of collagen. Mech. Ageing. Dev., 106(1), 1-57.

- BANK, R. A., BAYLISS, M. T., LAFEVER F. P., MAROUDAS, A. et TEKOPPELE, J. M. (1998). Ageing and zonal variation in post-translational modification of collagen in normal human articular cartilage - the age-related increase in non-enzymatic glycation affects biomechanical properties of cartilage. Biochem. J., 330(1), 345-351.
- BRAMA, P. A., TEKOPPELE, J. M., BANK, R. A., VAN WEEREN, P. R. et BARNEVELD, A. (1999). Influence of site and age on biochemical characteristics of the collagen network of equine articular cartilage. Am. J. Vet. Res., 60(3), 341-5.
- HEINEGÅRD, D., BAYLISS, M., LORENZO, P. (1998). Biochemistry and Metabolism of Normal and Osteoarthritic Cartilage. In Osteoarthritis. Eds Brandt, K. D., Doherty, M. et Lohmander, S. L., Oxford University Press Inc., New York. 74-84.
- BROOM, N. D. et SILYN ROBERTS, H. (1990). Collagen-collagen versus collagen-proteoglycan interactions in the determination of cartilage strength. Arthritis Rheum., 33(10), 1512-1517.
- BUCKWALTER, J. A. et MANKIN, H. J. (1997). Articular cartilage.2. Degeneration and osteoarthrosis, repair, regeneration, and transplantation [review]. J. Bone Joint Surg. (Am), 79(4), 612-632.
- BUSCHMANN, M. D. et GRODZINSKY, A. J. (1995). A Molecular Model of Proteoglycan-associated Electrostatic Forces in Cartilage Mechanics. J. Biomech. Eng., 117(2), 179-192.
- EYRE, D. R., DICKSON, I. R. et VAN NESS, K. (1988). Collagen cross-linking in human bone and articular cartilage. Age-related changes in the content of mature hydroxypyridinium residues. Biochem. J., 252(2), 495-500.

- FORTIN, M., SOULHAT, J., SHIRAZI-ADL, A., HUNZIKER, E. B. et BUSCHMANN, M. D. (2000). Unconfined Compression of Articular Cartilage: Nonlinear Behavior and Comparison with a Fibril-Reinforced Biphasic Model. J. Biomech. Eng., 122(2), 189-195.
- GRAY, M. L., PIZZANELLI, A. M., GRODZINSKY, A. J. et LEE, R. C. (1988). Mechanical and physiochemical determinants of the chondrocyte biosynthetic response. J. Orthop. Res., 6(6), 777-92.
- GRODZINSKY, A. J., ROTH, V., MYERS, E., GROSSMAN, W. D. et MOW, V. C. (1981). The significance of electromechanical and osmotic forces in the nonequilibrium swelling behavior of articular cartilage in tension. J. Biomech. Eng., 103(4), 221-231.
- HEDLUND, H., MENGARELLIWIDHOLM, S., REINHOLT, F. P. et SVENSSON, O. (1993). Stereologic Studies on Collagen in Bovine Articular Cartilage. APMIS., 101(2), 133-140.
- KAMALANATHAN, S. et BROOM, N. D. (1993) The Biomechanical Ambiguity of the Articular Surface. J. Anat., 183(3), 567-578
- KEMPSON, G. E. (1991). Age-related changes in the tensile properties of human articular cartilage: a comparative study between the femoral head of the hip joint and the talus of the ankle joint. Biochim. Biophys. Acta., 1075(3), 223-230.

- KEMPSON, G. E. (1982). Relationship between the tensile properties of articular cartilage from the human knee and age. Ann. Rheum. Dis., 41(5), 508-11.
- KEMPSON, G. E., MUIR, H., POLLARD, C. et TUKE, M. (1973). The tensile properties of the cartilage of human femoral condyles related to the content of collagen and glycosaminoglycans. Biochim. Biophys. Acta., 297(2), 456-472.
- KEMPSON, G. E. (1980). The Mechanical Properties of Articular Cartilage, In The Joints and Synovial Fluid, vol. II. Ed Sokolof, L., Academic Press, New-York, 177-238
- KEMPSON, G. E., TUKE, M. A., DINGLE, J. T., BARRETT, A. J. et HORSFIELD, P. H. (1976). The effects of proteolytic enzymes on the mechanical properties of adult human articular cartilage. Biochim. Biophys. Acta., 428(3), 741-760.
- LANGELIER, E et BUSCHMANN, M. D. (en revision). Increasing strain and strain rate strengthens transient stiffness but weakens the response to subsequent compression for articular cartilage in unconfined compression. J. Biomech.
- LI, L. P., BUSCHMANN, M. D. et SHIRAZI-ADL, A. (2002a). The role of fibril reinforcement in the mechanical behavior cartilage. Biorheology, 39(2), 89-97.
- LI, L. P., BUSCHMANN, M. D. et SHIRAZI-ADL, A. (2002b). Alteration in mechanical behaviour of articular cartilage due to changes in depth varying material properties—a nonhomogeneous poroelastic model study. Comput. Methods Biomech. Biomed. Engin., 5(1), 45-52.
- LI, L. P., BUSCHMANN, M. D. et SHIRAZI-ADL, A. (2001). The asymmetry of transient response in compression versus release for cartilage in unconfined compression. J. Biomech. Eng., 123(5), 519-22.
- LI, L. P., SOULHAT, J., BUSCHMANN, M. D. et SHIRAZI-ADL, A. (1999). Nonlinear analysis of cartilage in unconfined ramp compression using a

- fibril reinforced poroelastic model. Clin. Biomech. (Bristol, Avon)., 14(9), 673-82.
- MANKIN, H. J., MOW, V.C., BUCKWALTER J. A., IANOTTI J. P. et RATCLIFFE A. (1994). Form and Function of Articular Cartilage. In Orthopaedic Basic Science, Ed Simon, S. R., American Academy of Orthopaedic Surgeons, New-York, 1-45.
- MYERS, E. R., LAI, W. M. et MOW, V. C. (1984). A Continuum Theory and an Experiment for the Ion-Induced Swelling Behavior of Articular Cartilage. J. Biomech. Eng., 106(2), 151-58.
- PINS, G. D., HUANG, E. K., CHRISTIANSEN, D. L. et SILVER, F. H. (1997). Effects of static axial strain on the tensile properties and failure mechanisms of self-assembled collagen fibers. J. Appl. Polym. Sci., 63(11), 1429-40.
- POKHAMA, H. K. et POTTENGER, L. A. (1997). Nonenzymatic glycation of cartilage proteoglycans - an in vivo and in vitro study. Glycoconj. J., 14(8), 917-923.
- ROTH, V. et MOW, V. C. (1980). The intrinsic tensile behavior of the matrix of bovine articular cartilage and its variation with age. J. Bone Joint Surg. (Am)., 62(7), 1102-1117.
- SCHENK, R. K., EGGLI, P. S. et HUNZIKER, E. B. (1986). Articular Cartilage Morphology. In Articular Cartilage Biochemistry. eds. Kuettner, K. E., Schleyerbach, R., and Hascall, V. C., Raven Press, New York, 3-22.
- SCHMIDT, M. B., MOW, V. C., CHUN, L. E. et EYRE, D. R. (1990). Effects of proteoglycan extraction on the tensile behavior of articular cartilage. J. Orthop. Res., 8(3), 353-363.
- SETTON, L. A., TOHYAMA, H. et MOW, V. C. (1998). Swelling and curling behaviours of articular cartilage. J. Biomech. Eng., 120(3), 355-361.
- SOULHAT, J., BUSCHMANN, M. D. et SHIRAZI-ADL, A. (1999). A fibril-network-reinforced biphasic model of cartilage in unconfined compression. J. Biomech. Eng., 121(3), 340-7.

- VERZIIL, N., DEGROOT, J., OLDEHINKEL, E., BANK, R. A.; THORPE, S. R.,
BAYNES, J. W., BAYLISS, M. T., BIJLSMA, J. W., LAFEBER, F. P. et
TEKOPPELE, J. M. (2000). Age-related accumulation of Maillard
reaction products in human articular cartilage collagen. Biochem. J.,
350(2), 381-7.
- VOET, D. et VOET J. G. (1998). Biochimie. DeBoeck Université. Paris. 153-161 et
258-265.
- WEIGHTMAN, B. (1976). Tensile fatigue of human articular cartilage. J. Biomech.,
9(4), 193-200.

Annexe I. Modèle mathématique poroélastique

Le développement de ce modèle est similaire à celui fait pour les tests en compression non-confinée présentée dans le chapitre 8 du polycopié du cours GCH6312 : Phénomènes d'échanges en génie tissulaire et en biotechnologie. La principale différence est que les échantillons utilisés pour les tests en tension ont une géométrie rectangulaire contrairement à une géométrie cylindrique, ce qui a demandé une approximation supplémentaire qui consiste à considérer l'échantillon comme étant une plaque de largeur infinie (géométrie 2D). Ainsi, les déplacements dans le sens de la largeur ont été négligés. Toutefois, le modèle utilisant la méthode par éléments finis pourrait être appliqué sans que cette approximation soit nécessaire.

La première section de ce rapport présente la géométrie utilisée et les hypothèses qui servent à modéliser les échantillons testés. La deuxième section présente le développement matriciel, emprunté à la théorie des solides élastiques isotropiques, permettant l'obtention des paramètres à l'équilibre. La troisième partie présente le développement algébrique, basé sur les équations gouvernantes de la poroélasticité, et permettant l'obtention des courbes transitoires théoriques. Finalement, différentes séries de paramètre sont entrées dans les équations afin de vérifier les prédictions du modèle sur le comportement du cartilage en tension et ce sera suivi d'une discussion.

I.1 Géométrie et hypothèses

I.1.1 Géométrie

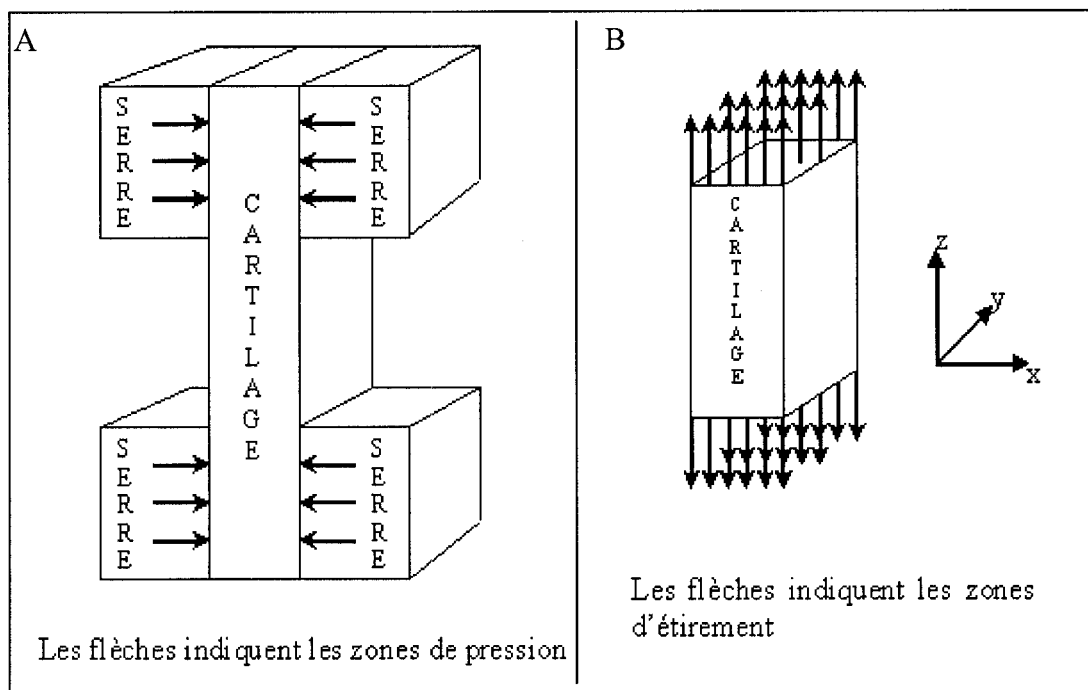


Figure I.1. A) Schéma de la géométrie réelle du cartilage. B) Schéma du modèle utilisé pour le modèle mathématique.

L'échantillon de cartilage testé est de géométrie rectangulaire. L'échantillon est installé entre des serres en acier inoxydable comme illustré à la figure I.1A. La pression exercée par les serres sur les extrémités du cartilage permet d'étirer le cartilage. Des morceaux de papier sablé sont collés sur les serres afin d'éviter des glissements entre le cartilage et les pinces. La section du cartilage libre entre les serres a les dimensions approximatives suivantes : 4mm de hauteur et une section de 2mm de largeur par $\sim 0.2\text{mm}$ d'épaisseur.

La géométrie utilisée pour le modèle mathématique est illustrée à la figure I.1B. La tension induite dans le cartilage est considérée comme étant située à chacune des extrémités de la bande de cartilage (aux extrémités du 4mm de longueur située entre les pinces). Cet étirement est considéré uniforme dans toute l'épaisseur du cartilage.

I.1.2 Hypothèses

I.1.2.1 Hypothèse sur les conditions aux frontières

- 1) Le cartilage est étiré uniformément dans toute son épaisseur. En réalité, il est maintenu par ses parois, il peut donc y avoir un étirement moindre au centre.
- 2) L'étirement est axial.

I.1.2.2 Hypothèse sur la description mécanique du cartilage

- 3) On suppose que la distribution des fibres de collagène est uniforme et aléatoire dans tout l'échantillon.
- 4) Le comportement des fibrilles de collagène est considéré comme linéaire élastique lorsqu'elles sont sollicitées en tension, et nul lorsque sollicitées en compression.
- 5) Les fibrilles de collagène sont mélangées à une matrice homogène et bi-phasique (eau et protéoglycane).
- 6) Les effets d'inertie sont négligeables.
- 7) Le cartilage est un système linéaire et indépendant du temps.

I.1.2.3 Hypothèse sur les déformations et contraintes

- 8) On considère des déplacements infinitésimaux
- 9) La déformation de la matrice est égale à celle des fibrilles de collagène
- 10) Considérer le cartilage comme étant un plan infini d'une certaine épaisseur revient à considérer qu'il n'y a aucune déformation en y . Cette considération permet la résolution analytique du modèle. L'axe y est négligé car on suppose que l'écoulement de fluide se fait principalement selon l'axe x . En réalité, le rapport entre la dimension en y sur la dimension en x est de l'ordre de 10. En fait, pour le développement mathématique, il ne fait aucune différence de négliger soit x ou y , mais il faut absolument avoir un problème en 2D pour une solution analytique.
- 11) On considère que les forces dans la matrice et dans les fibres s'additionnent.

I.1.2.4 Explications

Les hypothèses 1 et 2 viennent de la discordance entre le modèle idéalisé servant aux mathématiques et le modèle réel. L'hypothèse 1 provient de la différence spatiale entre la zone de pression appliquée sur le modèle réel et l'étirement du modèle idéalisé, comme expliqué précédemment. L'hypothèse 2 vient de l'imperfection du montage et implique une absence de cisaillement.

Les hypothèses 3 à 5 et 9 concernent les fibrilles de collagène. On considère donc un réseau de fibrilles d'orientation constante dans tout le cartilage. L'hypothèse 4 se résume avec la figure I.2 :

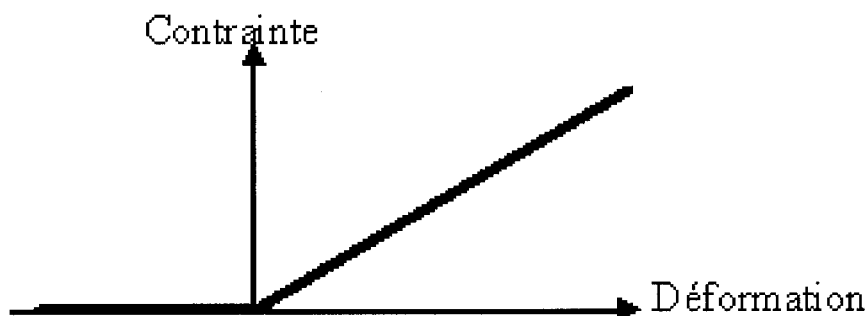


Figure I. 2. Schéma montrant le comportement théorique des fibres.

On fait une approximation de l'influence des fibrilles, à l'aide des hypothèses 3 et 5, en considérant le module de Young des fibrilles individuelles e_f et le rapport volumique χ des fibrilles sur le volume total. Les hypothèses 5 et 9 impliquent que les fibrilles et la matrice sont mélangées d'une façon homogène et qu'il n'y a aucun mouvement entre les deux. Elles sont donc fortement liées d'une façon physique, mais on considère la contrainte de chacun lors d'un étirement, et on additionne les deux pour obtenir la contrainte totale (hypothèse 11).

L'hypothèse 6 implique que l'équilibre des forces est considéré comme statique. Concrètement, on considère que les mouvements sont lents et surtout que leurs effets sont négligeables sur l'équilibre des forces.

L'hypothèse 7 implique que les propriétés du cartilage n'évoluent pas dans le temps.

1.2 Développement pour un solide isotrope, élastique et homogène

Ce développement permet de trouver l'origine physiologique des paramètres mesurables à l'équilibre, c'est-à-dire, le module et le coefficient de Poisson.

1.2.1 Relation contrainte-déformation du modèle

Tout d'abord, l'équation tensorielle pour un solide élastique Hookéen est :

$$(1) \quad \sigma_{ij} = C_{ijrs} \varepsilon_{rs}$$

En utilisant les conditions et les hypothèses liés à un solide isotrope, nous réduisons le nombre de constante de 81 à 2, ce qui nous donne la relation suivante :

$$(2) \quad \sigma_{ij} = \lambda \varepsilon_{kk} \delta_{ij} + 2\mu \varepsilon_{ij}$$

Où, λ et μ sont les constantes de Lamé

En reliant la déformation à la contrainte :

$$(3) \quad \varepsilon_{ij} = -\frac{\nu}{E} \sigma_{kk} \delta_{ij} + \frac{1+\nu}{E} \sigma_{ij}$$

et la relation entre l'équation 3 et les constantes de Lamé est :

$$(4) \quad \mu = \frac{E}{2(1+\nu)} \quad \text{et} \quad \lambda = \frac{\nu E}{(1+\nu)(1-2\nu)}$$

I.2.1.1 Matrice

Tout d'abord, on néglige tous les déplacements en y et on considère qu'il n'y a pas de cisaillement. Le problème devient un problème à deux dimensions.

$$\sigma_{zx} = \sigma_{xz} = \sigma_{yz} = \sigma_{zy} = \sigma_{xy} = \sigma_{yx} = \sigma_{yy} = 0$$

Il ne reste que les équations suivantes, établies avec l'équation 2 :

$$(5) \quad \sigma_{xx}^{Matrice} = \frac{E_M}{(1+\nu_M)(1-2\nu_M)} [(1-\nu_M)\varepsilon_{xx} + \nu_M(\varepsilon_{yy} + \varepsilon_{zz})]$$

$$(6) \quad \sigma_{zz}^{Matrice} = \frac{E_M}{(1+\nu_M)(1-2\nu_M)} [(1-\nu_M)\varepsilon_{zz} + \nu_M(\varepsilon_{xx} + \varepsilon_{yy})]$$

I.2.1.2 Fibrilles

Encore une fois, on considère qu'il n'y a aucun cisaillement, donc :

$$\sigma_{zx} = \sigma_{xz} = \sigma_{yz} = \sigma_{zy} = \sigma_{xy} = \sigma_{yx} = 0$$

Aussi, l'hypothèse 4 implique que : $\sigma_{xx}^{Fibrille} = \sigma_{yy}^{Fibrille} = 0$

Il ne reste que :

$$(7) \quad \sigma_{zz} = e_f \times \varepsilon_{zz}$$

I.2.1.3 Total

$$(8) \quad \sigma_{zz}^E = \sigma_{zz}^{Matrice} + \frac{\chi}{3} \times \sigma_{zz}^{Fibrille}$$

$$(9) \quad \sigma_{xx}^E = \sigma_{xx}^{Matrice}$$

Le facteur $\frac{\chi}{3}$ provient de l'aire des fibres sur le volume total et de leur répartition isotropique (à l'origine du 1/3)

I.2.2 Développement

En définissant le module de Young équivalent E_f par :

$$(10) \quad E_f = \frac{\chi}{3} e_f$$

Nous avons :

$$(11) \quad \frac{\chi}{3} \sigma_{zz}^{Fibrille} = E_f \varepsilon_{zz}$$

À l'aide des formules 5, 6, 8, 9 et 11, nous obtenons l'équation matricielle suivante :

$$(12) \quad \begin{pmatrix} \sigma_x^E \\ \sigma_z^E \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} S_{11} & S_{12} \\ S_{21} & S_{22} \end{pmatrix} \begin{pmatrix} \varepsilon_x \\ \varepsilon_z \end{pmatrix}$$

Où le double indice a été remplacé par une simple (forme vectorielle contractée) et la matrice $[S_{ij}]$ est la matrice d'élasticité.

$$(13) \quad S_{11} = \frac{E_M (1 - \nu_M)}{(1 + \nu_M)(1 - 2\nu_M)}$$

et

$$(14) \quad S_{22} = \frac{(E_f + E_M)(1 - \nu_M) - 2E_f \nu_M^2}{(1 + \nu_M)(1 - 2\nu_M)}$$

$$(15) \quad S_{12} = S_{21} = \frac{E_M \nu_M}{(1 + \nu_M)(1 - 2\nu_M)}$$

La matrice de souplesse est $[C_{ij}] = [S_{ij}]^{-1}$

$$(16) \quad \begin{pmatrix} \varepsilon_x \\ \varepsilon_z \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} C_{11} & C_{12} \\ C_{21} & C_{22} \end{pmatrix} \begin{pmatrix} \sigma_x^E \\ \sigma_z^E \end{pmatrix}$$

avec

$$(17) \quad C_{11} = \frac{E_f + E_M - (3E_f + E_M)\nu_M^2 - 2E_f\nu_M^3}{E_M(E_f + E_M - E_f\nu_M^2)}$$

$$(18) \quad C_{12} = C_{21} = -\frac{\nu_M(1 + \nu_M)}{E_f + E_M - E_f\nu_M^2}$$

$$(19) \quad C_{22} = \frac{1 - \nu_M^2}{E_f + E_M - E_f\nu_M^2}$$

À l'équilibre, σ_x^E deviennent nulles car ils sont libres de s'étendre et nous avons :

$$(20) \quad \begin{pmatrix} \varepsilon_x \\ \varepsilon_z \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} C_{11} & C_{12} \\ C_{21} & C_{22} \end{pmatrix} \begin{pmatrix} 0 \\ \sigma_z^E \end{pmatrix}$$

Ce qui nous donne :

$$(21) \quad E_{22} = \frac{1}{C_{22}} = E_f + \frac{E_M}{1 - \nu_M^2}$$

et

$$(22) \quad \nu_{eff} = \frac{[\varepsilon_x]_{\text{équilibre}}}{[\varepsilon_z]_{\text{équilibre}}} = -\frac{C_{12}}{C_{22}} = \frac{\nu_M}{1 - \nu_M}$$

I.2.3 Discussion

Ces résultats semblent cohérents. En effet, le terme E_{22} devient égal à E_f si le module de Young de la matrice est nul. Aussi, si le coefficient de Poisson de la matrice est nul, alors, E_{22} est égal à la somme des modules de Young de la matrice et des fibrilles.

