

UNIVERSITE DE TECHNOLOGIE DE COMPIEGNE

THESE

Pour l'obtention du grade de

DOCTEUR DE L'UNIVERSITE DE TECHNOLOGIE DE COMPIEGNE

Discipline : **BIOMECHANIQUE**

Présentée par

Yoann TATARENKO

Soutenance prévue le

Le 12 octobre 2023

**Modélisation multi-échelle des propriétés mécaniques passives
du muscle squelettique murin :
application à l'étude de l'expression du gène Klf10**

Directeur de thèse : Sabine BENSAMOUN

Co-directeur de thèse : Simon CHATELIN

JURY

Rapporteurs

Nadia Bahlouli *Professeure des Universités HDR* (ICube, Université de Strasbourg)

Salah Ramtani *Professeur des Universités HDR* (CSPBAT Université Sorbonne Paris Nord)

Examineurs

Daniel George *Professeur des Universités HDR* (ICube, Université de Strasbourg)

Sandrine Morandat *Maîtresse de Conférence HDR* (BMBI, UTC)

Mustapha Zidi *Professeur des Universités HDR* (BIOTN, Université Paris-Est Créteil)

Direction de thèse

Sabine Bensamoun *Directrice de Recherche CNRS HDR* (BMBI, UTC)

Simon Chatelin *Chargé de Recherche CNRS* (ICube, Université de Strasbourg)

Laboratoire de BioMécanique et BioIngénierie, UMR CNRS 7338,

UTC – Centre de recherche de Royallieu CS 60319 – 60203 Compiègne

Laboratoire des sciences de l'ingénieur, de l'informatique et de l'imagerie (ICube), UMR
CNRS 7357, Université de Strasbourg, Bd Sébastien Brant, 67400 Illkirch-Graffenstaden

Résumé :

Le muscle squelettique est un organe complexe avec une structure hiérarchisée. Son comportement à l'échelle macroscopique (muscle complet) découle du comportement de ses différents composants aux échelles microscopique (fibres musculaires) et submicroscopique (myofilaments, sarcomère, *etc.*). Toutes ses propriétés morphologiques et mécaniques découlent d'un ensemble d'expressions géniques qui, inhibées, peuvent entraîner des comportements défailants voir pathologiques du muscle. C'est le cas de *Klf10*, présent dans le métabolisme du muscle et dont l'implication sur les propriétés mécaniques et morphologiques d'autres tissus mous a été démontrée.

Dans le but d'étudier l'implication de ce gène sur la biomécanique du muscle, et plus particulièrement lors de son inhibition, la première étape de cette thèse consiste en la caractérisation expérimentale des propriétés mécaniques du muscle squelettique à différentes échelles : microscopique représentée par la fibre musculaire et macroscopique représentée par le muscle complet. Cette étude est faite sur deux types de muscles : soléaire oxydatif lent et EDL glycolytique rapide, sur des génotypes sain (WT) et dépourvu du gène *Klf10* (*Klf10* KO). Cette première étape de caractérisation montre des différences de propriétés mécaniques entre les muscles soléaires lents et EDL rapides autant à l'échelle microscopique que macroscopique. En parallèle, la comparaison entre les génotypes WT et *Klf10* KO montre une variation des propriétés mécaniques à l'échelle microscopique pour les deux types de muscles, qui n'est cependant pas présente à l'échelle macroscopique.

En parallèle des fibres musculaires, la matrice extracellulaire (MEC) est une composante importante du muscle squelettique. Sa caractérisation mécanique reste à ce jour complexe du fait du manque de données dans la littérature et de protocoles expérimentaux permettant d'étudier sa mécanique. Afin de pallier ce problème, nous développons un modèle multi-échelle dissociant le muscle en une partie fibres musculaires et une partie MEC, représenté par une loi de comportement hyperélastique, anisotrope et incompressible. Les paramètres mécaniques de cette loi de comportement sont identifiés pour la partie fibres sur les résultats expérimentaux obtenus sur fibres isolées, avant que les paramètres mécaniques de la partie MEC ne le soient sur ceux obtenus sur muscles complets en fixant les paramètres de la fibre.