Le coefficient de Poisson effectif, ν_{eff} , doit être vérifié avec ses valeurs limites. Les valeurs possibles du terme ν_M sont : $0 < \nu_M < 0.5$. Il en résulte les valeurs de ν_{eff} suivantes : $0 < \nu_{eff} < 1$. À première vue, ces résultats semblent incohérents, mais le ν_{eff} a été déduit d'un développement mathématique en 2D.

Pour un matériau totalement élastique, en supposant une épaisseur de $2a$ selon l'axe x et de $2b$ selon l'axe y et une longueur de L :

$$V = 4abL$$

$$0 = 4b(Lda + adL)$$

$$0 = Lda + adL$$

$$0 = da/a + dL/L$$

$$0 = -\varepsilon_x + \varepsilon_z$$

$$0 = -1 + \nu_{eff}$$

Ce qui donne, pour un matériau non-élastique :

$$(23) \quad \nu_{eff} < 1$$

Par contre, le ν_M a été déduit de la théorie des solides élastiques Hookéen et provient des constantes de Lamé. Ce coefficient n'est pas affecté par les hypothèses effectuées pour ce modèle. La valeur maximum de ν_{eff} pour un modèle rectangulaire bidimensionnel est donc de 1.

Les résultats obtenus semblent donc cohérents car ils coïncident avec les caractéristiques des matériaux, en tenant compte, bien sur, des approximations utilisées.

Note:

Coefficient de Poisson d'un matériau élastique pour la géométrie rectangulaire 3D

$$\begin{aligned}
 V &= 4abL \\
 0 &= 4(Lbda + abdL + aLdb) \\
 0 &= Lbda + abdL + aLdb \\
 0 &= da/a + dL/L + db/b \\
 0 &= -\varepsilon_x + \varepsilon_z - \varepsilon_y \\
 (24) \quad 0 &= -1 + \nu_x + \nu_y
 \end{aligned}$$

L'approximation considérant une géométrie 2D pourrait être vérifiée en mesurant expérimentalement le coefficient de Poisson après un étirement très rapide (pour considérer le cartilage comme un matériau élastique). Ainsi, si le coefficient selon x est proche de l'unité, alors l'approximation 2D, qui, d'un point de vue expérimental, considère qu'il n'y a pas de déplacement selon l'axe y, pourrait être validé.

1.3 Développement algébrique

Un développement mathématique algébrique est fait afin de trouver la courbe transitoire théorique qui correspond à la réponse du cartilage lors d'une déformation induite. Ce développement utilise des équations de base déduites de la structure connue du cartilage. Ce développement est relié à la première partie et utilise donc les mêmes approximations.

Note : Le développement est similaire à celui fait pour les tests en compression non-confinée fait dans les Notes de cours CHE 6312 : Phénomènes d'échanges en génie tissulaire et en biotechnologie, chapitre 8.

I.3.1 Équations gouvernantes

Voici tout d'abord les équations gouvernantes qui décrivent les phases solides et fluides. Trois équations sont associées à l'équilibre des forces, une équation associée à la continuité des deux phases (incompressibilité) et une équation constitutive pour chacune des deux phases.

-Conservation de quantité de mouvement pour le solide :

$$(25) \quad \sigma^S = -\alpha \bar{p} I + \sigma^E$$

-Conservation de quantité de mouvement pour le fluide :

$$(26) \quad \sigma^f = -\bar{p} I$$

-Équilibre des forces totales :

$$(27) \quad \nabla \cdot (\sigma^t) = 0$$

-Incompressibilité :

$$(28) \quad \nabla \cdot (\vec{v}^f + \alpha \vec{v}^s) = 0$$

-Loi constitutive pour le solide :

$$(29) \quad -\alpha \nabla \bar{p} + \nabla \cdot \sigma^E + K(\vec{v}^f - \vec{v}^s) = 0$$

-Loi constitutive pour le fluide :

$$(30) \quad -\nabla \bar{p} - K(\vec{v}^f - \vec{v}^s) = 0$$

où

$$(31) \quad K = \frac{1}{k(1+\alpha)^2} \quad \text{et} \quad \alpha = \frac{(1-\phi)}{\phi}$$

σ^S = Tenseur de contrainte dans la phase solide

σ^f = Tenseur de contrainte dans la phase fluide

σ^t = Tenseur de contrainte totale (solide plus fluide)

σ^E = Tenseur de contrainte élastique

$\overline{p}$ = Pression relative du fluide

I = Matrice identité

K = Coefficient de traînée

α = Rapport de volume de solide sur le volume de fluide

$\overrightarrow{v^f}$ = Vecteurs de la vitesse absolue du fluide

$\overrightarrow{v^s}$ = Vecteurs de la vitesse absolue du solide

ϕ = Rapport de volume de fluide sur le volume total (porosité)

k = Perméabilité

I.3.2 Développement

L'échantillon est de forme rectangulaire et les axes sont définis comme montré à la figure I.3. L'étirement est selon l'axe z.

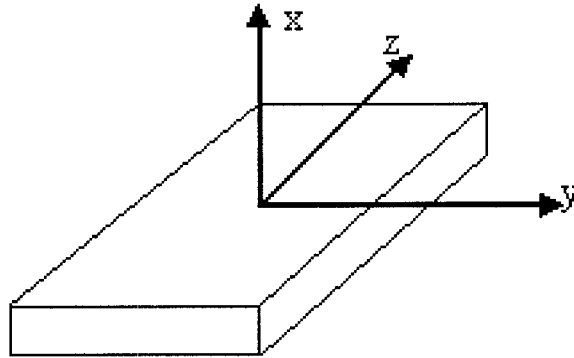


Figure I.3. Schéma montrant l'orientation des axes utilisés pour le développement algébrique.

L'origine est située au centre de l'échantillon. Les dimensions de l'échantillon est, selon x, de $2 \times a$, et selon y, de $2 \times b$.

Définissons le champ de déformation et les vecteurs de vitesse pour les phases solide et fluide.

-Champs de déformation :

$$(31), (32), (33) \quad \overline{\varepsilon}_x(x,t) = \frac{\partial \overline{u}_x(x,t)}{\partial x} \quad , \quad \overline{\varepsilon}_y(y,t) = \frac{\partial \overline{u}_y(y,t)}{\partial y} \approx 0 \quad , \quad \overline{\varepsilon}_z(z,t) = \frac{\overline{u}_z(t)}{z}$$

L'hypothèse 10 donne $\overline{\varepsilon}_y(y,t) \approx 0$.

-Vecteur de vitesse :

$$(34) \text{ et } (35) \quad \overline{v^s} = \begin{bmatrix} \frac{\partial \overline{u_x}}{\partial t} \\ \frac{\partial \overline{u_y}}{\partial t} \approx 0 \\ \frac{\partial \overline{u_z}}{\partial t} = z \frac{\partial \overline{\varepsilon_z}}{\partial t} \end{bmatrix} \quad \text{et} \quad \overline{v^f} = \begin{bmatrix} \overline{v_x^f} \\ \overline{v_y^f} \approx 0 \\ \overline{v_z^f} = \overline{v_z^s} = z \frac{\partial \overline{\varepsilon_z}}{\partial t} \end{bmatrix}$$

L'équation de continuité devient alors

$$(36) \quad \nabla \cdot (\overline{v^f} + \alpha \overline{v^s}) = 0$$

$$(37) \quad \Rightarrow \frac{\partial \overline{v_x^f}}{\partial x} + \frac{\partial \overline{v_y^f}}{\partial y} + \frac{\partial \overline{v_z^f}}{\partial z} + \alpha \left(\frac{\partial \overline{v_x^s}}{\partial x} + \frac{\partial \overline{v_y^s}}{\partial y} + \frac{\partial \overline{v_z^s}}{\partial z} \right) = 0,$$

Donc,

$$(38) \quad \frac{\partial \overline{v_x^f}}{\partial x} + \frac{\partial \overline{\varepsilon_z}}{\partial t} + \alpha \left(\frac{\partial \overline{u_x}}{\partial t \partial x} + \frac{\partial \overline{\varepsilon_z}}{\partial t} \right) = 0$$

et dans le domaine de Laplace, nous obtenons :

$$(39) \quad \frac{\partial \overline{v_x^f}}{\partial x} + s \overline{\varepsilon_z} + \alpha s \left(\frac{\partial \overline{u_x}}{\partial x} + \overline{\varepsilon_z} \right) = 0$$

La solution est :

$$(40) \quad \overline{v_x^f} = -\overline{s} \left[\left((1 + \alpha) \overline{\varepsilon_z} x + \alpha \overline{u_x} \right) \right]$$

Maintenant, à l'aide des champs de vitesse et de l'équation de la loi constitutive pour le fluide, nous avons :

$$(41) \quad \frac{\partial \overline{p_x}(x, s)}{\partial x} = \frac{1}{k(1 + \alpha)^2} \left[\overline{s} \left((1 + \alpha) \overline{\varepsilon_z} x + \alpha \overline{u_x} \right) + \overline{s} \overline{u_x} \right]$$

Après simplification, nous avons :

$$(42) \quad \frac{\partial \overline{p_x}(x, s)}{\partial x} = \frac{\overline{s}}{k(1 + \alpha)} \left[\overline{\varepsilon_z} x + \overline{u_x} \right]$$

Avec l'équation précédente et l'équation de la loi constitutive pour le solide, nous avons :

$$(43) \quad \nabla \cdot \sigma^E = (1 + \alpha) \frac{\partial \overline{p_x}}{\partial \overline{x}}$$

et, avec la matrice de souplesse :

$$(44) \quad (\nabla \cdot \sigma^E)_x = \frac{\partial \sigma^E}{\partial \overline{x}} = S_{11} \frac{\partial^2 \overline{u_x}}{\partial \overline{x}^2}$$

ce qui donne :

$$(45) \quad \frac{\partial^2 \overline{u_x}}{\partial \overline{x}^2} = \frac{\overline{s}}{kS_{11}} [\overline{\varepsilon_z x} + \overline{u_x}]$$

Avec les changements de variables suivants :

$$(46), (47), (48) \quad \sigma_a(s) = \frac{\overline{\sigma_a(s)}}{E_{22}} \quad , \quad s = \frac{\overline{s}}{s_0} \quad , \quad s_0 = \frac{kS_{11}}{a^2}$$

$$(49), (50), (51) \quad u(s) = \frac{\overline{u_x(x,s)}}{a} \quad , \quad x = \frac{\overline{x}}{a} \quad , \quad p(s) = \frac{\overline{p(x,s)}}{E_{22}} \quad ,$$

et la synthèse donne :

$$(52) \quad \frac{\partial^2 \overline{u_x}}{\partial \overline{x}^2} = s [\overline{\varepsilon_z(s)x} + \overline{u_x(s)}]$$

et, avec les conditions limites suivantes :

$$(53) \quad \sigma_x^E(a) = 0 = S_{11} \frac{\partial \overline{u_x}}{\partial \overline{x}} + S_{12} \overline{\varepsilon_z}$$

et

$$(54) \quad u(0,s) = 0$$

nous obtenons :

$$(55) \quad u(x,s) = \frac{\overline{\varepsilon_z} ((S_{11} - S_{12}) \sinh(\sqrt{s}x) - S_{11} \sqrt{s}x \cosh(\sqrt{s}))}{S_{11} \sqrt{s} \cosh(\sqrt{s})}$$

Et avec $p(a) = 0$

$$(56) \quad p(x, s) = \frac{(S_{11} - S_{12})\varepsilon_z (\cosh(\sqrt{s}x) - \cosh(\sqrt{s}))}{E_{22} \cosh(\sqrt{s})}$$

Les fonctions de transfert normalisées des autres variables, en utilisant les relations 57 à 59, sont présentées dans le tableau de la page suivante.

$$(57), (58) \quad \varepsilon_x(x, s) = \frac{\partial u(x, s)}{\partial x} ; \quad v(x, s) = -\frac{\partial p(x, s)}{\partial x} ;$$

$$(59) \quad \sigma_a(s) = \frac{1}{4b} \int_0^1 \int_0^b \left(\frac{S_{12}\varepsilon_x(x, s) + S_{22}\varepsilon_z(s)}{E_{33}} - p(x, s) \right) dy dx$$

Fonctions de transfert

Tableau I.1. Fonctions de transfert normalisées pour la géométrie des tests en tension. Équation a : Normalisations et simplifications utilisées. Équation b : Contrainte selon l'axe z moyennée sur la section. Équation c : Déplacement selon l'axe x. Équation d : Déformation selon l'axe x. Équation e : Pression relative du fluide selon l'axe x. Équation f : Vitesse relative selon l'axe x.

$\sigma_a(s) = \frac{\overline{\sigma_a(s)}}{E_{22}} ; u(x,s) = \frac{\overline{u(x,s)}}{a} ; p(x,s) = \frac{(1+\alpha)}{E_{22}} \overline{p(x,s)} ;$ $v_r(x,s) = \frac{a}{k(1+\alpha)E_{22}} \overline{v_r(x,s)} ; x = \frac{\bar{x}}{a} ; s = \frac{\bar{s}}{s_0} ; s_0 = \frac{kS_{11}}{a^2} ; A = \frac{\nu_M - 1}{2\nu_M - 1} ;$ $B = \frac{(2 + R + R\nu_M)(\nu_M - 1)^2}{(1 + R - R\nu_M^2)(2\nu_M - 1)} ; C = B - A ; R = \frac{E_f}{E_M} ; S_{11} = \frac{E_M(1 - \nu_M)}{(1 + \nu_M)(1 - 2\nu_M)} ;$ $E_{22} = \frac{E_f + E_M - E_f\nu_M^2}{1 - \nu_M^2}$	éq. a
$\frac{\overline{\sigma_a(s)}}{\overline{\varepsilon_z(s)}} = \frac{B \cosh(\sqrt{s}) - C \frac{\sinh(\sqrt{s})}{\sqrt{s}}}{A \cosh(\sqrt{s})}$	éq. b
$\frac{\overline{u(x,s)}}{\overline{\varepsilon_z(s)}} = -x \left(1 - \frac{\sinh(\sqrt{s}x)}{Ax\sqrt{s} \cosh(\sqrt{s})} \right)$	éq. c
$\frac{\overline{\varepsilon(x,s)}}{\overline{\varepsilon_z(s)}} = - \left(1 - \frac{\cosh(\sqrt{s}x)}{A \cosh(\sqrt{s})} \right)$	éq. d
$\frac{\overline{p(x,s)}}{\overline{\varepsilon_z(s)}} = \frac{S_{11}}{E_{22}} \left(\frac{(\cosh(\sqrt{s}x) - \cosh(\sqrt{s}))}{A \cosh(\sqrt{s})} \right)$	éq. e
$\frac{\overline{v(x,s)}}{\overline{\varepsilon_z(s)}} = - \frac{S_{11}}{E_{22}} \left(\frac{\sqrt{s} \sinh(\sqrt{s}x)}{A \cosh(\sqrt{s})} \right)$	éq. f

I.3.3 Équations dans le domaine du temps

Tableau I.2. Équations normalisées dans le domaine du temps pour une relaxation de contrainte.

$\sigma_a(t) = \frac{\overline{\sigma_a(t)}}{E_{22}\varepsilon_0} ; u(x,t) = \frac{\overline{u(x,t)}}{a\varepsilon_0} ; p(x,t) = \frac{(1+\alpha)}{E_{22}\varepsilon_0} \overline{p(x,t)} ; \varepsilon_x(x,t) = \frac{\overline{\varepsilon_x(x,t)}}{\varepsilon_0} ;$ $v_r(x,t) = \frac{a}{k(1+\alpha)E_{22}\varepsilon_0} \overline{v_r(x,t)} ; x = \frac{\overline{x}}{a} ; t = \overline{t}s_0 ; t_0 = \overline{t_0}s_0 ; s_0 = \frac{kS_{11}}{a^2}$
$0 \leq t \leq t_0$
$u(x,t) = \frac{1}{6At_0} x^3 - \frac{1}{2At_0} x - \frac{(A-1)}{A} \frac{t}{t_0} x - \frac{2}{At_0} \sum_{n=1}^{\infty} \frac{(-1)^{-n} e^{-(n-1/2)^2 \pi^2 t} \sin((n-1/2)\pi x)}{(n-1/2)^4 \pi^4}$
$p(x,t) = \frac{2S_{11}}{E_{22}At_0} \left(\left(\frac{x^2-1}{4} \right) - \sum_{n=1}^{\infty} \frac{(-1)^{-n} e^{-(n-1/2)^2 \pi^2 t} \cos((n-1/2)\pi x)}{(n-1/2)^3 \pi^3} \right)$
$\sigma_a(t) = \frac{B-A}{3At_0} + \frac{t}{t_0} - \frac{2(B-A)}{At_0} \sum_{n=1}^{\infty} \frac{e^{-(n-1/2)^2 \pi^2 t}}{(n-1/2)^4 \pi^4}$
$\varepsilon_x(x,t) = \frac{1}{2At_0} x^2 - \frac{1}{2At_0} + \frac{(A-1)}{A} \frac{t}{t_0} - \frac{2}{At_0} \sum_{n=1}^{\infty} \frac{(-1)^{-n} e^{-(n-1/2)^2 \pi^2 t} \cos((n-1/2)\pi x)}{(n-1/2)^3 \pi^3}$
$v_r(x,t) = -\frac{2S_{11}}{E_{22}At_0} \left(\frac{x}{2} + \sum_{n=1}^{\infty} \frac{(-1)^{-n} e^{-(n-1/2)^2 \pi^2 t} \sin((n-1/2)\pi x)}{(n-1/2)^2 \pi^2} \right)$
$t_0 \leq t$
$u(x,t) = -\frac{(A-1)}{A} x - \frac{2}{At_0} \sum_{n=1}^{\infty} \frac{(-1)^{-n} e^{-(n-1/2)^2 \pi^2 t} (1 - e^{(n-1/2)^2 \pi^2 t_0}) \sin((n-1/2)\pi x)}{(n-1/2)^4 \pi^4}$
$p(x,t) = -\frac{2S_{11}}{E_{22}At_0} \left(\sum_{n=1}^{\infty} \frac{(-1)^{-n} e^{-(n-1/2)^2 \pi^2 t} (1 - e^{(n-1/2)^2 \pi^2 t_0}) \cos((n-1/2)\pi x)}{(n-1/2)^3 \pi^3} \right)$
$\sigma_a(t) = 1 - \frac{2(B-A)}{At_0} \sum_{n=1}^{\infty} \frac{e^{-(n-1/2)^2 \pi^2 t} (1 - e^{(n-1/2)^2 \pi^2 t_0})}{(n-1/2)^4 \pi^4}$
$\varepsilon_x(x,t) = -\frac{(A-1)}{A} - \frac{2}{At_0} \sum_{n=1}^{\infty} \frac{(-1)^{-n} e^{-(n-1/2)^2 \pi^2 t} (1 - e^{(n-1/2)^2 \pi^2 t_0}) \cos((n-1/2)\pi x)}{(n-1/2)^3 \pi^3}$
$v_r(x,t) = \frac{2S_{11}}{E_{22}At_0} \left(\sum_{n=1}^{\infty} \frac{(-1)^{-n} e^{-(n-1/2)^2 \pi^2 t} (1 - e^{(n-1/2)^2 \pi^2 t_0}) \sin((n-1/2)\pi x)}{(n-1/2)^2 \pi^2} \right)$

Remarque: Seule la contrainte est affectée par le module de tension des fibrilles et de la matrice. Le terme A varie uniquement en fonction du coefficient de Poisson de la matrice. Le terme B varie en fonction du coefficient de Poisson de la matrice et des modules de tension des fibrilles et de la matrice et il est présent seulement dans l'équation de la contrainte selon z moyennée sur la surface.

1.4 Comportement théorique du cartilage en tension

Dans cette section, différentes valeurs des paramètres sont placées dans les équations et les graphiques de chacune des variables sont tracés pour chaque cas. Cet exercice permet de vérifier l'influence de ces paramètres sur les courbes obtenues.

Au total, 9 séries de paramètres de différentes valeurs seront entrées dans les équations temporelles obtenues. La courbe standard servira de base de comparaison pour les cas 1 à 8, qui ont chacun un paramètre qui diffère de la courbe standard. La déformation axiale a été fixée à 10%.

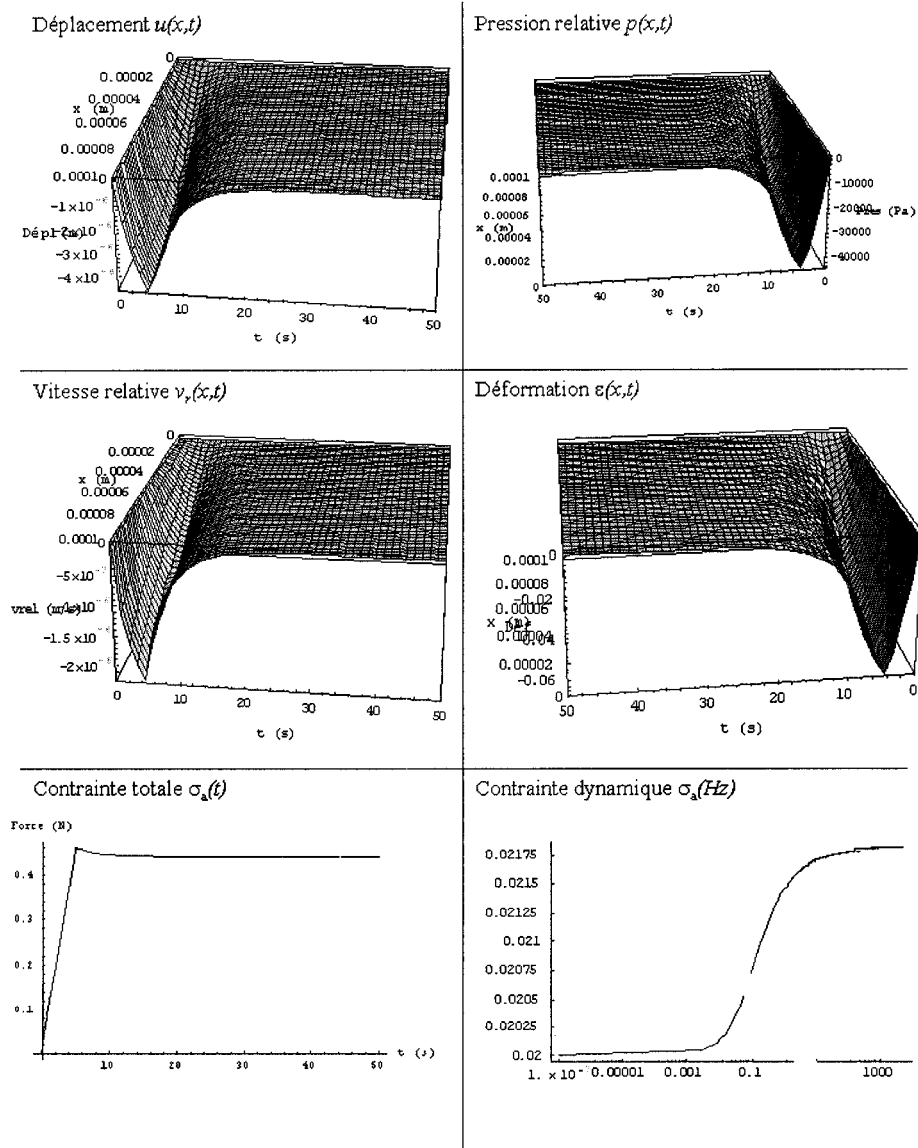
Tableau I.3. Tableau indiquant chaque paramètre utilisé pour chacun des cas. Un seul paramètre par cas diffère des paramètres standards. Les paramètres sont les suivants : k est la perméabilité, E_f est le module à l'équilibre des fibres, E_m est le module à l'équilibre de la matrice, ν_m est le coefficient de Poisson de la matrice, a est l'épaisseur de l'échantillon, b est la largeur de l'échantillon et t_0 est le temps caractéristique.

	$K \text{ (m}^4\text{/(N s))}$	$E_f \text{ (MPa)}$	$E_M \text{ (MPa)}$	ν_M	$a \text{ (m)}$	$b \text{ (m)}$	$t_0 \text{ (s)}$
Standard	10^{-15}	10×10^6	1×10^6	0	100×10^{-6}	1×10^{-3}	5
Cas 1	10^{-15}	0	1×10^6	0	100×10^{-6}	1×10^{-3}	5
Cas 2	10^{-15}	1×10^6	1×10^6	0	100×10^{-6}	1×10^{-3}	5
Cas 3	10^{-15}	10×10^6	1×10^6	0.4	100×10^{-6}	1×10^{-3}	5
Cas 4	10^{-15}	10×10^6	1×10^6	0	200×10^{-6}	1×10^{-3}	5
Cas 5	100×10^{-15}	10×10^6	1×10^6	0	100×10^{-6}	1×10^{-3}	5
Cas 6	10^{-15}	10×10^6	1×10^6	0	100×10^{-6}	2×10^{-3}	5
Cas 7	10^{-15}	10×10^6	1×10^6	0	100×10^{-6}	1×10^{-3}	1000
Cas 8	10^{-15}	10×10^6	0	0	100×10^{-6}	1×10^{-3}	5

I.4.1 Courbe standard

Tableau I.4. Graphique des différentes variables obtenues des paramètres standards.

Standard



Voici ce que la courbe standard prédit comme comportement pour les différentes variables. Le déplacement selon l'axe x (transverse) montre une diminution de l'épaisseur du cartilage lors de l'étirement, et il reprend ensuite son épaisseur originale, ce qui coïncide avec le coefficient de Poisson de la matrice qui est fixé à 0. Aussi, le déplacement maximum est sur les côtés de l'échantillon. La pression relative du fluide est négative, ce qui indique que la force du fluide exercée sur la matrice est positive avec l'axe x négatif. La pression maximum est au centre de l'échantillon. La vitesse relative est négative, ce qui indique que la vitesse du fluide selon l'axe x négatif est supérieure à celle de la matrice, et donc que le fluide entre dans le cartilage lors de l'étirement et de la relaxation. La vitesse maximum est sur les côtés de l'échantillon.

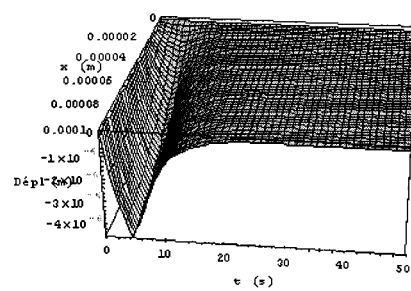
La courbe force-temps, contrainte théorique moyennée sur la surface multipliée par l'air de la section, montre une petite relaxation, ce qui correspond aux hypothèses initiales (fibres totalement élastiques et ayant un module de 10 fois supérieur à celui de la matrice). À noter que la courbe force-temps est présentée à la place de la contrainte afin de faire un lien direct avec les résultats expérimentaux obtenus.

I.4.2 Cas 1 : $E_f = 0$ Pa

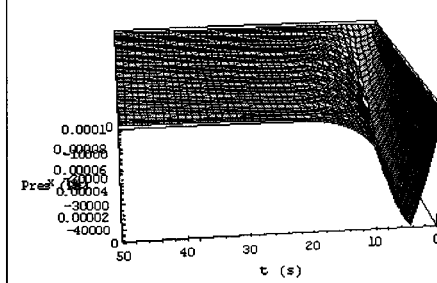
Tableau I.5. Graphique des différentes variables obtenues des paramètres du cas 1.

Cas 1

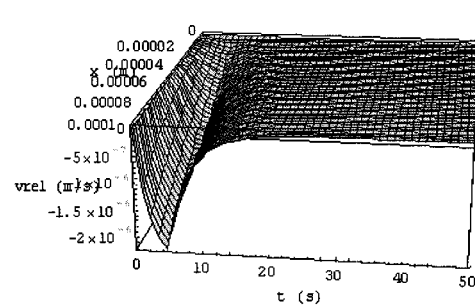
Déplacement $u(x,t)$



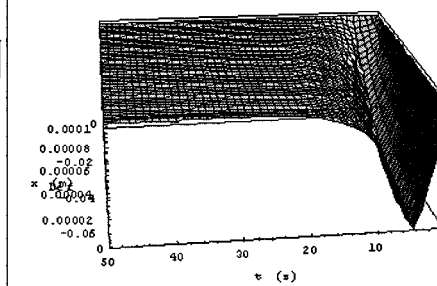
Pression relative $p(x,t)$



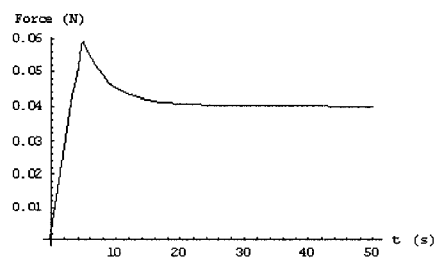
Vitesse relative $v_r(x,t)$



Déformation $\varepsilon(x,t)$



Contrainte totale $\sigma_s(t)$



Contrainte dynamique $\sigma_d(f)$

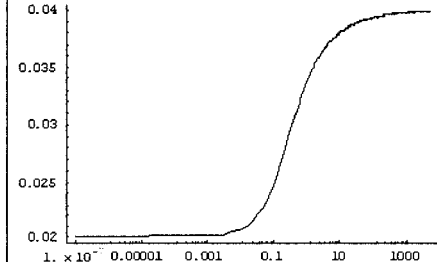


Tableau I.6. Variation entre les résultats de la courbe standard et du cas 1.

	Effet sur les variables
Déplacement transverse	Aucun
Pression relative	Aucun
Vitesse relative	Aucun
Déformation	Aucun
Force	↓

Les quatre premières variables sont selon l'axe des x . Les fibrilles ont un module de tension nulle en compression. Il est donc normal qu'il n'y ait aucune variation de ces variables en changeant la valeur de E_f .

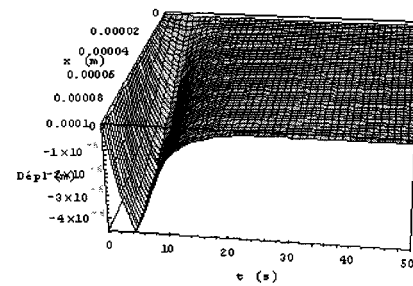
Par contre, la force est beaucoup moins forte (approximativement d'un facteur 10). Le module en tension des fibrilles influence énormément l'amplitude de la réponse en tension du cartilage. La réponse est approximativement de 10 fois inférieure à la courbe standard, ce qui correspond au ratio des modules à l'équilibre. La relaxation est plus évidente en l'absence de fibrilles car le ratio $\frac{\text{Amplitude de relaxation}}{\text{Amplitude au pic}}$ est beaucoup plus grand.

I.4.3 Cas 2 : $E_f = 1 \times 10^6$ Pa

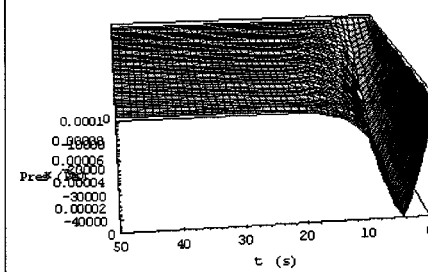
Tableau I.7. Graphique des différentes variables obtenues des paramètres du cas 2.

Cas 2

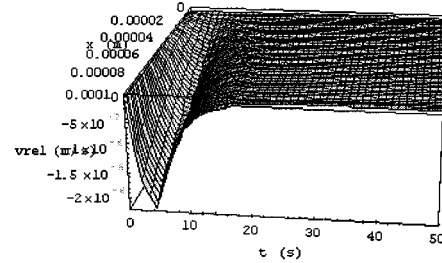
Déplacement $u(x,t)$



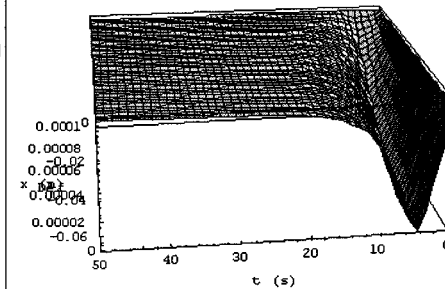
Pression relative $p(x,t)$



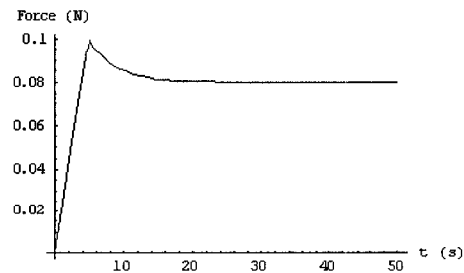
Vitesse relative $v_r(x,t)$



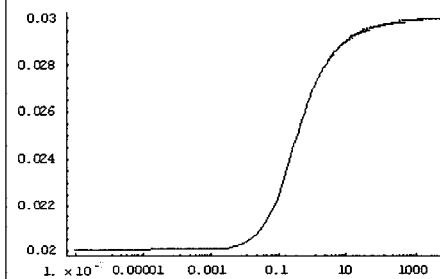
Déformation $\varepsilon(x,t)$



Contrainte totale $\sigma_a(t)$



Contrainte dynamique $\sigma_d(fz)$



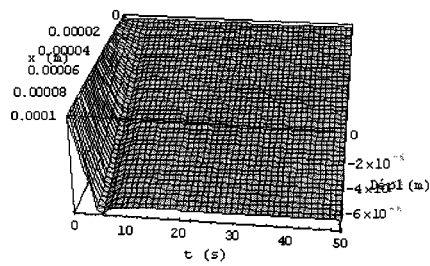
Même effet que le cas 1. La réponse de la contrainte est plus forte que le cas 1 mais est moindre que le standard. La réponse de la force varie grandement en fonction du module des fibrilles. L'amplitude de relaxation demeure constante.

I.4.4 Cas 3 : $v_M = 0.4$

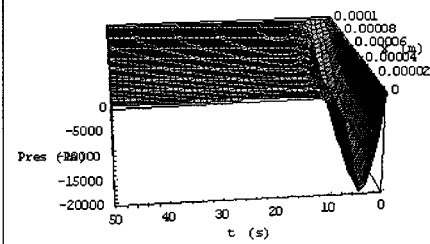
Tableau I.8. Graphique des différentes variables obtenues des paramètres du cas 3.

Cas 3

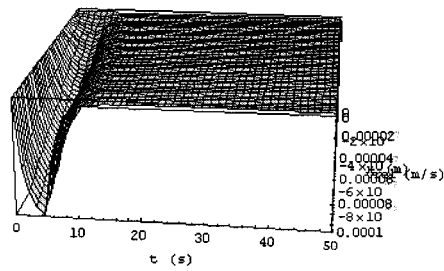
Déplacement $u(x,t)$



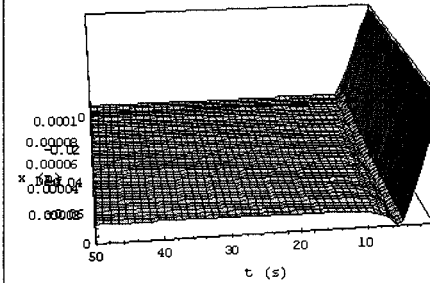
Pression relative $p(x,t)$



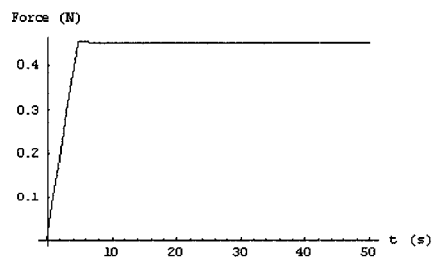
Vitesse relative $v_r(x,t)$



Déformation $\varepsilon(x,t)$



Contrainte totale $\sigma_a(t)$



Contrainte dynamique $\sigma_d(f)$

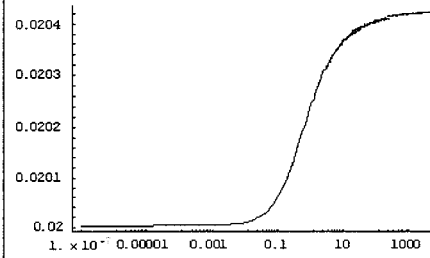


Tableau I.9. Variation entre les résultats de la courbe standard et du cas 3.

	Effet sur les variables
Déplacement transverse	Amplitude : $\uparrow$; beaucoup plus faible relaxation
Pression relative	Amplitude : $\downarrow$; Temporel : Relaxation plus rapide
Vitesse relative	Amplitude : $\downarrow$; Temporel : Relaxation plus rapide
Déformation	Amplitude : $\uparrow$; beaucoup plus faible relaxation
Force	Il semble y avoir une plus faible relaxation

Le coefficient de Poisson de la matrice a pour valeur maximum 0.5. À 0.4, le matériau est pratiquement totalement élastique. Un matériau totalement élastique implique qu'il n'y a aucune relaxation après déformation. Les résultats obtenus montrent qu'il y a une très faible relaxation pour le déplacement et la déformation et que le temps de relaxation est plus court pour chacun des paramètres. À l'équilibre, il y a un déplacement linéaire selon l'axe x et la déformation est constante.

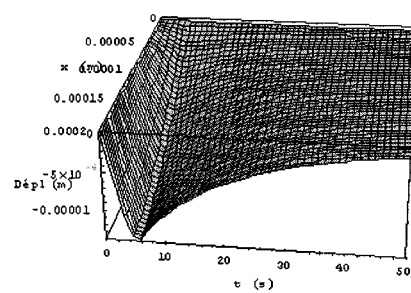
Une déformation transversale constante à l'équilibre implique un plus petit volume, et donc qu'il y a moins de fluide qui est "entré" dans l'échantillon. Il est donc logique que l'amplitude du pic de la vitesse relative soit inférieure à la courbe standard. Une diminution de la vitesse relative implique donc une plus petite variation dans le sens de l'épaisseur pour la pression relative, ce qui contribue à diminuer l'amplitude du pic. Pour le déplacement et la déformation, l'amplitude du pic est supérieure à la courbe standard. Cette caractéristique serait sans doute, lorsque le coefficient de Poisson est nul, causée par la tendance que le cartilage a de reprendre sa forme lors de l'étirement, ce qui diminuerait l'amplitude des pics. La valeur de la force à l'équilibre est légèrement supérieure ($\sigma_a(x, t \rightarrow \infty) = E_{22} = E_f + \frac{E_m}{1 - \nu_m^2}$, $E_f = 10E_m$), et la relaxation est moindre.

I.4.5 Cas 4 : $a = 200 \times 10^6 \text{ m}$

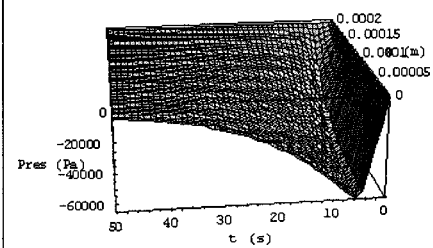
Tableau I.10. Graphique des différentes variables obtenues des paramètres du cas 4.

Cas 4

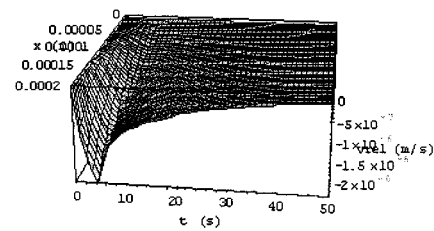
Déplacement $u(x,t)$



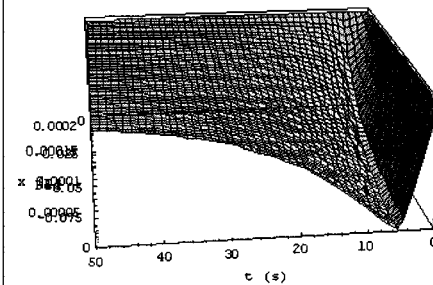
Pression relative $p(x,t)$



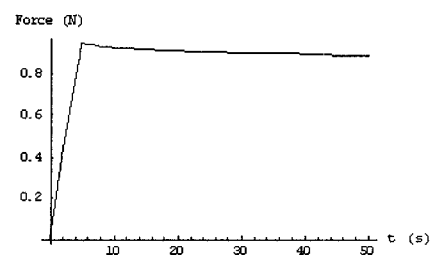
Vitesse relative $v_r(x,t)$



Déformation $\varepsilon(x,t)$



Contrainte totale $\sigma_s(t)$



Contrainte dynamique $\sigma_d(fz)$

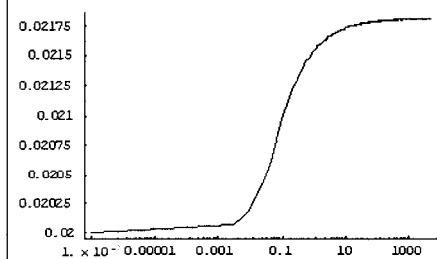


Tableau I.111. Variation entre les résultats de la courbe standard et du cas 4.

	Effet sur les variables
Déplacement transverse	Amplitude : $\uparrow$; Temporel : Relaxation plus lente
Pression relative	Amplitude : $\uparrow$; Temporel : Relaxation plus lente
Vitesse relative	Amplitude : aucun ; Temporel : Relaxation plus lente
Déformation	Amplitude : $\uparrow$; Temporel : Relaxation plus lente
Force	Amplitude : $\uparrow$; Temporel : Relaxation plus lente

Pour chacune des variables, la relaxation est plus lente. La fréquence caractéristique s_0 est inversement proportionnelle à l'épaisseur au carré. Ce qui implique que le temps caractéristique de relaxation va être augmenté, et donc l'équilibre est plus lentement atteint. Intuitivement, il est logique que le temps pour atteindre l'équilibre soit plus long pour un échantillon plus large car, en considérant l'incompressibilité (équation gouvernante) et la porosité du cartilage, les mouvements de fluide au centre du cartilage doivent "attendre" que le mouvement de fluide sur les côtés ait lieu.

L'amplitude du pic de la vitesse relative est demeurée constante. Il aurait été difficile, je crois, de prévoir intuitivement cette caractéristique. Par contre, cette caractéristique permet de comprendre les variations d'amplitude des autres variables. La vitesse étant proportionnelle à la variation de la pression relative, la pente de la pression selon l'axe x doit être identique à la courbe standard, et ce, sur une plus grande distance, ce qui explique l'augmentation de l'amplitude. Intuitivement, cette augmentation de pression doit être causée par une déformation infinitésimale plus élevée et comme cette déformation résulte de la variation du déplacement, le déplacement doit aussi être plus élevé que la courbe standard. La force est 2 fois supérieure à la courbe standard, ce qui donne une contrainte, et donc un module à l'équilibre, identique, car celle-ci est égale à la force divisée par l'aire de la section (la déformation est constante).

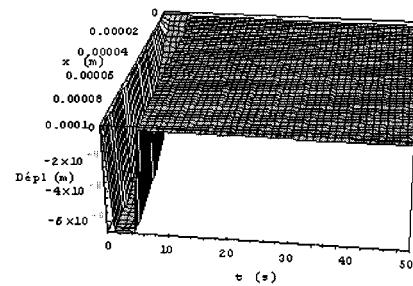
Il est difficile d'évaluer intuitivement l'impact d'une augmentation de l'épaisseur sur l'amplitude au pic de chacun de ces paramètres. Par contre, nous pouvons considérer ces comportements comme étant cohérents car la relaxation est plus lente et le module à l'équilibre, propriété intrinsèque des matériaux, demeure inchangé.

I.4.6 Cas 5 : $k = 100 \times 10^{-15} \text{ m}^4/(\text{N} \cdot \text{s})$

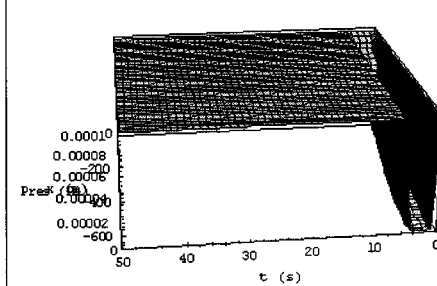
Tableau I.12. Graphique des différentes variables obtenues des paramètres du cas 5.

Cas 5

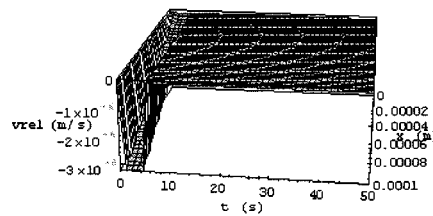
Déplacement $u(x,t)$



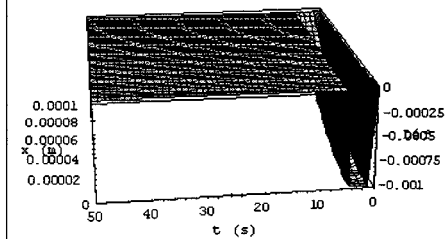
Pression relative $p(x,t)$



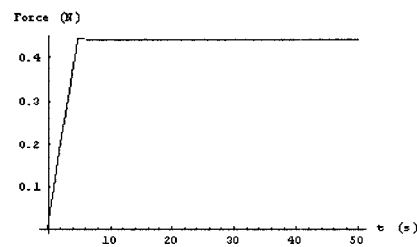
Vitesse relative $v_r(x,t)$



Déformation $\varepsilon(x,t)$



Contrainte totale $\sigma_s(t)$



Contrainte dynamique $\sigma_d(fz)$

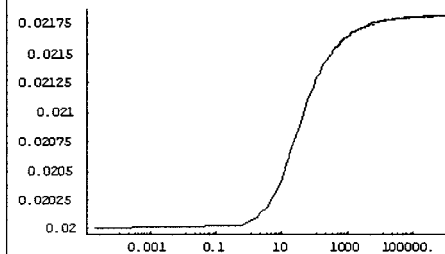


Tableau I.13. Variation entre les résultats de la courbe standard et du cas 5.

	Effet sur les variables
Déplacement transverse	Amplitude : ↓ ; Temporel : Équilibre instantané
Pression relative	Amplitude : ↓ ; Temporel : Équilibre instantané
Vitesse relative	Amplitude : ↑ ; Temporel : Équilibre instantané
Déformation	Amplitude : ↓ ; Temporel : Équilibre instantané
Force	Amplitude : Aucun ; Temporel : Équilibre instantané

Plus la perméabilité est élevée plus le fluide est « libre de circuler ». Une augmentation de la perméabilité diminue le temps pour atteindre l'équilibre ce qui explique la quasi absence des relaxations pour chacun des paramètres (théoriquement le temps caractéristique est inversement proportionnel à la perméabilité).

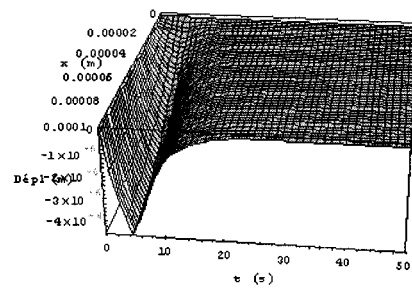
Seule l'amplitude de la vitesse du fluide augmente car le fluide a plus de facilité à circuler. En plus, le changement de volume est le même que pour la courbe standard, et la relaxation prend moins de temps, ce qui implique que le fluide doit circuler plus rapidement pour que le volume soit pareil à l'équilibre. Les autres variables ont un pic d'amplitude inférieur à la courbe standard et ça pourrait être causé par la relaxation quasi instantanée ayant lieu lors de l'étirement.

I.4.7 Cas 6 : $b = 2 \times 10^{-3} \text{ m}$

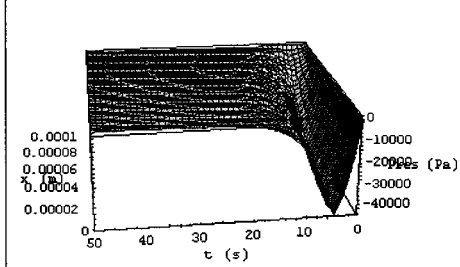
Tableau I.14. Graphique des différentes variables obtenues des paramètres du cas 6.

Cas 6

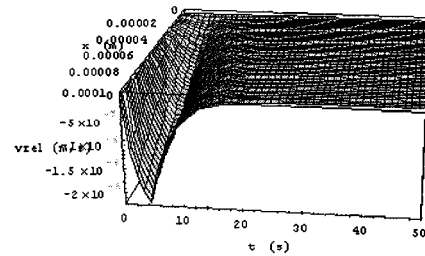
Déplacement $u(x,t)$



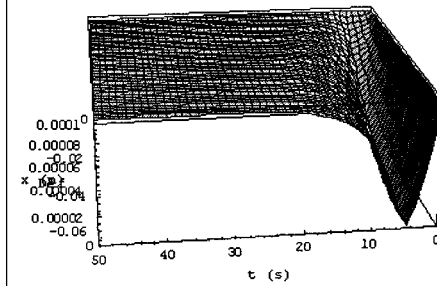
Pression relative $p(x,t)$



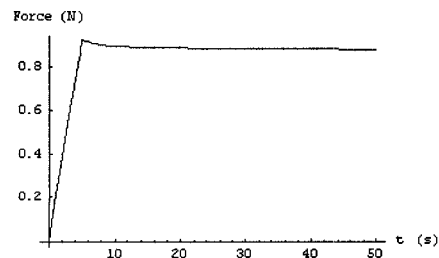
Vitesse relative $v_r(x,t)$



Déformation $\varepsilon(x,t)$



Contrainte totale $\sigma_s(t)$



Contrainte dynamique $\sigma_d(fHz)$

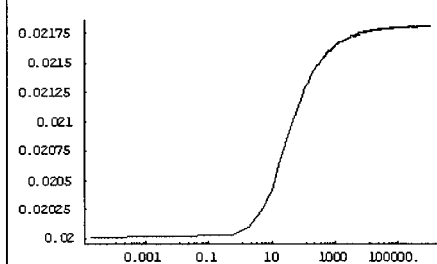


Tableau I.15. Variation entre les résultats de la courbe standard et du cas 6.

	Effet sur les variables
Déplacement transverse	Aucun
Pression relative	Aucun
Vitesse relative	Aucun
Déformation	Aucun
Force	Amplitude : $2 \times \uparrow$

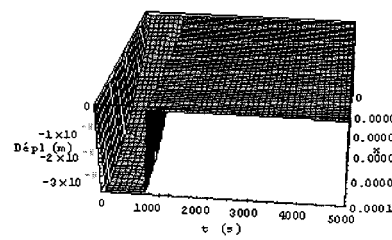
Le modèle ne tient pas compte de la dimension en y, il est donc normal que la variation de ce paramètre n'affecte pas les variables. L'amplitude de la force est le double de la courbe standard, mais ce résultat implique que la contrainte et le module à l'équilibre demeure constant.

I.4.8 Cas 7 : $t_0 = 1000$ sec

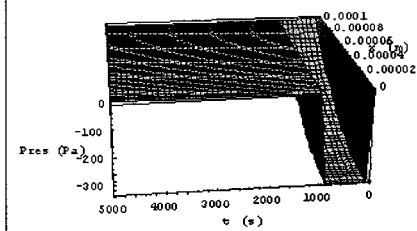
Tableau I.16. Graphique des différentes variables obtenues des paramètres du cas 7.

Cas 7

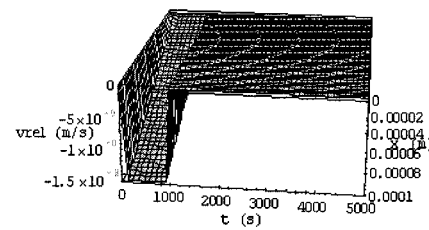
Déplacement $u(x,t)$



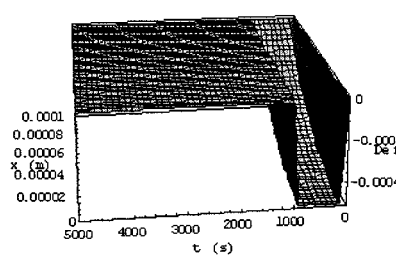
Pression relative $p(x,t)$



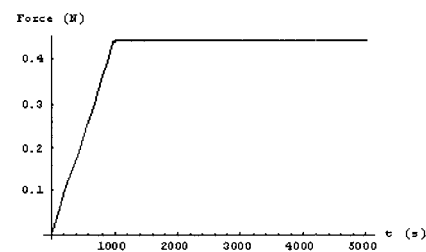
Vitesse relative $v_r(x,t)$



Déformation $\varepsilon(x,t)$



Contrainte totale $\sigma_a(t)$



Contrainte dynamique $\sigma_d(Hz)$

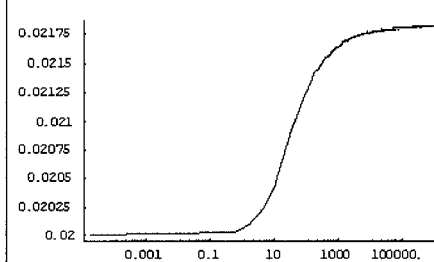


Tableau I.17. Variation entre les résultats de la courbe standard et du cas 7.

	Effet sur les variables
Déplacement transverse	Amplitude : ↓ ; Temporel : Équilibre instantané
Pression relative	Amplitude : ↓ ; Temporel : Équilibre instantané
Vitesse relative	Amplitude : ↓ ; Temporel : Équilibre instantané
Déformation	Amplitude : ↓ ; Temporel : Équilibre instantané
Force	Amplitude : Aucun ; Temporel : Équilibre instantané

Plus le temps d'étirement est élevé, plus le fluide a le temps de « circuler ». Un quasi-équilibre a lieu lors de l'étirement ce qui explique la quasi-absence des relaxations pour chacun des paramètres.

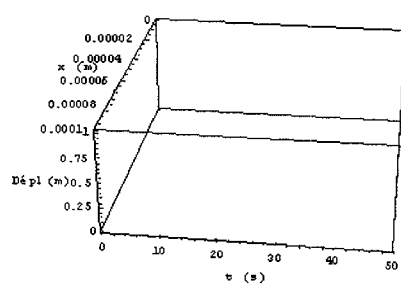
Toutes les variables ont un pic d'amplitude inférieur à la courbe standard et les causes sont similaires au cas 5. Seule la vitesse relative diffère de ce cas car elle est inversement proportionnelle au temps d'étirement (et non-proportionnelle comme pour le cas 5). La différence entre les deux cas est que le temps $\bar{t}_0$ est toujours juxtaposé à la perméabilité, mais la perméabilité, en plus, est juxtaposé au temps $\bar{t}$.

I.4.9 Cas 8 : $E_M = 0$ Pa

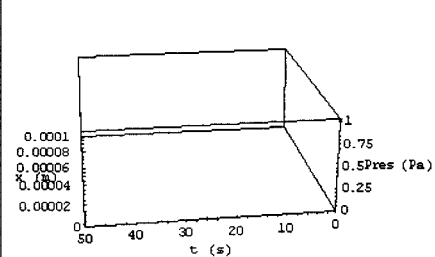
Tableau I.18. Graphique des différentes variables obtenues des paramètres du cas 8.

Cas 8

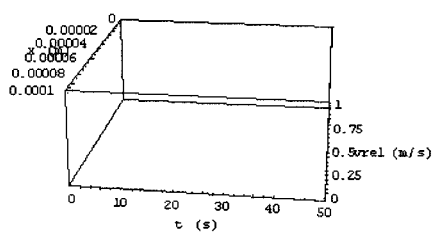
Déplacement $u(x,t)$



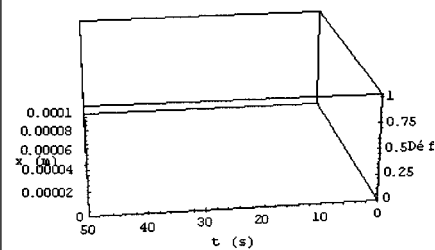
Pression relative $p(x,t)$



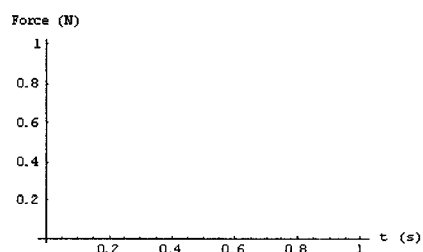
Vitesse relative $v_r(x,t)$



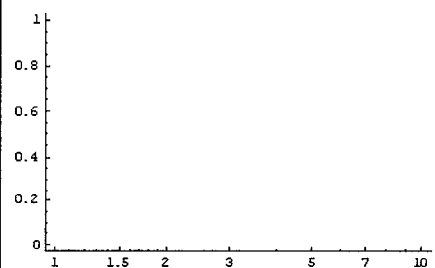
Déformation $\varepsilon(x,t)$



Contrainte totale $\sigma_s(t)$



Contrainte dynamique $\sigma_d(Hz)$



Les termes S_{11} et S_{12} sont directement proportionnels à E_M . Ils sont donc nuls. La fréquence caractéristique est nulle aussi et donc le temps normalisé aussi... Il faudrait sans doute utiliser un tout autre développement.

1.5 Discussion

Le développement est basé sur nos connaissances des propriétés de la microstructure du cartilage et de l'interaction entre les différentes composantes majeures. Les courbes obtenues montrant l'influence des différents paramètres, en considérant les hypothèses initiales du développement, concordent avec ces mêmes connaissances.

Ainsi, une augmentation du module des fibres de collagènes augmente l'amplitude du pic mais n'a aucune influence sur les autres variables. Une augmentation de l'épaisseur augmente les temps de relaxation de chacun des paramètres alors qu'une augmentation de la perméabilité et une diminution de la vitesse d'étirement implique que l'équilibre est atteint plus rapidement. Lorsque le coefficient de Poisson n'est pas nul, l'amplitude du pic du déplacement et de la déformation augmente alors que l'amplitude du pic de la pression relative et de la vitesse relative diminue et les relaxations sont toutes plus rapides. Finalement, le module en tension des fibres de collagène est considéré comme élastique et est 10 fois supérieur à celui de la matrice, ce qui résulte en un comportement presque élastique.

La comparaison avec les résultats obtenus expérimentalement est faite au chapitre 8.

Annexe II Résultats détaillés des tests mécaniques présentés au chapitre 5

La présentation des résultats et l'analyse de ceux-ci est en ordre chronologique, suivant ainsi l'évolution du montage et du protocole. Les tests utilisant un montage et un protocole identiques ont été regroupés en regroupements appelés séries. Il y a 5 séries, de A à E et celles-ci précèdent les tests présentés dans l'article. Tous les tests présentés dans ce chapitre ont été effectués sur des épaules adolescentes et les échantillons proviennent de la surface articulaire.

Afin de caractériser les courbes obtenues de chaque série de tests, des graphiques montrant les modules au pic et à l'équilibre, les modules à l'équilibre en fonction des modules au pic respectifs et les pentes de fin de relaxation sont présentés. Les données quantitatives présentées sont les modules des derniers étirements, la pente des modules en fonction de l'étirement, la pente de la régression linéaire des modules à l'équilibre en fonction de leur module au pic respectif et la pente de la régression linéaire des pentes de fin de relaxation.

La description des montages des différentes séries de tests est faite au chapitre 5.

II.1 Résultats de la série de tests A

Cinq tests utilisant ce protocole ont été effectués. Pour chacun des tests, il y a deux séries d'étirements. Les modules au pic et à l'équilibre du dernier étirement ont une valeur moyenne de, respectivement, 13.86 ± 2.23 MPa et 5.16 ± 0.68 MPa (figure II.1). Pour la deuxième série, les valeurs moyennes sont de 9.48 ± 5.66 MPa et de 3.40 ± 2.09 MPa (figure II.1). Les pentes moyennes de l'accroissement des 4 modules (pic et équilibre pour chacune des deux séries) sont les suivantes (Tableau II.1):

Tableau II.1. Résultats des pentes des modules pour la série A.

	Pente des modules à l'équilibre (MPa/%)	Pente des modules au pic (MPa/%)
Série 1	1.2 ± 0.3	2.6 ± 0.4
Série 2	1.1 ± 0.6	3.2 ± 0.5

Le ratio module équilibre sur module au pic est de, pour la première série, 38.4% (pente de la régression linéaire) avec un coefficient de corrélation de 0.8224, et, pour la deuxième série, 35.0% avec $r = 0.8156$ (figure II.2). La vitesse d'étirement réelle, calculée sur le fichier de résultats, est de 9.86 ± 1.67 $\mu\text{m/s}$.

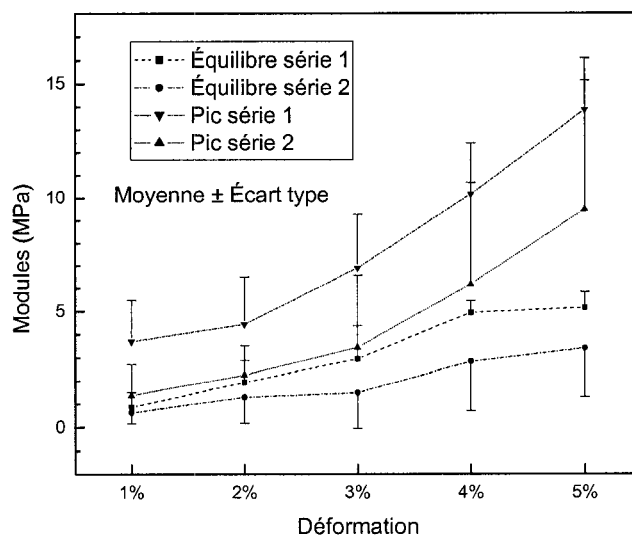


Figure II.1. Modules à l'équilibre et au pic obtenus des tests de la série A.

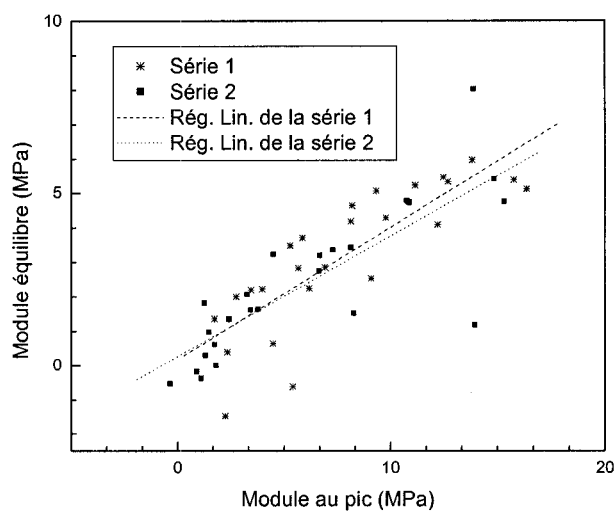


Figure II.2. Graphique des modules à l'équilibre en fonction des modules au pic respectifs des tests de la série A.

La pente des dernières deux heures de relaxation n'a pas été calculée à cause du manque de points et de l'imprécision des résultats (figure II.3). En fait, un seul test montrait des courbes avec assez de points et une forme régulière.

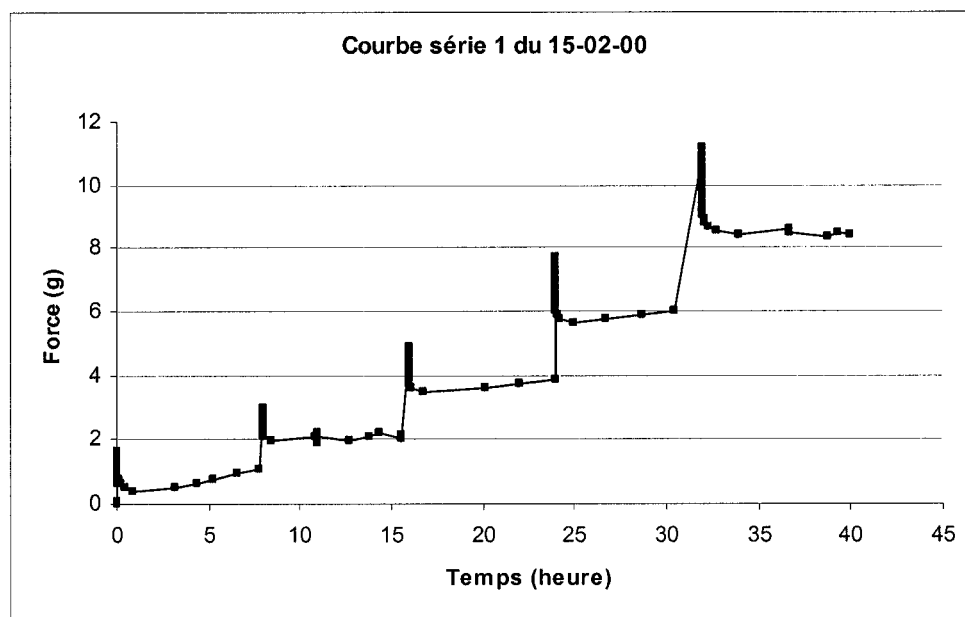


Figure II.3. Exemple de courbe obtenue ayant peu de points et peu de précision.

II.2 Résultats de la série de tests B

Quatre tests ont été effectués avec ce montage, dont un incomplet, lui manquant les trois dernières relaxations de la deuxième série d'étirements. Les modules au pic et à l'équilibre du dernier étirement de la première série ont une valeur moyenne de, respectivement, 15.77 ± 7.04 MPa et 5.91 ± 2.75 MPa (figure II.4). Pour la deuxième série, les valeurs moyennes sont de 12.90 ± 3.62 MPa et de 6.05 ± 2.12 MPa (figure II.4). Les pentes moyennes de l'accroissement des 4 modules (pic et équilibre pour chacune des deux séries) sont les suivantes (tableau 4.2) :

Tableau II.2. Résultats des pentes des modules pour la série B.

	Pente des modules à l'équilibre (MPa/%)	Pente des modules au pic (MPa/%)
Série 1	1.3 ± 0.8	3.2 ± 1.2
Série 2	1.4 ± 1.0	3.2 ± 1.2

Le ratio module équilibre sur module au pic est de, pour la première série, 39.2% (pente de la régression linéaire) avec un coefficient de corrélation de 0.9001, et, pour la deuxième série, 59.5% avec $r = 0.9279$ (figure II.5). La vitesse d'étirement calculée à partir du fichier de résultats est de 10.41 ± 2.53 $\mu\text{m/s}$.

Encore une fois, la pente des dernières 2 heures n'a pas été calculée à cause du manque de points et de l'imprécision des résultats de deux des quatre tests effectués.

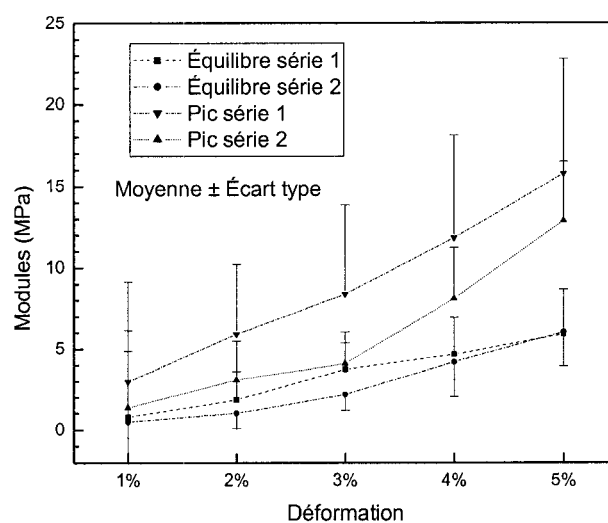


Figure II.4. Modules à l'équilibre et au pic obtenus des tests de la série B.

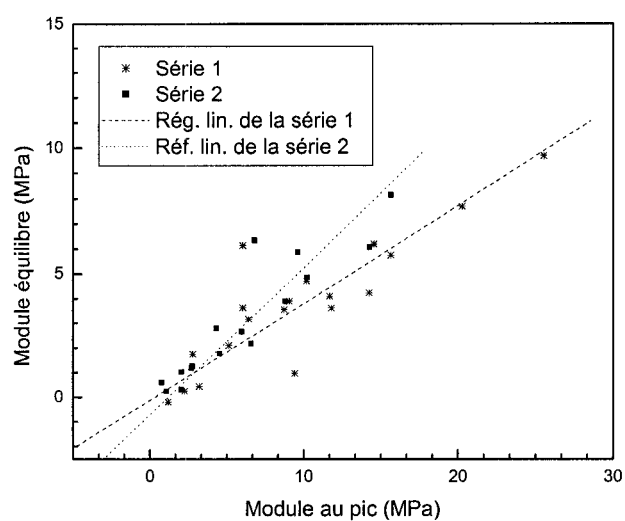


Figure II.5. Graphique des modules à l'équilibre en fonction des modules au pic respectifs des tests de la série B.

II.2.1 Discussion des séries de tests A et B

Bien qu'ils affichent une réponse typique des tests contrainte-relaxation, c'est-à-dire une augmentation de la force lors de l'étirement et ensuite une diminution de cette force lors de la relaxation, la majorité des tests effectués montre des résultats dont l'imprécision n'est pas négligeable. Des pièces immobilisant l'anneau ont été dessinées et fabriquées afin d'éviter les surcharges et ainsi permettre l'utilisation de la cellule de 150g. Ces résultats serviront à des fins de comparaison avec les autres séries de tests mais ne seront pas retenus pour quantifier les propriétés mécaniques du cartilage. L'acquisition des données se fera aussi lorsqu'il y aura un changement de position de l'actuateur en plus d'un changement de la force.

Les résultats de chacune des deux premières séries sont similaires. Pour les modules, au pic et à l'équilibre des derniers étirements des deux séries, les résultats, en utilisant le t-test non-pairé, ne montrent aucune différence significative (Pic, série 1 : $p=0.5795$) (Équi, série 1 : $p=0.5680$) (Pic, série 2 : $p=0.6647$) (Équi, série 2 : $p=0.5049$). Pour les pentes, au pic et à l'équilibre, les résultats, en utilisant le t-test non-pairé, ne montrent aucune différence significative (Pic, série 1 : $p=0.3768$) (Équi, série 1 : $p=0.7016$) (Pic, série 2 : $p=0.9867$) (Équi, série 2 : $p=0.6360$). Le ratio des modules à l'équilibre sur le module au pic ne montre pas de différence statistique pour la série 1 ($p=0.9164$), alors qu'il y a une différence significative pour la série 2 ($p=0.0042$). Étant donné le faible échantillonnage des deux séries et le peu de précision, il est possible de déduire que la différence entre les montages a eu des effets négligeables sur les résultats obtenus. Les résultats seront donc combinés afin de les comparer avec les autres séries de tests.

Les vitesses d'étirements réelles obtenues incluent l'accélération et la décélération de l'actuateur. Ces vitesses ne sont pas précises à cause du peu de points obtenus. Les vitesses calculées inférieures à $5 \mu\text{m/sec}$ n'ont pas été retenues. La vitesse d'étirement calculée est constante pour ces deux séries de tests.

II.2.2 Résultats compilés des séries A et B

Neuf tests ont été effectués, dont un incomplet, lui manquant les trois dernières relaxations de la deuxième série d'étirements. Les modules au pic et à l'équilibre du dernier étirement de la première série ont une valeur moyenne de respectivement 14.71 ± 4.70 MPa et 5.49 ± 1.80 MPa. Pour la deuxième série, les valeurs moyennes sont de 13.43 ± 2.39 MPa et de 5.29 ± 2.26 MPa. Les pentes moyennes de l'accroissement des 4 modules (pic et équilibre pour chacune des deux séries) sont présentées au tableau II.3.

Tableau II.3. Résultats compilés des pentes des modules pour les séries A et B.

	Pente des modules à l'équilibre (MPa/%)	Pente des modules au pic (Mpa/%)
Série 1	1.2 ± 0.5	2.8 ± 0.9
Série 2	1.2 ± 0.7	3.2 ± 0.8

Le ratio module équilibre sur module au pic est de, pour la première série, 38.8% (pente de la régression linéaire) avec un coefficient de corrélation de 0.8721, et, pour la deuxième série, 44.8% avec $r = 0.8521$. La vitesse d'étirement calculée à partir du fichier de résultats est de 10.13 ± 2.14 $\mu\text{m/s}$.

II.3 Résultats de la série de test C

Sept tests comportant les deux séries ont été faits, incluant un test incomplet causé par une panne d'électricité. Les modules au pic et à l'équilibre du dernier étirement ont une valeur moyenne de respectivement 31.00 ± 12.94 MPa et 13.87 ± 6.37 MPa (figure II.6). Pour la deuxième série, les valeurs moyennes sont de 32.91 ± 13.34 MPa et de 18.93 ± 7.79 MPa (figure II.6). Les pentes moyennes de l'accroissement des 4 modules (pic et équilibre pour chacune des deux séries) sont les suivantes (tableau II.4):

Tableau 11.4. Résultats des pentes des modules pour la série C.

	Pente des modules à l'équilibre (MPa/%)	Pente des modules au pic (Mpa/%)
Série 1	2.1 ± 1.0	5.0 ± 1.9
Série 2	4.0 ± 1.5	7.2 ± 2.6

Le ratio module équilibre sur module au pic est de, pour la première série, 44.8% (pente de la régression linéaire) avec un coefficient de corrélation de 0.9417, et, pour la deuxième série, 57.3% avec $r = 0.9765$ (figure II.7). L'accroissement moyen en fonction des étirements de la décroissance du dernier 2 heures de relaxation est de 0.0381 Mpa/heure par % pour la série 1 avec un coefficient de corrélation de 0.3547 (figure II.8). L'accroissement moyen en fonction des étirements de la décroissance du dernier 2 heures de relaxation est de 0.0792 Mpa/heure par % pour la série 2 avec un coefficient de corrélation de 0.6109 (figure II.8). La vitesse d'étirement calculée à partir du fichier de résultats est de $14.18 \pm 1.15 \mu\text{m/s}$.

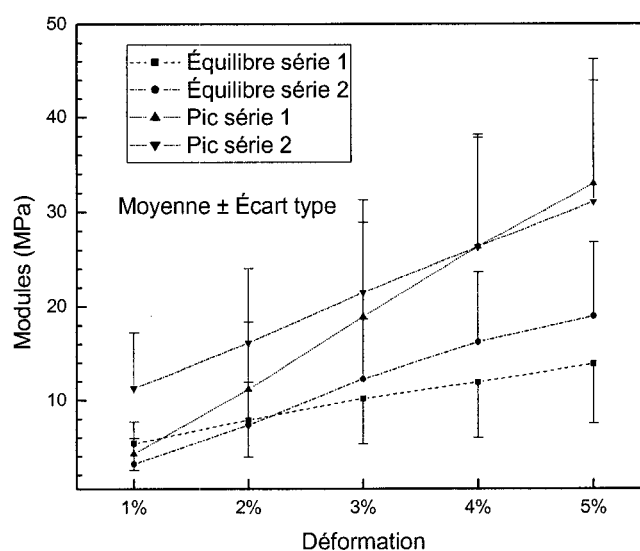


Figure II.6. Modules à l'équilibre et au pic obtenus des tests de la série C.

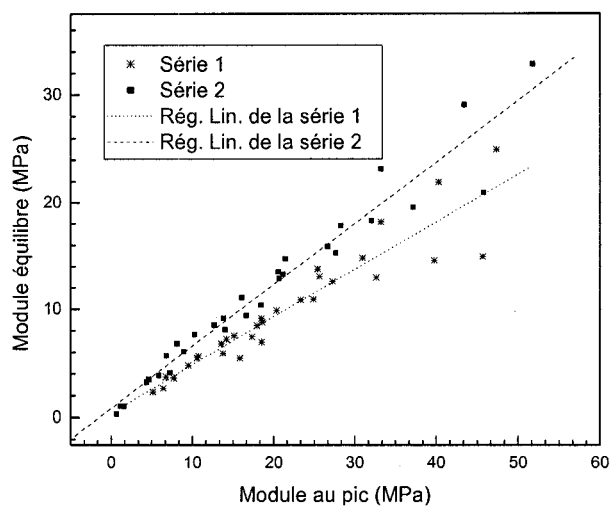


Figure II.7. Graphique des modules à l'équilibre en fonction des modules au pic respectifs des tests de la série C.

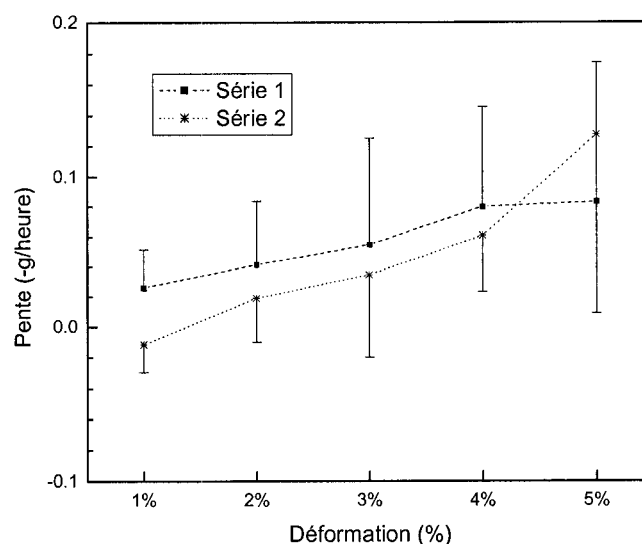


Figure II.8. Graphique de la décroissance de la fin des relaxations des tests de la série C.

II.3.1 Discussion et comparaison de la série de tests C

Les résultats de cette série sont plus élevés que ceux des séries A et B ensemble. La seule similitude est le ratio des modules pic/équilibre pour la série 1. Pour les modules au pic et à l'équilibre des derniers étirements des deux séries les résultats, en utilisant le t-test non-pairé, montrent une différence très significative (Pic, série 1 : $p=0.0039$) (Équilibre, série 1 : $p=0.0022$) (Pic, série 2 : $p=0.0015$) (Équilibre, série 2 : $p=0.0005$). Pour les pentes, au pic et à l'équilibre, les résultats, en utilisant le t-test non-pairé, montrent une différence significative pour la série 1 (Pic, série 1 : $p=0.0102$) (Équi, série 1 : $p=0.0473$). Les résultats sont extrêmement significatifs pour la série 2 (Pic, série 2 : $p=0.0006$) (Équi, série 2 : $p=0.0003$). Le ratio des modules à l'équilibre sur le module au pic ne montre pas de différence statistique pour la série 1 ($p=0.2290$), alors qu'il y a une différence significative pour la série 2 ($p=0.0279$). Il faut noter que le ratio

des modules pour la série 2 ne montre aucune différence entre les séries de tests B et C ($p=0.6912$). Finalement, la croissance de la pente en fin de relaxation avec les étirements, en utilisant un test ANOVA pairé, est statistiquement significative (série 1 : $p<0.0001$) (série 2 : $p<0.0001$), donc pratiquement impossible que la moyenne de chaque étirement soit pareille.

La vitesse d'étirement calculée de cette série est de $14.18 \pm 1.15 \mu\text{m/s}$ contrairement à $10.13 \pm 2.14 \mu\text{m/s}$ pour les séries précédentes. L'amélioration de l'acquisition des données est sans doute la source de cet écart. La vitesse d'étirement est fort probablement identique pour tous les tests.

L'écart des résultats est difficile à expliquer, étant donné que l'unique différence, au niveau du montage, est le changement de la cellule de charge. Les résultats des tests faits par la suite (séries D et E) tendent à montrer une similitude avec les résultats des séries A et B. L'hypothèse retenue pour expliquer cette différence est la variation qu'il peut y avoir entre les tissus biologiques provenant de sujets différents. Par exemple, l'article soumis montre une importante différence en fonction de l'âge. Étant donné que tous les échantillons proviennent d'épaules adolescentes, la variation peut provenir d'un ou des paramètres n'étant pas sous notre contrôle (par exemple, différentes lignées de bœufs).

Le HBSS, solution utilisée pour faire les tests, contient du *Phenol Red*, ce qui confère à cette solution la propriété de changer de couleur en fonction du pH. À pH acide, la solution devient jaune, alors qu'elle devient mauve à pH basique. À pH physiologique, la solution est orange-rouge. Or, il a été remarqué que le pH de cette solution devenait basique (mauvâtre) à la fin d'un test. Par la suite, différents tests ont été effectués, et le pH de cette solution augmente lorsqu'elle est placée à l'air libre. Une présentation des tests effectués sur le pH ainsi qu'une modélisation sommaire de cette solution sont présentées à l'annexe 4. Aussi, l'impact d'une augmentation du pH, de 7.3 à 8.3, sur la

réponse du cartilage en tension n'a fait l'objet d'aucune étude publiée. Il est donc impossible de savoir quel est l'impact de cette augmentation de pH sur les résultats.

En plus, le faible volume de la chambre télescopique rendait importante l'évaporation. L'évaporation de la solution dans la chambre télescopique, en plus de causer une augmentation de la salinité de la solution, augmente la force sur la cellule de charge, alors que l'évaporation de l'eau du bain diminue cette force. Quelques tests ont été faits afin de quantifier l'effet de l'évaporation, mais ils n'ont apporté aucun résultat concluant. Un test montre que les deux effets de l'évaporation se balancent, alors qu'un autre montre une augmentation de la force. Aussi, l'augmentation de la concentration de sel pourrait avoir un impact sur la réponse mécanique obtenue. Une augmentation de la salinité augmente l'écrantage entre les charges négatives des PGs, ce qui diminue la répulsion et diminue la réponse mécanique (phénomène expliqué dans l'article soumis, chapitre 2). Étant donné que les variations de la solution ont été observées à la fin de cette série de tests, il n'y a aucune donnée quantitative sur le pourcentage d'évaporation.

Ces deux caractéristiques non-désirées sont présentes pour les séries de tests B et C. Elles n'expliquent donc pas l'écart d'amplitude entre les résultats obtenus pour la série C et les deux précédentes. Par contre, la similitude des ratios modules équilibre sur pic entre la série B et C (série 1 et 2) peut être une source de questionnement sur l'impact du changement des caractéristiques de la solution.

Le changement de la cellule de charge et l'amélioration de l'acquisition de données ont permis d'avoir des résultats ayant une précision satisfaisante. Une revue de la littérature et des tests ont été effectués afin de vérifier si le changement des caractéristiques de la solution avait un impact sur les résultats obtenus, mais aucune réponse claire n'a été trouvée. Pour palier à cette incertitude, d'autres séries de tests ont été effectuées afin d'obtenir les propriétés mécaniques du cartilage.

II.4 Résultats de la série de tests D

Quatre tests ont été effectués avec ce montage, dont un incomplet et négligé. Les modules au pic et à l'équilibre du dernier étirement ont une valeur moyenne de respectivement 16.87 ± 9.91 MPa et 2.88 ± 1.66 MPa (figure II.9). Pour la deuxième série, les valeurs moyennes sont de 14.78 ± 8.51 MPa et de 4.78 ± 3.04 MPa (figure II.9). Les pentes moyennes de l'accroissement des 4 modules (pic et équilibre pour chacune des deux séries) sont les suivantes (tableau II.5):

Tableau II.5. Résultats des pentes des modules pour la série D.

	Pente des modules à l'équilibre (MPa/%)	Pente des modules au pic (Mpa/%)
Série 1	0.0 ± 0.3	2.8 ± 2.0
Série 2	$1.1 \pm .77$	3.3 ± 0.8

Le ratio module équilibre sur module au pic est de, pour la première série, 15.1% (pente de la régression linéaire) avec un coefficient de corrélation de 0.7532, et, pour la deuxième série, 35.1% avec $r = 0.9697$ (figure II.10). La vitesse d'étirement calculée à partir du fichier de résultats est de $14.35 \pm 1.30 \mu\text{m/s}$.

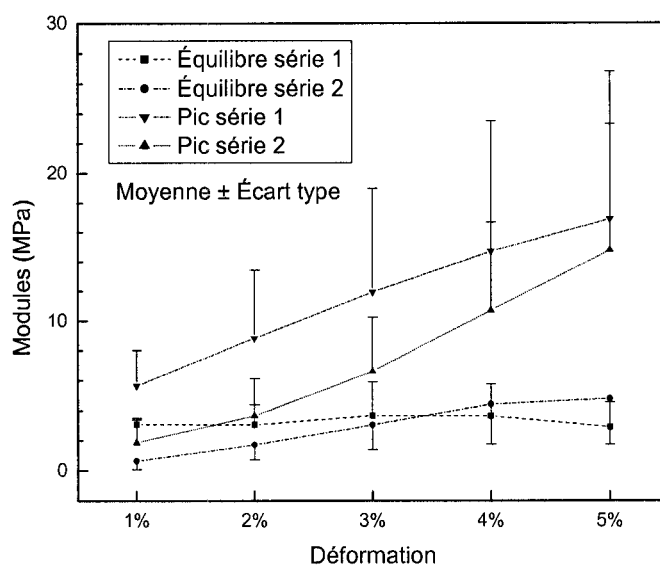


Figure II.9. Modules à l'équilibre et au pic obtenus des tests de la série D.

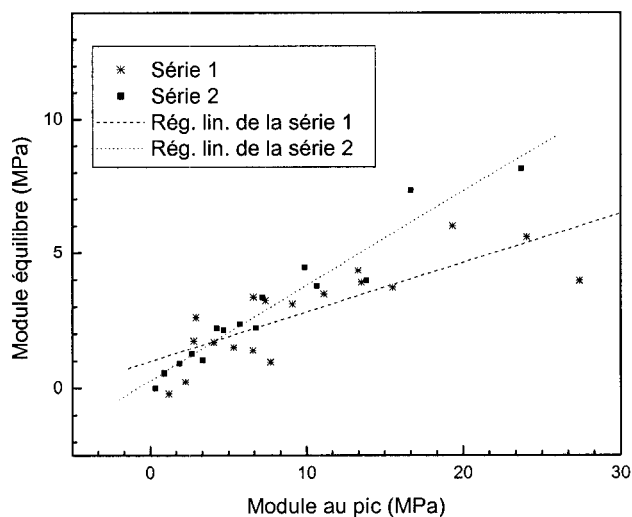


Figure II.10. Graphique des modules à l'équilibre en fonction des modules au pic respectifs des tests de la série D.

II.4.1 Discussion de la série de tests D

Avec ce montage, il est impossible d'effectuer un test stérile. Le maximum d'efforts a été fait pour éviter les contaminations, mais, à chaque test, la solution devenait orange opaque, donc contaminée. Les résultats de cette série de tests ne peuvent donc pas être utilisés pour déduire les propriétés mécaniques du cartilage. Aussi, la problématique de l'évaporation a toujours lieu.

Les résultats ne sont pas comparés statistiquement au test précédent, et ne serviront pas de comparaison à des tests ultérieurs, car l'échantillonnage est trop petit ($n=3$). Évidemment, aucun autre test avec des solutions contaminées ne sera effectué. Brièvement, il semble que la contamination ait affecté les modules à l'équilibre, qui ont une valeur moins élevée que les autres séries de tests, diminuant aussi le ratio module équilibre sur pic.

L'utilisation des milieux de culture avait pour but d'éviter un changement de pH de la solution, mais elle devait aussi permettre de maintenir la viabilité des échantillons lors de ces tests, qui ont une durée de quatre jours. Il est certain, au contraire, que les échantillons n'étaient plus viables à la fin de ces tests.

Les mesures du volume initial et final ont montré qu'environ 40-45% de la solution dans la chambre télescopique s'évapore, mais ces tests ont été faits à 37°C au lieu de la température de la pièce.

II.5 Résultats de la série de tests E

Dix-huit tests ont été effectués avec ce montage, dont quatre incomplets et négligés. Les modules au pic et à l'équilibre du dernier étirement ont une valeur moyenne de respectivement 15.17 ± 5.16 MPa et 4.51 ± 2.09 MPa (figure II.11). Les pentes moyennes de l'accroissement des modules au pic et à l'équilibre sont les suivantes (tableau II.6):

Tableau II.6. Résultats des pentes des modules pour la série E.

	Pente des modules à l'équilibre (MPa/%)	Pente des modules au pic (Mpa/%)
Série 1	0.6 ± 0.4	2.5 ± 0.8

Le ratio module équilibre sur module au pic est de 33.6% (pente de la régression linéaire) avec un coefficient de corrélation de 0.8721 (figure II.12). L'accroissement moyen en fonction des étirements de la décroissance du dernier 2 heures de relaxation est de 0.0529 Mpa/heure par % avec un coefficient de corrélation de 0.6786 (figure II.13). La vitesse d'étirement calculée à partir du fichier de résultats est de 16.23 ± 1.13 $\mu\text{m/s}$.

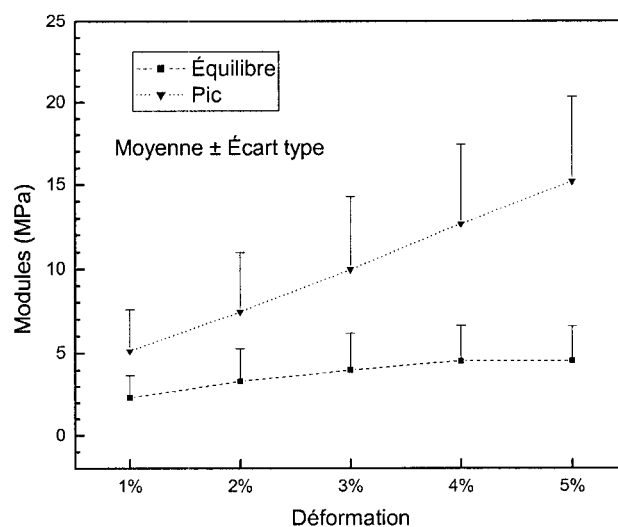


Figure II.11. Modules à l'équilibre et au pic obtenus des tests de la série E.

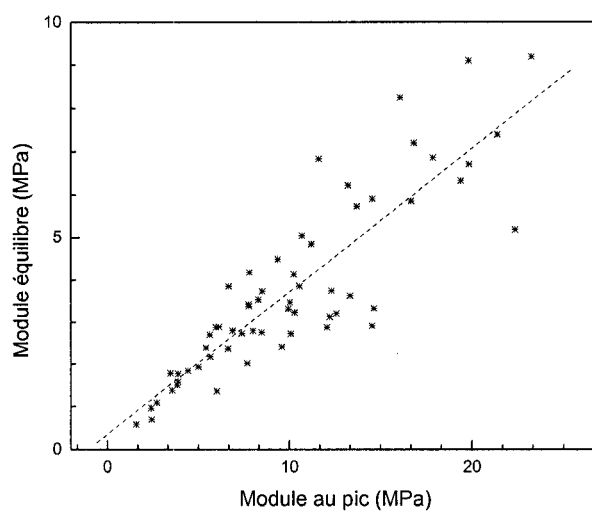


Figure II.12. Graphique des modules à l'équilibre en fonction des modules au pic respectifs des tests de la série E.

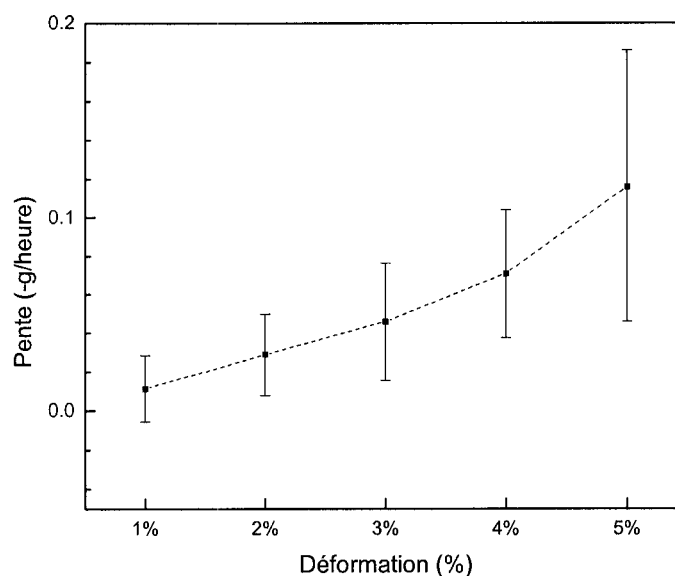


Figure II.13. Graphique de la décroissance de la fin des relaxations des tests de la série E.

II.5.1 Discussion et comparaison de la série de tests E

Les résultats de cette série sont d'amplitudes similaires à celles des séries A et B ensemble. Pour les modules au pic et à l'équilibre des derniers étirements, les résultats, en utilisant le t-test non-pairé, ne montrent pas de différence significative (Pic : $p=0.8366$) (Équi : $p=0.2717$). Pour les pentes des modules au pic, les résultats ne montrent pas de différence significative (Pic : $p=0.3796$), alors que la pente des modules à l'équilibre montre une différence très significative (Équi : $p=0.0027$). Le ratio du module à l'équilibre sur le module au pic ne montre pas de différence statistique ($p=0.2035$).

Les résultats de cette série, étant comparables à ceux des séries A et B ensemble, sont donc plus faibles que la série C. Les résultats de cette série (E) sont comparés aux

résultats de la série 1 de la série C. Pour les modules, au pic et à l'équilibre des derniers étirements, les résultats, en utilisant le t-test non-pairé, montrent, respectivement, une différence très significative et extrêmement significative (Pic, série 1 : $p=0.0020$) (Équi, série 1 : $p=0.0002$). Pour les pentes, au pic et à l'équilibre, les résultats montrent, respectivement, une différence très significative et extrêmement significative (Pic, série 1 : $p=0.0010$) (Équi, série 1 : $p=0.0002$). Le ratio du module à l'équilibre sur le module au pic montre une différence statistique significative ($p=0.0089$). Finalement, la croissance de la pente en fin de relaxation avec les étirements, en utilisant un test ANOVA pairé, est statistiquement significative ($p<0.0001$), donc il est pratiquement impossible que la moyenne de chaque étirement soit pareille. En plus il n'y a pas de différence significative avec la pente de fin de relaxation de la série C ($p=3932$).

La moyenne des pH initiaux, pris avant chaque test, est de 7.36 ± 0.07 et la moyenne des pH finaux, pris à la fin des tests, est de 7.31 ± 0.04 . L'écart moyen entre les pH initiaux et finaux est de -0.04 ± 0.06 . Le pH le plus élevé est de 7.4 et le plus faible est de 7.2. Le pourcentage de diminution du volume, et donc d'évaporation, est de 3.00 ± 1.60 %. La solution peut donc être considérée stable.

L'écart entre les résultats de cette série de tests et des autres séries de tests des modules à l'équilibre est supérieur à l'écart pour les modules transitoires. Un test a montré que l'évaporation pouvait engendrer une augmentation de la force. L'absence de cette augmentation de la force pourrait expliquer que la pente des modules à l'équilibre est inférieur pour cette série de tests. Bien qu'un lien cause à effet irréfutable ne puisse pas être déduit, le montage aurait peut-être un impact sur les résultats des séries B à D obtenus.

De toute manière, une autre série de tests se devait d'être effectuée. En effet, des coupes histologiques de plusieurs échantillons ont été faites sur des échantillons ayant été testés et suite à l'observation de ces coupes histologiques au microscope, il a été remarqué que

le papier sablé 150 induisait des dommages importants à l'échantillon entre les pinces (voir annexe V). Ainsi, un échantillon pouvait être troué proche de la zone où l'échantillon est étiré. Il nous était impossible de déterminer si cela influençait les résultats obtenus. D'autres séries de tests ont donc été effectuées pour contrer à cette incertitude.

II.6 Comparaison des séries 1 et 2

Les deux séries consécutives avaient pour but de vérifier l'élasticité du cartilage. En effet, deux courbes consécutives semblables indiqueraient que l'échantillon n'a subi aucun dommage irréversible, et donc que le cartilage n'a aucune déformation plastique.

II.6.1 Résultats

Afin de comparer les deux séries (1 et 2) de tests, les modules ont été normalisés avec le module au pic du dernier étirement (figures II.14 et II.15). Cette méthode permet d'obtenir des écart types qui correspondent à la variation du ratio (modules X)/(module au pic du dernier étirement) et elle permet ainsi de mieux évaluer la tendance des tests individuels.

L'incertitude du premier étirement n'est pas affichée sur le graphique étant donné l'erreur plus grande de la cellule de charge.

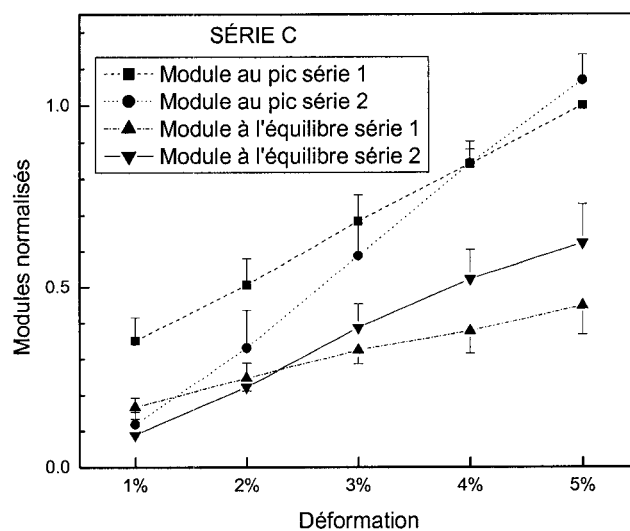


Figure II.14. Comparaison des modules normalisés des séries 1 et 2 au pic et à l'équilibre de la série C.

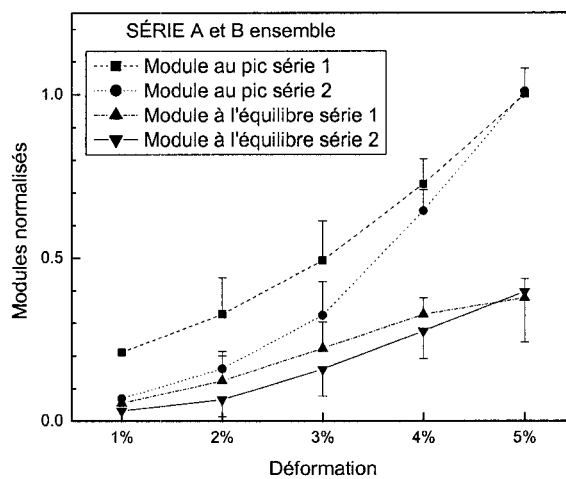


Figure II.15. Comparaison des modules normalisés des séries 1 et 2 au pic et à l'équilibre des séries A et B compilées.

II.6.2 Discussion

Pour chacune des paires de modules (séries 1 et 2 de la même déformation), une analyse statistique a été effectuée et elle indique que le comportement des tests individuels est similaire à celui de la moyenne des tests. Pour la série C, les résultats statistiques confirment les écarts entre les moyennes présentées dans la figure II.14. Pour les résultats des séries A et B compilées, les résultats statistiques confirment les écarts entre les moyennes présentés dans la figure II.15 à l'exception du module au pic du premier étirement. Ces résultats indiquent que chaque test présente un comportement similaire à celui des valeurs moyennes à l'exception du module au pic du premier étirement des séries A et B compilées.

Comme mentionné précédemment, il se peut que ces résultats aient comme source le changement des caractéristiques de la solution et de la grosseur difficilement négligeable des grains du papier sablé. Je crois qu'il est tout de même pertinent de supposer que ces courbes résultent du comportement du cartilage. Bien que ces résultats ne donnent pas des informations directes sur le comportement des différentes composantes, il est possible d'effectuer des hypothèses en se basant sur les informations trouvées précédemment.

Pour la série C, les résultats montrent que les modules au pic des premiers étirements de la deuxième série sont inférieurs à ceux de la deuxième série alors que seulement le module à l'équilibre du premier étirement de la deuxième série est inférieur à celui du premier étirement. En supposant que la section de l'échantillon ne reprend pas son épaisseur initiale (que ce soit causé par un réalignement des fibrilles formant un réseau plus étroit ou une perte de GaGs), il y aurait donc moins de fluide qui entrerait dans le cartilage lors d'un étirement, ce qui diminuerait l'amplitude du pic. Ce réalignement pourrait aussi expliquer le premier module à l'équilibre plus faible. L'échantillon n'ayant pas été étiré à plus de 5% il est normal que les modules au pic aient une

amplitude similaire. Par contre, il est difficile d'expliquer l'augmentation du module à l'équilibre pour les derniers étirements autrement que par l'effet de la solution (ou évaporation) sur les résultats.

Pour les séries A et B ensemble, le comportement des modules au pic est similaire à celui de la série C. Par contre, les résultats montrent que les modules à l'équilibre de la deuxième série sont plus élevés que ceux de la première série à l'exception du dernier étirement. Le manque de précision des résultats est peut-être la cause de ces différences entre les séries.

En plus, malgré que le cartilage *in-vivo* puisse subir des milliers de compressions sans qu'il y ait dégradation, ces résultats suggèrent que les échantillons testés en tension subissent des dommages irréversibles lors des déformations. Ainsi, les différentes coupes appliquées à l'échantillon avant les tests tranchent les fibres de collagène situées aux extrémités de l'échantillon, ce qui défait l'équilibre interne des échantillons. Par exemple, lorsqu'il est défait de l'os, le cartilage courbe, libérant ainsi la pression interne présente *in-vivo* (Setton et al. 1998). Les échantillons provenant des zones autres que la surface articulaire sont beaucoup plus affectés par ces coupes faites pour obtenir l'échantillon. Au chapitre 7, des photos montrent que la surface d'un échantillon provenant de la zone profonde est supérieure à celle d'un échantillon de la zone médiane qui elle va être supérieure à celle de la surface articulaire. Il a été conclu que l'orientation planaire des fibres de collagène à la surface articulaire empêcherait la déformation de l'échantillon. Les échantillons testés, même s'ils proviennent de la surface articulaire, courbent légèrement (qualitatif), montrant ainsi que la coupe affecte l'équilibre interne de l'échantillon. La non-élasticité montrée par les résultats est donc normale.

Annexe III. Résultats détaillés des tests sous-microscopie présentés au chapitre 6

Ce chapitre présente les résultats des étirements sous microscope qui n'ont pas été présentés dans l'article soumis présenté au chapitre 7. La technique utilisée pour obtenir les résultats de ce chapitre est identique à celle utilisée pour les tests présentés dans l'article, à l'exception que les étirements sont de 1% (40 microns) sans étirement initial de 1% (40 microns).

En premier lieu, il y a une présentation des résultats obtenus avec le protocole d'étirement de 1%. Ensuite, une discussion des résultats obtenus est présentée et celle-ci inclut une comparaison avec les résultats présentés dans l'article soumis. Finalement, une présentation et une discussion des résultats obtenus des photos qui étaient prises 24 heures après le dernier étirement terminent cette section.

Plusieurs tests n'ont pas été retenus à cause de la difficulté de trouver les mêmes cellules sur chacune des photos prises. Les résultats présentés ici proviennent de photos montrant clairement les mêmes cellules.

III.1 Étirements de 1%

Huit tests ont été effectués, incluant 4 tests qui n'ont pas été retenus par manque de précision. Ces tests ont été effectués sur des épaules adolescentes. Aussi, la distance initiale, 4 mm, est déterminée avec le micromètre. L'étirement initial est de 1%.

III.1.1 Résultats

La déformation longitudinale est constante sur toute la longueur et la largeur de l'échantillon, avec une moyenne de 3.83 ± 0.65 % pour la déformation induite de 0% à 5% (figure III.1). La déformation transversale varie grandement en fonction de la position dans la longueur entre les pinces de l'échantillon. Elle est proche de 0 sur le bord des pinces, alors qu'elle atteint 6.41 ± 1.65 % au centre (figure III.2). La nomenclature des graphiques ci-dessous est la même que celle de l'article soumis du chapitre 7.

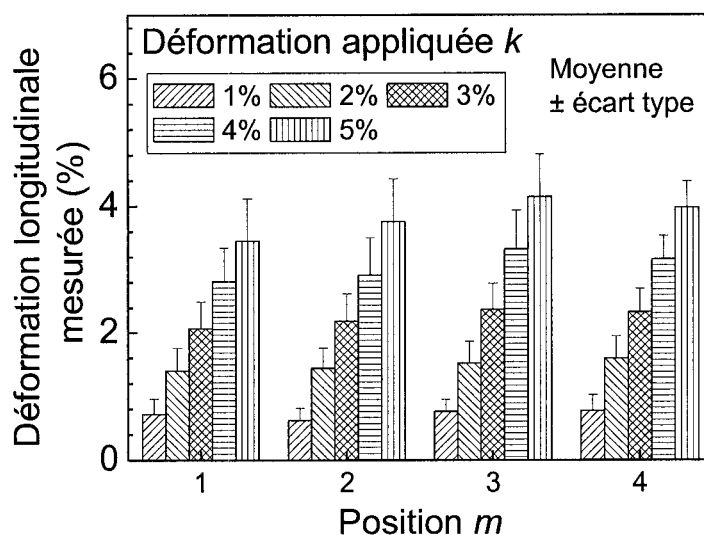


Figure III.1. Résultats de la déformation longitudinale mesurée en fonction de la longueur pour les étirements de 1%.

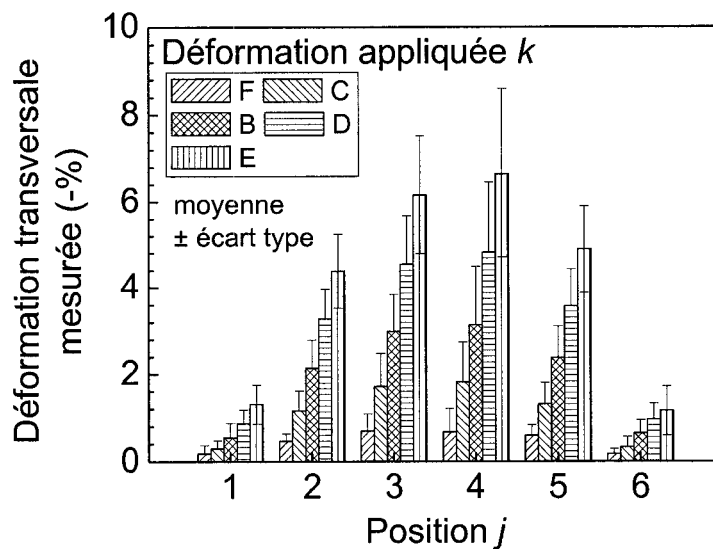


Figure III.2. Résultats de la déformation transversale mesurée en fonction de la longueur pour les étirements de 1%.

L'augmentation de la déformation longitudinale est constante entre chacune des déformations pour chaque position. Ainsi, la croissance de la déformation entre chaque étirement demeure constante. L'analyse statistique n'a montré aucune différence significative. Pour les positions $j = 1$ et $j = 6$ de la déformation transversale mesurée, donc sur le bord des pinces, la croissance de la déformation est constante. Il n'y aucune différence statistiquement significative pour l'augmentation des déformations. Pour les positions $j = 2$ à $j = 5$, la tendance est que la déformation des derniers étirements est supérieure à celle des premiers étirements.

Tableau III.1. Résultats de l'analyse statistique comparant les résultats des étirements de 1% et de 2% en fonction des étirements et de la position ($j = 2$ à 5).

	2	3	4	5
1% vs 2%	$P > 0.05$	$P > 0.05$	$P > 0.05$	$P > 0.05$
1% vs 3%	$P < 0.01$	$P < 0.01$	$P < 0.001$	$P < 0.001$
1% vs 4%	$P < 0.001$	$P < 0.001$	$P < 0.001$	$P < 0.001$
1% vs 5%	$P < 0.001$	$P < 0.001$	$P < 0.001$	$P < 0.001$
2% vs 3%	$P < 0.05$	$P > 0.05$	$P > 0.05$	$P < 0.05$
2% vs 4%	$P < 0.001$	$P < 0.01$	$P < 0.001$	$P < 0.01$
2% vs 5%	$P < 0.001$	$P < 0.01$	$P < 0.001$	$P < 0.01$
3% vs 4%	$P > 0.05$	$P > 0.05$	$P < 0.01$	$P > 0.05$
3% vs 5%	$P > 0.05$	$P > 0.05$	$P < 0.001$	$P > 0.05$
4% vs 5%	$P > 0.05$	$P > 0.05$	$P > 0.05$	$P > 0.05$

III.1.2 Discussion

Les résultats des étirements de 2%, présentés dans l'article, montrent une augmentation du pourcentage d'étirement entre les premiers et derniers pas pour les déformations longitudinales pour $m = 2$ et 3 et ainsi que pour les déformations transversales. Pour les étirements de 1%, aucune augmentation du pourcentage de déformation n'est perceptible pour la déformation longitudinale, alors que la déformation transversale montre une augmentation similaire aux étirements de 2%. En plus du faible échantillonnage des étirements de 1%, l'erreur associée à ces résultats est approximativement de $\pm 0.25\%$, ce qui peut influencer les résultats.

Afin de comparer l'amplitude des résultats, les déformations obtenues des étirements de 1% ont été multipliées par deux (figure III.3; figure III.4).

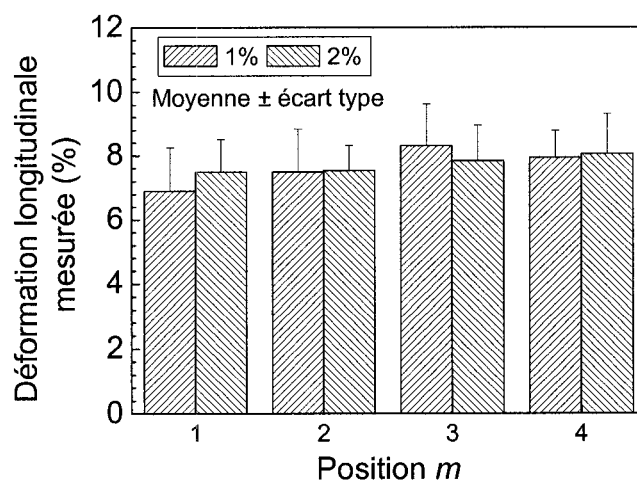


Figure III.3. Comparaison des résultats des déformations longitudinales mesurées (1% et 2%).

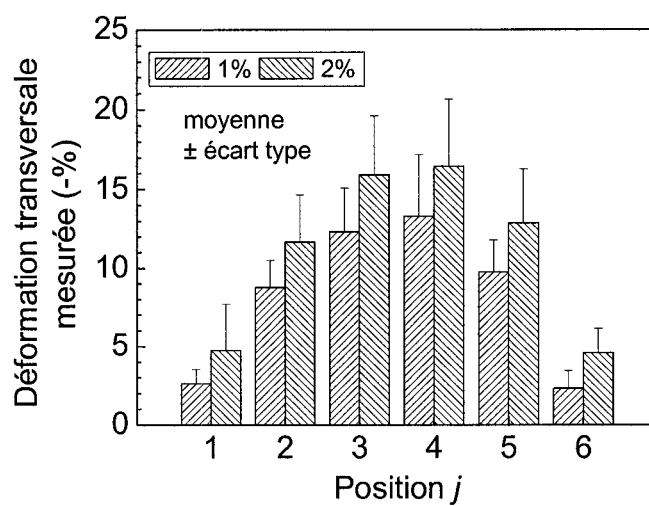


Figure III.4. Comparaison des résultats des déformations transversales mesurées (1% et 2%).

La comparaison des résultats des déformations longitudinales des deux séries de tests, 1% et 2% présente des résultats similaires. L'analyse statistique ne montre aucune différence. Par contre, la déformation transversale des étirements de 1% est inférieure aux étirements de 2% pour les déformations longitudinales. L'analyse statistique montre une différence significative pour les colonnes $j = 3$ et $j = 5$ ($p=0.0231$ et $p=0.0342$, respectivement) et très significative pour la colonne $j = 6$ ($p=0.0023$).

Les résultats des étirements de 1% sous microscope confirment les résultats présentés dans l'article soumis du chapitre 7. Les déformations calculées présentées dans ce chapitre sont inférieures à la déformation induite d'environ 0.25% par étirement. Les déformations calculées présentées dans l'article sont inférieures à la déformation induite d'environ 0.5% par étirement. Les résultats sont donc similaires pour les déformations longitudinales.

Les déformations transversales calculées pour les déformations de 1% sont inférieures aux déformations transversales calculées pour les déformations de 2%. Cette augmentation de la déformation entre chaque pas est sans doute causée par le premier étirement qui n'est pas tout à fait en tension. Il faut noter que le système d'attache de l'échantillon est le même pour les deux séries de tests. L'amplitude de l'étirement initial des déformations de 1% est inférieure à celle des étirements de 2%. Ainsi, le décourbage de l'échantillon n'entraîne pas de déformation transversale car l'échantillon n'est pas en tension. Par contre, ce décourbage a un impact inférieur sur les déformations longitudinales car même si l'échantillon n'est pas déformé la distance entre les cellules va s'accroître et ainsi montrer une déformation.

III.2 Déformation après 24 heures

Les tests mécaniques montrent une relaxation très longue de plusieurs heures. Des photos sur des échantillons étirés jusqu'au cinquième pas (5% ou 10%) depuis ~24 heures ont été prises sous microscope sur certains échantillons afin de vérifier si les dimensions de l'échantillon variaient sur une longue période sans changer la déformation induite. Ainsi, les positions relatives des cellules entre elles mesurées sur des photos de l'échantillon prises à la suite du dernier étirement sont comparées à celles des photos prises approximativement 24 heures plus tard.

III.2.1 Résultats

Il a été possible de prendre ces photos sur 5 échantillons, dont trois étirés jusqu'à 5% et deux étirés jusqu'à 10%. Sur la majorité des photos prises après 24 heures, il était impossible de retracer les mêmes cellules et ainsi de mesurer la distance entre les mêmes cellules. Afin de comparer ces 5 résultats simultanément, les résultats obtenus des étirements de 1% ont été multipliés par deux. L'incertitude liée à la méthode est donc supérieure à 0.25%.

La distance longitudinale entre les cellules montre peu de variation en fonction du temps (figure III.5). La moyenne globale de la variation de la distance entre les cellules est de 0.09 ± 0.52 %. En considérant la moyenne de toutes les distances longitudinales entre les cellules, un t-test ne montre aucune différence significative avec une variation nulle ($p=0.1772$). Par contre, en effectuant des tests statistiques sur chacune des positions sur la longueur ($m=1$ à 4), la variation de la distance des cellules situées à la position $m=2$ est supérieure à une variation nulle d'une façon extrêmement significative ($p=0.0007$), alors qu'il n'y a aucun écart significatif avec la variation nulle pour les autres positions.

Par contre, la distance transversale entre les cellules montre une variation plus importante en fonction du temps (figure III.6). La moyenne globale est de -0.90 ± 1.00 %. Les variations obtenues sont négatives, suggérant ainsi que la largeur de l'échantillon diminue. En considérant la moyenne de toutes les distances transversales entre les cellules, un t-test montre une différence extrêmement significative d'avec une déformation nulle. En effectuant des tests statistiques sur chacune des positions sur la longueur ($j=1$ à 6), seule la position $j=1$ ne montre aucune variation statistiquement significative.

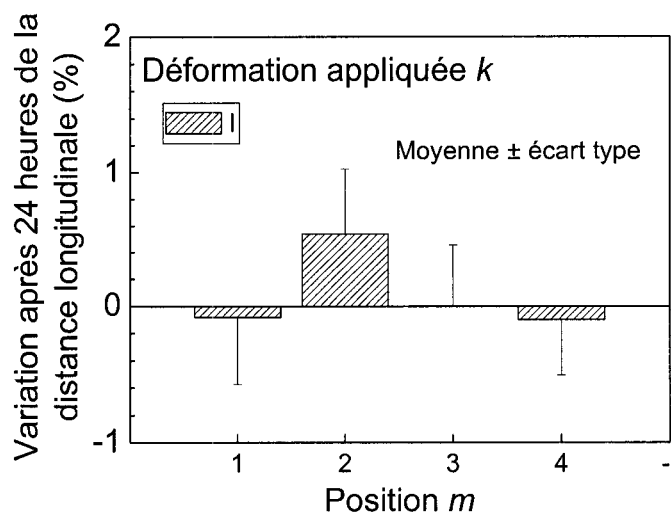


Figure III.5. Variation de la distance longitudinale entre les cellules après une attente de 24 heures.

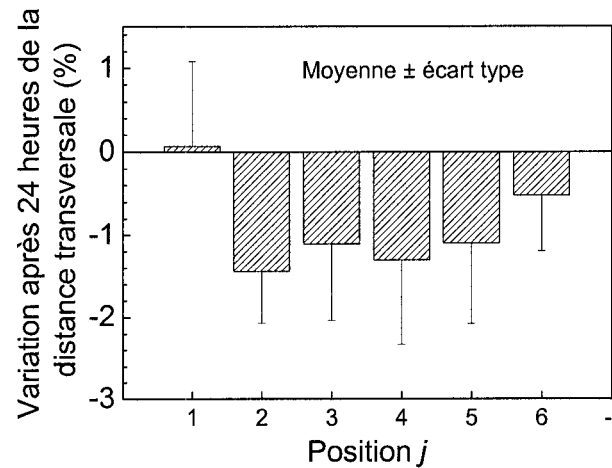


Figure III.6. Variation de la distance longitudinale entre les cellules après une attente de 24 heures.

III.2.2 Discussion

Les résultats obtenus suggèrent que la largeur de l'échantillon diminue après une longue période de temps. Cette diminution de la largeur coïnciderait donc avec l'hypothèse concernant la relaxation présentée au chapitre 8, qui explique que la diminution de l'épaisseur, et donc une sortie du fluide, causerait la relaxation. Il est par contre impossible, avec ces résultats, de déterminer la variation de la déformation transversale à la suite d'un étirement en fonction du temps et ainsi d'effectuer une comparaison précise entre la diminution de la largeur et la relaxation. L'incertitude reliée à cette méthode est d'environ $\pm 0.25\%$ et la décoloration des cellules pouvait rendre imprécise l'identification des cellules ce qui rendrait difficile de détecter une déformation sur une courte période de temps.

Annexe IV. Milieu Tampon

Au cours de ce projet, il a été remarqué que le pH du HBSS placé à l'air libre augmentait. Suite à ces observations, des expériences et une modélisation sommaire, n'incluant pas les coefficients d'activité des différentes composantes et excluant les composantes autres que les ions carbonates et phosphates, ont été effectuées sur cette solution.

En premier lieu, une présentation des résultats des expériences est effectuée. Ensuite, le développement et les résultats de la modélisation de la solution sont effectués. Le HBSS contient des ions carbonates, phosphates et sulfates, et chacun d'eux peut servir de tampon dans une solution. Faute de temps, la modélisation inclut les ions carbonates et phosphates, mais n'inclut pas les ions sulfates. Aussi, les coefficients d'activité ne sont pas inclus. Finalement, une brève discussion termine cette annexe.

IV.1 Résultats expérimentaux

Le HBSS utilisé dans le laboratoire est sous forme liquide (no 14060 du catalogue de Gibco BRL). Il faut ajouter 900ml d'eau à 100 ml d'HBSS. Ensuite, 4.7ml d'une solution 7.5% bicarbonate de sodium est ajouté. Le pH à ce moment est près du pH physiologique (~7.3), si la solution contenant le bicarbonate de sodium vient d'être fabriquée. Ensuite, le pH de la solution augmente jusqu'à environ 8 à 8.3 lorsqu'elle est placée à l'air libre pour plusieurs heures. 3 tests ont été effectués.

1^{er} test : Une solution de HBSS ayant un pH initial de 8.05 a été placée dans trois contenants : un tube 15ml fermé, un tube 15 ml ouvert et dans la chambre télescopique. Après 48 heures, les pH étaient les suivants : 8.05 pour le tube fermé, 8.33 pour le tube ouvert et 8.55 pour la chambre télescopique. Il faut noter qu'il y avait de l'évaporation dans la chambre télescopique.

2^e test : Une solution de HBSS ayant un pH initial de 7.35 a été placée dans deux contenants : un tube 15ml fermé et un tube 15 ml ouvert. Après 24 heures, les pH étaient de 7.79 et de 8.32, respectivement.

3^e test : Une solution de HBSS ayant un pH initial de 7.33 a été placée dans trois contenants : 10ml dans un tube 15ml ouvert, 40ml dans un tube de 50ml ouvert et 10ml dans un tube de 50ml ouvert. Après 29 heures, le pH est devenu, respectivement, 7.97, 8 et 8.16. Après 48 heures, le pH est devenu, respectivement, 7.99, 7.98, et 8.1. Qualitativement, il semble que plus le volume est petit, plus le pH augmente rapidement.

Ces résultats montrent que la solution de HBSS a un pH qui s'élève autour de 8-8.3 lorsqu'elle atteint l'équilibre après une certaine période de temps

IV.2 Modélisation

La composition du HBSS 14060 de Gibco BRL est la suivante :

Tableau IV.1. Liste des éléments composant le HBSS ainsi que leur concentration.

Composante	g dans 1 litre	g/mol	M (mol/l)
CaCl ₂ (anhyd)	0.14	110.9834	0.00126145
KCl	0.4	74.551	0.005365455
KH ₂ PO ₄	0.06	135.06172	0.000444241
MgCl ₂ •6H ₂ O	0.1	203.218	0.000492082
MgSO ₂ •7H ₂ O	0.1	214.4826	0.000466238
NaCl	8	58.44247	0.136886754
Na ₂ HPO ₄ •7H ₂ O	0.09	119.9614	0.000750241
D-Glucose (C ₆ H ₁₂ O ₆)	1	180.15768	0.005550693
Phenol Red (C ₁₉ H ₁₃ O ₅ Na)	0.01	376.36499	2.657E-05
NaHCO ₃	0.35	84.00691	0.004166324
		Totale :	0.155410049

Les ions carbonates sont fournis par le carbonate de sodium, NaHCO₃, alors que les ions phosphates sont fournis par KH₂PO₄ et Na₂HPO₄.

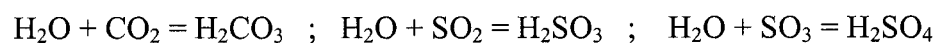
IV.2.1 Données fournies dans la littérature

Les équations pour chacun des éléments susceptibles d'influencer le pH sont les suivantes :

Tableau IV.2. Constante d'équilibre des composantes influençant le pH.

Équation d'équilibre	Constante d'acidité
$\text{H}_3\text{PO}_4 = \text{H}^+ + \text{H}_2\text{PO}_4^-$	$K_a = 7.5 \times 10^{-3}$
$\text{H}_2\text{PO}_4^- = \text{H}^+ + \text{HPO}_4^{--}$	$K_a = 6.2 \times 10^{-8}$
$\text{HPO}_4^{--} = \text{H}^+ + \text{PO}_4^{---}$	$K_a = 4.2 \times 10^{-13}$
$\text{H}_2\text{CO}_3 = \text{H}^+ + \text{HCO}_3^-$	$K_a = 4.3 \times 10^{-7}$
$\text{H}_2\text{O} + \text{CO}_2 = \text{H}^+ + \text{HCO}_3^-$	$K_a = 4.47 \times 10^{-7}$
$\text{HCO}_3^- = \text{H}^+ + \text{CO}_3^{--}$	$K_a = 5.6 \times 10^{-11}$
$\text{H}_2\text{SO}_3 = \text{H}^+ + \text{HSO}_3^-$	$K_a = 1.7 \times 10^{-2}$
$\text{HSO}_3^- = \text{H}^+ + \text{SO}_3^{--}$	$K_a = 6.4 \times 10^{-8}$
$\text{H}_2\text{SO}_4 = \text{H}^+ + \text{HSO}_4^-$	$K_a = \text{large}$
$\text{HSO}_4^- = \text{H}^+ + \text{SO}_4^{--}$	$K_a = 1.2 \times 10^{-2}$
$\text{OH}^- + \text{H}^+ = \text{H}_2\text{O}$	$K_w = 10^{-14}$

Les réactions avec les molécules d'eau:



Les constantes d'Henry :

$$K_H (25^\circ\text{C}) (\text{mol}/(\text{l}\cdot\text{atm})) : \text{CO}_2 = 3.39\text{e-}2 \quad ; \quad \text{SO}_2 = 1.47$$

Pression partielle de CO_2 et de SO_2 dans l'air ambiant :

$$P_{\text{CO}_2} = 0.0003 \text{ atm} \quad ; \quad P_{\text{SO}_2} = 0 \text{ atm}$$

IV.2.2 Développement mathématique

Les relations d'équilibre utilisées, parmi les réactions précédentes, sont les suivantes :

Tableau IV.3. Équations d'équilibre incluses dans le développement mathématique.

Éq. 1	$[H^+][HPO_4^{2-}] / [H_2PO_4^-] = 6.2 \times 10^{-8}$
Éq. 2	$[H^+][HCO_3^-] / [CO_2] = 4.47 \times 10^{-7}$
Éq. 3	$[H^+][OH^-] = 10^{-14}$
Éq. 4	$[CO_2] = K_H P_{CO_2}$

Deux équations supplémentaires se rajoutent aux équations précédentes, il s'agit des équations de la conservation de la quantité de phosphate et de la condition d'électroneutralité. En posant que a est la quantité initiale de $H_2PO_4^-$ et b la quantité initiale de HPO_4^{2-} , nous avons pour l'équation de conservation de phosphate:

$$\text{Éq. 5 : } [H_2PO_4^-] + [HPO_4^{2-}] = a + b$$

Et pour l'électroneutralité, en posant que la quantité initiale de carbonate de sodium est c :

$$\text{Éq. 6 : } [H_2PO_4^-] + 2 [HPO_4^{2-}] + [OH^-] + [HCO_3^-] = [H^+] + (2b + c) + a$$

Le coté gauche est la sommation des anions et le coté droit est la sommation des cations, ou $(2b + c)$ est la concentration des ions sodium (Na^+) et a est la quantité des ions potassium (K^+). Les sels ne sont pas inclus car leurs charges s'annulent.

Au total, nous avons 6 inconnues et 6 équations, ce qui nous permet d'obtenir une équation de l'une de ces inconnues. Les concentrations a , b et c ainsi que la constante d'Henry et la pression partielle de CO_2 dans l'air ambiant sont connues. Nous éliminerons donc toutes les concentrations sauf celles de $[H^+]$, nous permettant ainsi d'obtenir le pH et de faire varier cette concentration en fonction des concentrations

initiales. L'équation obtenue est du 6^e degré et n'est pas dans ce rapport car elle est trop complexe pour pouvoir tirer directement des conclusions.

IV.2.2.1 Courbe de pH en fonction de la concentration initiale de carbonate de sodium

Les calculs ont été effectués avec le logiciel *Mathematica 4.0*. En entrant les concentrations initiales a et b ainsi que les valeurs de k_H et P_{CO_2} , nous obtenons la courbe suivante :

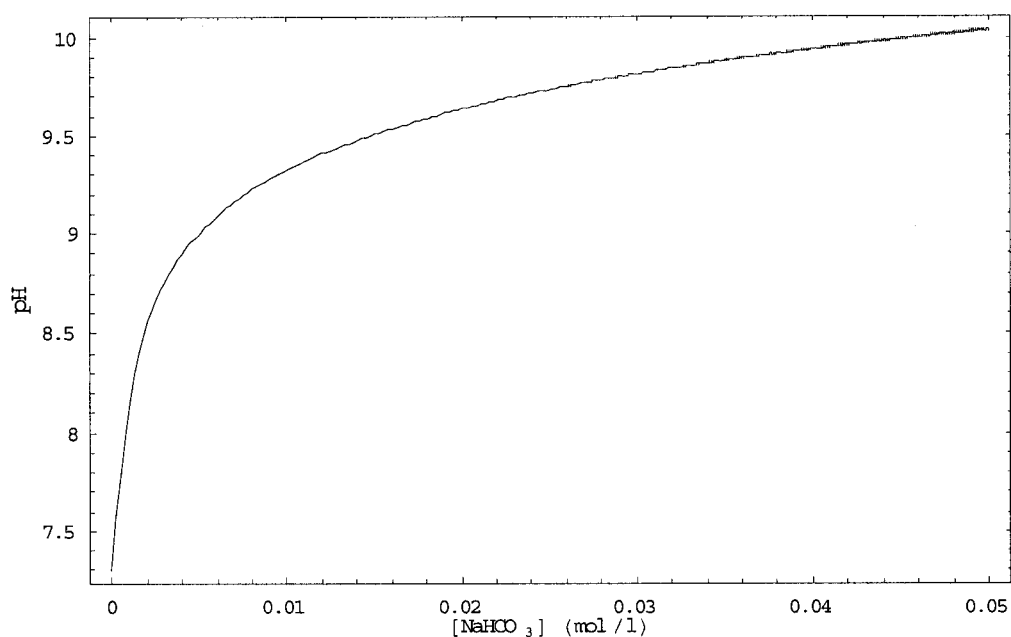


Figure IV.1. Courbe du pH en fonction de la concentration de $NaHCO_3$ avec $P_{CO_2}=0.0003$ (ce qui correspond à la pression partielle de CO_2 dans l'air ambiant).

Le pH théorique lorsque $NaHCO_3 = 0.00417$ mol/l est de 8.92. Ce qui est de beaucoup supérieur au pH physiologique.

On voit que le pH augmente avec une augmentation de la concentration de carbonate de sodium. On ajoutant des ions HCO_3^- dans le milieu, il y a formation de CO_2 , et donc une consommation des ions H^+ , ce qui augmente le pH. En plus dans l'article de Gray et al. (1988), p.789, une courbe similaire est fait pour le DMEM, un milieu ayant un pH physiologique avec un pression partielle de CO_2 de 0.05 atm. Pour ce milieu, la quantité de carbonate de sodium à rajouter est de 1.2 g/l. Avec ces données, nous obtenons la courbe suivante :

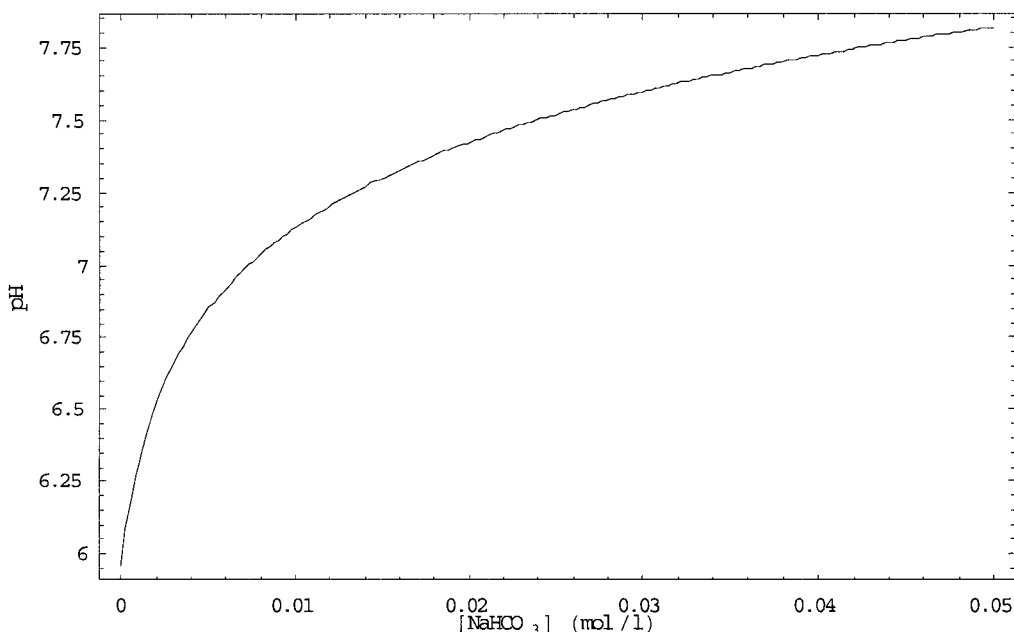


Figure IV.2. Courbe du pH en fonction de la concentration de NaHCO_3 avec $P_{\text{CO}_2}=0.05$.

Le pH théorique, lorsque la concentration initiale est de 0.0143 M, est de 7.28. Ce qui correspond au pH physiologique. Cette courbe correspond bien à celle montrée dans l'article de Gray et al. (1988), p.789.

IV.2.2.2 Courbe de pH en fonction de la pression partielle de CO_2

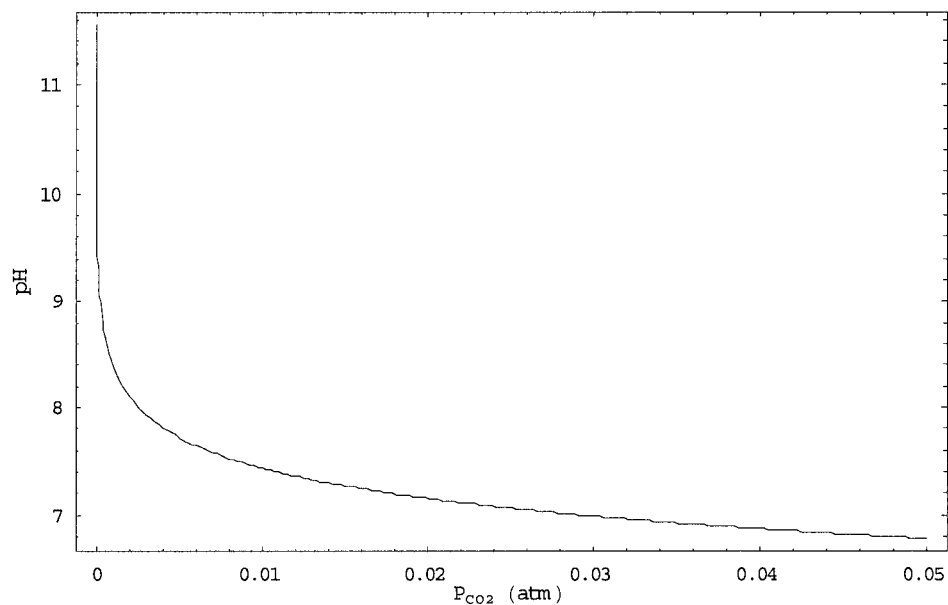


Figure IV.3. Courbe du pH en fonction de la pression partielle de CO_2 lorsque $\text{NaHCO}_3 = 0.00417 \text{ mol/l}$.

Le pH diminue en fonction de la pression partielle de CO_2 , car une augmentation de la pression partielle de CO_2 entraîne une augmentation de la concentration de CO_2 dans la solution, ce qui entraîne une augmentation de la concentration des ions H^+ , et donc une diminution du pH. Pour une pression partielle de 0.0003 atm, le pH donne bien 8.88.

IV.2.2.3 Courbes de pH en fonction de la concentration de phosphate

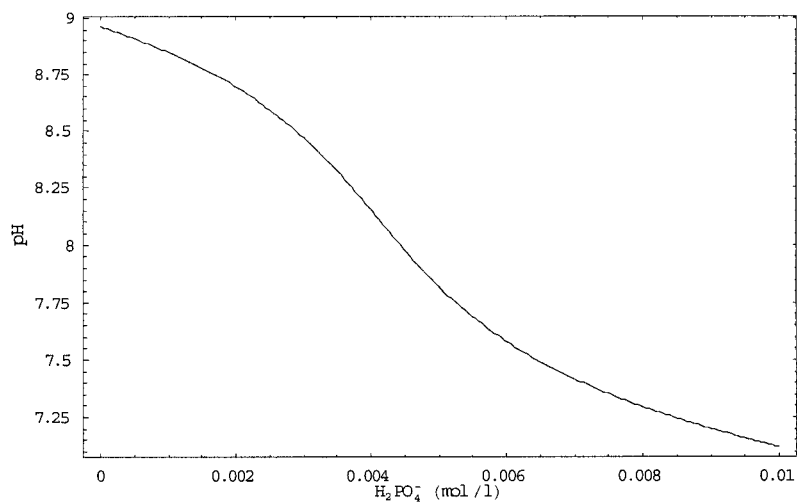


Figure IV.4. Courbe du pH en fonction de la concentration de H_2PO_4^- avec $P_{\text{CO}_2}=0.0003$.

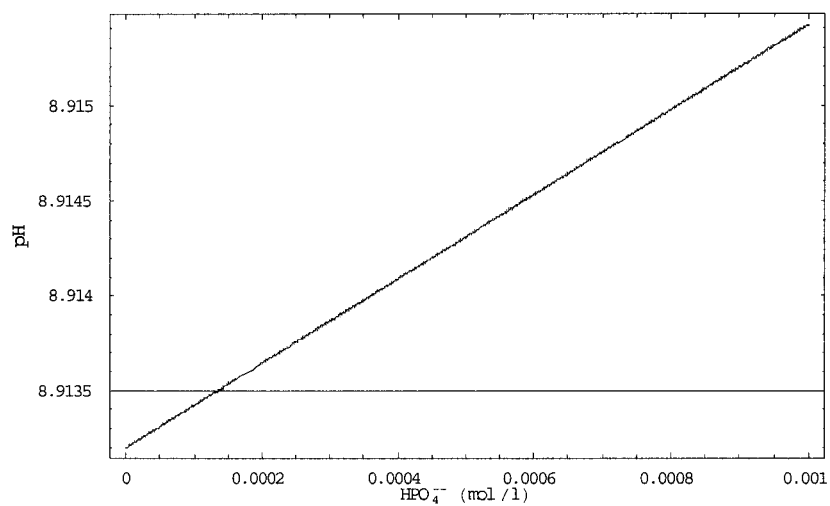


Figure IV.5. Courbe du pH en fonction de la concentration de HPO_4^{2-} avec $P_{\text{CO}_2}=0.0003$.

La variation de la quantité initiale de H_2PO_4^- et HPO_4^{--} influence très peu le pH obtenu. Le contrôle du pH se fait donc principalement avec les ions de carbonate et de la pression partielle de CO_2 .

IV.3 Discussion

Le pH initial de la solution de HBSS, avant d'être ajusté, est influencé par la solution de 7.5% bicarbonate de sodium. Si celle-ci est faite juste avant qu'elle ne soit rajoutée au HBSS, son pH va être proche du pH physiologique. Si la solution de 7.5% bicarbonate de sodium a été faite depuis plusieurs semaines, le pH du HBSS sera plus élevé. Ceci s'explique par la forte concentration de HCO_3^- , qui réagit avec les molécules de H^+ pour former des molécules d'eau et de CO_2 , consommant ainsi des ions H^+ et augmentant le pH.

Les calculs théoriques montrent donc que le HBSS n'est pas à pH physiologique lorsque placé à moyen et long terme à l'air libre comme le spécifie le fabricant. Le pH obtenu expérimentalement est inférieur à celui trouvé théoriquement, mais cette différence peut peut-être s'expliquer par l'absence de l'influence des ions sulfates (à calculer), ainsi que l'absence des coefficients d'activité des différents ions. Théoriquement, nous obtenons que le pH de la solution de HBSS a un pH de 8.88 à l'équilibre, ce qui est supérieur aux résultats expérimentaux, qui présente un pH d'environ 8-8.3.

Finalement, il serait assez aisé d'approfondir l'analyse de cette solution en tenant compte des ions sulfates et des coefficients d'activité et en effectuant des expériences très précises sur le changement de pH du HBSS. Il pourrait donc être intéressant de faire suite à ces calculs afin d'obtenir des données plus précises.

Annexe V. Comparaison des différents papiers sablés

À la suite des tests de la série E, des coupes histologiques faites sur des échantillons ayant été testés ont montré que le papier sablé de grosseur 150 endommageait les échantillons entre les pinces jusqu'à percer les échantillons. Suite à cette découverte, des coupes histologiques d'échantillons placés dans les pinces ayant du papier sablé de grosseur de grains différents ont été effectuées. Ensuite, des tests d'étirements sous microscope avec différents papiers sablés ont été faits et ont montré qu'il n'y avait aucune différence sur la déformation induite à l'échantillon en fonction du papier sablé.

En premier lieu, le protocole utilisé pour effectuer les coupes histologiques est présenté. Ensuite, les photos des coupes histologiques obtenues des différents papiers sablés sont présentées pour présenter la problématique. Les résultats des étirements sous microscope sont par la suite présentés.

V.1 Matériel et méthode

Des coupes histologiques ont été effectuées sur des échantillons fixés chimiquement dans les pinces du testeur mécanique avec une solution fraîchement préparée de 4% w/v paraformaldéhyde et de 1% w/v glutaraldéhyde dans 0.1M de sodium cacodylate à un pH de 7.3. La fixation chimique était effectuée à température ambiante pour 16 heures. Les échantillons étaient ensuite récupérés, rincés et placés à 4°C dans une solution 0.1M de sodium cocadylate.

Afin d'améliorer la morphologie des échantillons lorsque l'enrobage est fait avec de l'épon, une fixation à l'osmium tetroxyde est faite avant la déshydration à l'acétone par dilutions successives (l'épon et l'acétone sont miscibles alors que l'épon et l'eau sont non-miscibles). Ensuite, par dilutions successives, l'échantillon est infiltré et enveloppé dans de l'épon fraîchement fait. Le bloc d'épon contenant l'échantillon est ensuite cuit à

55°C pendant 48 heures. Les tranches de 0.5µm d'épaisseur, obtenues avec microtome et ensuite colorées au bleu de Toluidine, sont ensuite placées sur une lame et enrobées à l'épon et cuites à 55°C pendant 48 heures. Les échantillons ont été photographiés dans un microscope Zeiss Axiovert S100 TV.

V.2 Résultats des coupes histologiques

Des échantillons ayant été placés dans les serres avec des papiers sablés de différentes grosseurs de grains ont donc été fixés et coupés. 3 papiers sablés ayant des grains de grosseurs différentes ont été utilisés, soit du papier 150, 400 et 1500 (figure V.1). Ce chiffre indique le nombre de grains par pouce. Ainsi, en microns, les grosseurs de grains sont les suivantes, respectivement, 169, 63.5, et 16.9 microns. L'épaisseur du cartilage, avant d'être compressé entre les pinces, est d'environ 250 microns.

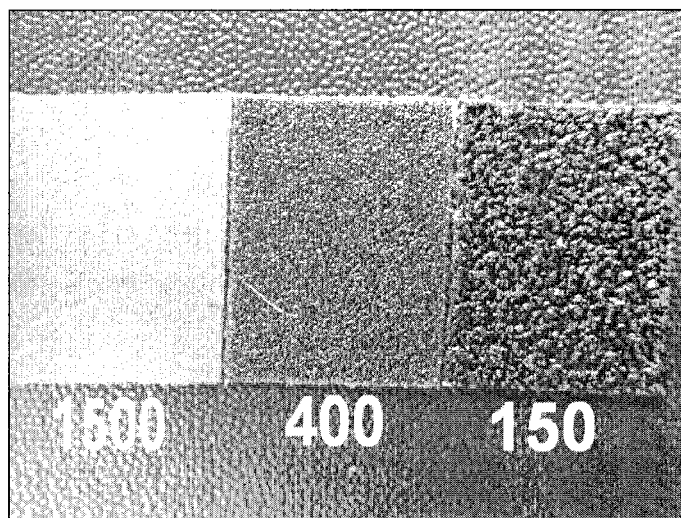


Figure V.1. Photo des différents papiers sablés utilisés.

Pour chaque grosseur de papier sablé, 12 coupes histologiques ont été effectuées sur 4 échantillons fixés chimiquement étirés de 5%. 3 coupes histologiques ont été effectuées

sur chaque échantillon, soit deux sur les côtés et une au centre. Les photos suivantes sont typiques des résultats obtenus. Les trois premières photos ont été prises à la jonction où l'échantillon commence à être compressé. Alors que les deux premières de ces trois photos illustrent des échantillons ayant subi les plus importants dommages, la dernière des trois photos montre un échantillon moins endommagé. La dernière photo montre la section centrale d'un échantillon.

V.2.1 Papier sablé 150

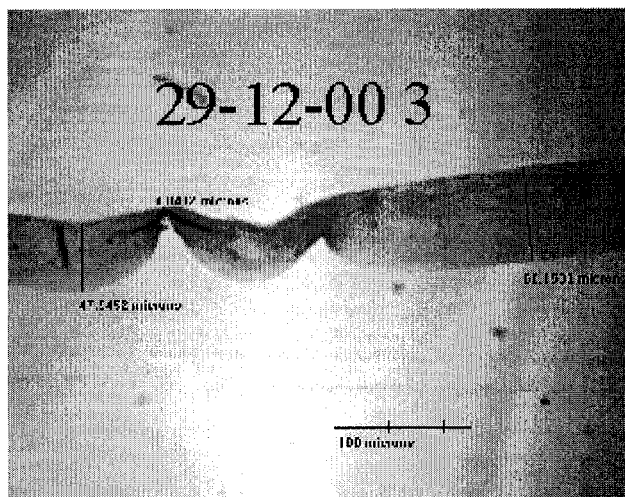


Figure V.2. Photo 4X de la jonction où l'échantillon est compressé avec du papier sablé grosseur 150. L'échantillon est fortement endommagé.

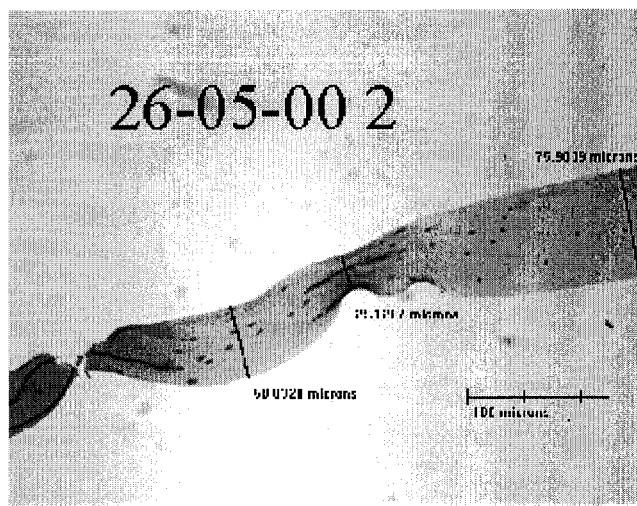


Figure V.3. Photo 4X de la jonction où l'échantillon est compressé avec du papier sablé grosseur 150. L'échantillon est fortement endommagé.

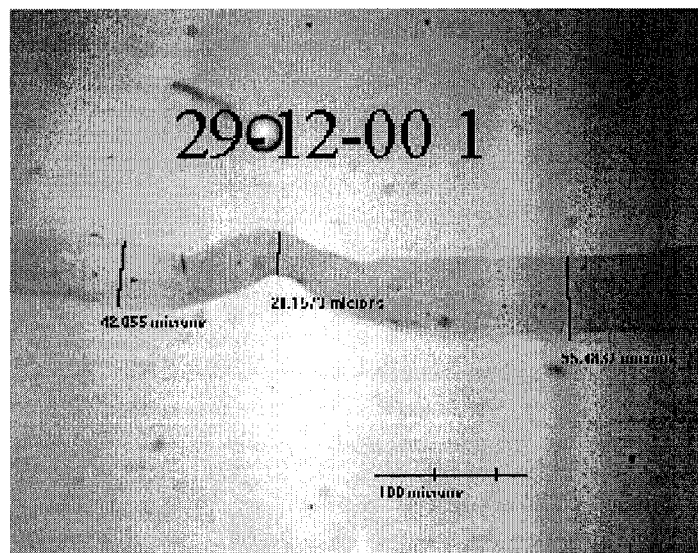


Figure V.4. Photo 4X de la jonction où l'échantillon est compressé avec du papier sablé grosseur 150. L'échantillon est peu endommagé.

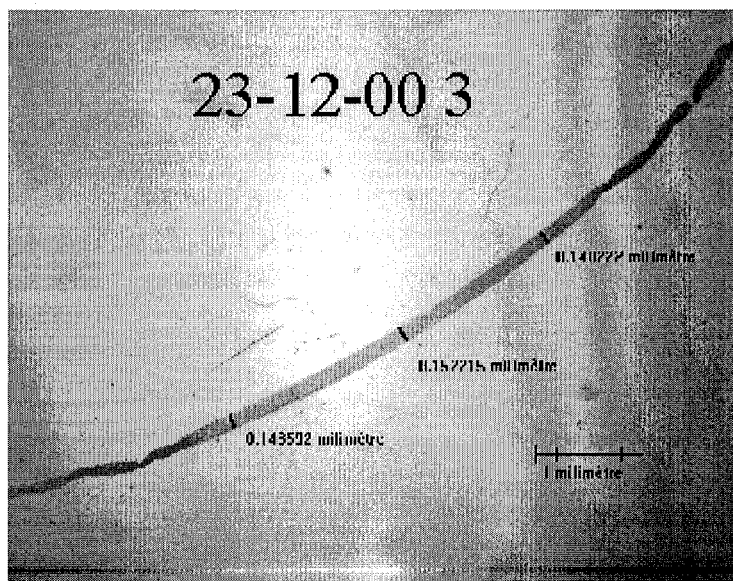


Figure V.5. Photo 125X de la jonction où l'échantillon est compressé avec du papier sablé grosseur 150.

V.2.2 Papier sablé 400

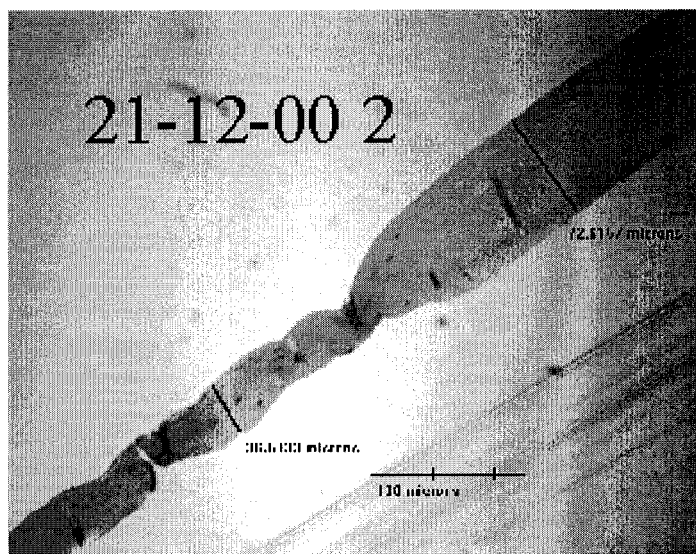


Figure V.6. Photo 4X de la jonction où l'échantillon est compressé avec du papier sablé grosseur 400. L'échantillon est fortement endommagé.

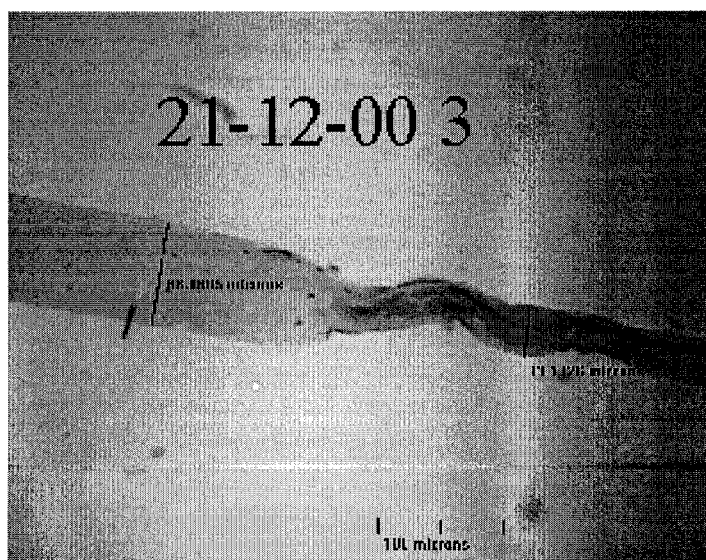


Figure V.7. Photo 4X de la jonction où l'échantillon est compressé avec du papier sablé grosseur 400. L'échantillon est fortement endommagé.

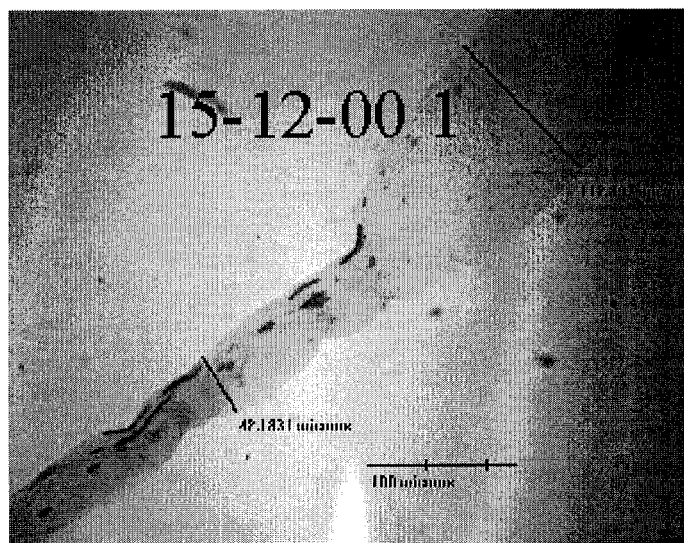


Figure V.8. Photo 4X de la jonction où l'échantillon est compressé avec du papier sablé grosseur 400. L'échantillon est peu endommagé.

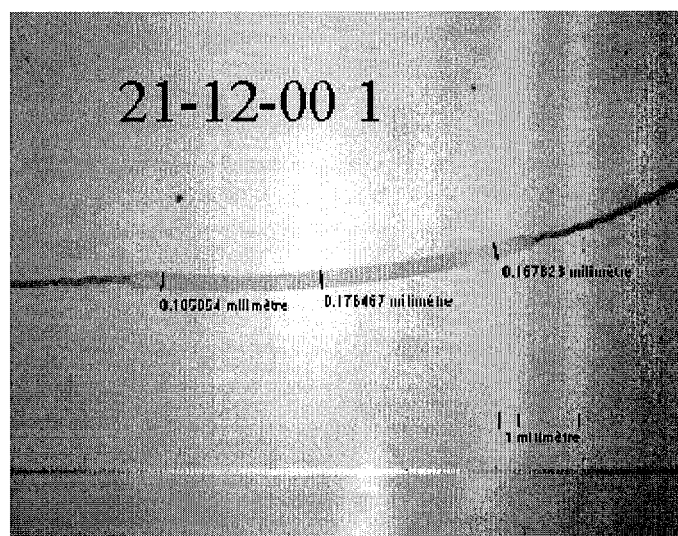


Figure V.9. Photo 125X de la jonction où l'échantillon est compressé avec du papier sablé grosseur 400.

III.2.3 Papier sablé 1500

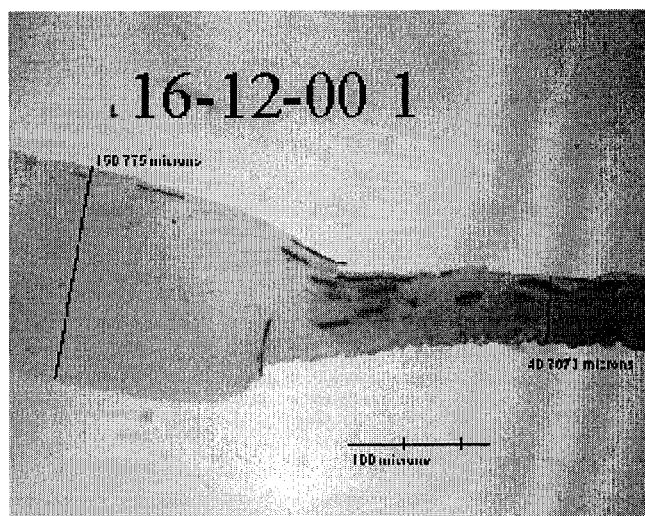


Figure V.10. Photo 10X de la jonction où l'échantillon est compressé avec du papier sablé grosseur 1500. L'échantillon est fortement endommagé.

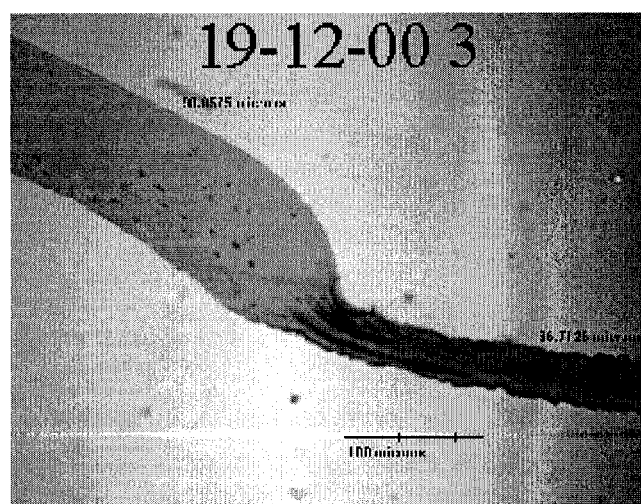


Figure V.11. Photo 10X de la jonction où l'échantillon est compressé avec du papier sablé grosseur 1500. L'échantillon est fortement endommagé.

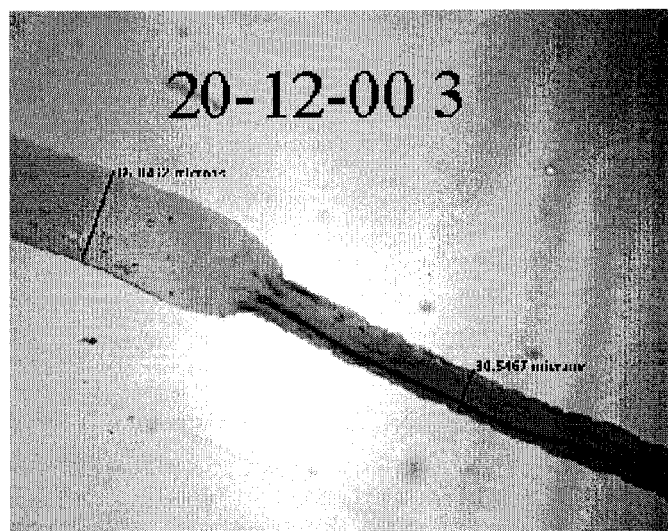


Figure V.12. Photo 10X de la jonction où l'échantillon est compressé avec du papier sablé grosseur 1500. L'échantillon est peu endommagé.

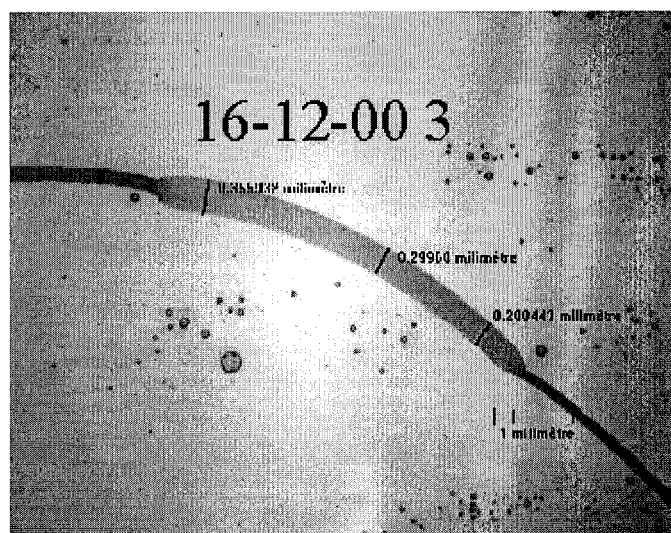


Figure V.13. Photo 125X de la jonction où l'échantillon est compressé avec du papier sablé grosseur 1500.

V.2.4 Discussion

Les coupes histologiques effectuées sur les échantillons ayant été fixés entre les pinces montrent que la grosseur des grains du papier sablé collé entre les pinces a un impact important sur la zone compressée de l'échantillon. Ces photos montrent que le papier sablé de grosseur 1500 induit une compression passablement constante à l'échantillon entre les pinces.

Les échantillons utilisés pour ces tests ont été étirés avant d'être fixé chimiquement. La courbure des échantillons montre que la fixation n'empêche pas la déformation de l'échantillon. Par contre, l'asymétrie de la compression ne peut pas s'expliquer par la déformation survenant lorsque l'échantillon est enlevé des pinces. Cette asymétrie est présente sur chaque grosseur de papier sablé. Cette asymétrie proviendrait de l'installation de l'échantillon dans les pinces. Ainsi, lorsque la serre secondaire est installée sur la serre principale, il se peut que son bord ne soit pas de niveau égal au bord de la serre principale à cause du jeu présent entre la vis et l'orifice des serres secondaires. Bien qu'aucun résultat ne confirme cette hypothèse, une attention particulière a été portée afin de s'assurer que le côté opposé à l'échantillon de la serre secondaire s'appuyait sur la serre principale.

V.3 Résultats des étirements sous microscope

Des étirements sous microscope ont été effectués sur des échantillons étirés avec les différents papiers sablés. Pour chacun des papiers sablés, deux tests ont été effectués. Une photo 4X, du côté gauche de l'échantillon, a été prise à chaque étirement de 1%, sans qu'il y ait d'étirement initial. 4 cellules ont été marquées sur chacune des photos, donnant ainsi 2 déformations longitudinales et 2 déformations transversales.

V.3.1 Résultats

Pour chaque test les déformations longitudinales et transversales totales sont présentées dans le tableau suivant. Les deux mesures longitudinales et les deux mesures transversales ont été moyennées.

Tableau V.1. Déformation longitudinale et transversale mesurée pour une déformation longitudinale théorique de 5%.

	150_1	150_2	400_1	400_2	1500_1	1500_2
Longitudinale (%)	2.42	3.15	4.21	3.19	3.40	3.87
Transversale (%)	--	-5.34	-6.08	-4.45	-3.32	-3.71

III.3.2 Discussion

L'échantillonnage est petit ($n=2$ pour chaque papier sablé) mais les résultats montrent que les déformations calculées du papier sablé de grosseur 150 ne sont pas supérieures aux autres. Au contraire, les étirements fait avec du papier sablé de grosseur 400 et 1500 ont des déformations qui semblent supérieures.