La loi de comportement multi-échelle ainsi que les paramètres mécaniques pour les fibres et la MEC sont ensuite implémentés dans un modèle par éléments finis pour modéliser le comportement microscopique et macroscopique du muscle squelettique pour les muscles soléaires et EDL, en génotypes WT et *Klf10* KO. Les résultats des modélisations des fibres musculaires et des muscles entiers montrent de bonnes correspondances avec les

comportements obtenus expérimentalement. Ces modélisations sont suivies par une étude paramétrique des paramètres physiologiques tels que les fractions volumiques, les orientations préférentielles des fibres musculaires, les orientations préférentielles des fibres de collagène de la MEC, ainsi que d'incompressibilité afin d'étudier leur implication dans le comportement global du muscle. Cette étude paramétrique met en avant l'importance de la MEC dans le comportement global du muscle par des modifications importantes de la réponse mécanique du modèle numérique lors de la variation du paramètre d'orientation préférentielle des fibres de collagène de la MEC, ainsi que lors de la variation des fractions volumiques.

Mots-clefs :

Modèle mécanique, muscle squelettique, multi-échelle, fibres musculaires, matrice extracellulaire, méthode par éléments finis, influence du gène Klf10

Abstract:

The skeletal muscle is a complex organ with a hierarchical structure. Its behavior at the macroscopic scale (complete muscle) derives from the behavior of its various components on microscopic (muscle fibers) and submicroscopic (myofilaments, sarcomeres, etc.) scales. All its morphological and mechanical properties derive from a set of gene expressions which, if inhibited, can lead to deficiency or even pathological muscle behavior. This is the case of Klf10, present in muscle metabolism, whose involvement in the mechanical and morphological properties of other soft tissues has been demonstrated.

In order to study the implication of this gene on muscle biomechanics, and more specifically during its inhibition, the first stage of this thesis consists in the experimental characterization of the mechanical properties of skeletal muscle at different scales: microscopic scale is represented by muscle fiber and macroscopic scale is represented by complete muscle. The study was carried out on two types of muscles: slow oxidative soleus and fast glycolytic EDL, on healthy (WT) and Klf10 gene inhibited (Klf10 KO) genotypes. This first stage of characterization shows differences in mechanical properties between slow-oxidative soleus and fast-oxidative EDL muscles, both microscopically and macroscopically. In parallel, the comparison between WT and Klf10 KO genotypes shows a variation in mechanical properties at microscopic scale for both muscle types, which is not present at macroscopic scale.

Besides muscle fibers, the extracellular matrix (ECM) is an important component of skeletal muscle. To date, its mechanical characterization remains complex due to the lack of data in the literature and experimental protocols for studying its mechanics. To overcome this problem, we are developing a multiscale model dissociating the muscle into a muscle fiber part and an ECM part, represented by a hyperelastic, anisotropic and incompressible behavior law. The mechanical parameters of this behavior law are identified for the fiber part on the basis of experimental results obtained on isolated fibers, before the mechanical parameters of the ECM part are identified on the basis of those obtained on complete muscles by fixing the fiber parameters.

The multiscale behavior law and mechanical parameters for fibers and ECM are then implemented in a finite element model to model microscopic and macroscopic skeletal muscle behavior for soleus and EDL muscles, in WT and Klf10 KO genotypes. The results of the muscle fiber and whole muscle modeling show good correspondence with experimentally obtained behavior. These models are followed by a parametric study of physiological parameters such as volume fractions, preferential orientations of muscle fibers, preferential orientations of collagen fibers in the ECM, as well as incompressibility in order to study their

implication in overall muscle behavior. This parametric study highlights the importance of the ECM in the overall behavior of muscle through significant changes in the mechanical response of the numerical model when the preferential orientation parameter of collagen fibers in the ECM is varied, as well as when volume fractions are varied.

Keywords:

Mechanical model, skeletal muscle, multi-scale, muscle fibers, extracellular matrix, finite element method

Sommaire

Sommaire	7
Liste des figures	11
Liste des tableaux	16
Liste des acronymes	17
Liste des grandeurs mathématiques.....	18
Introduction	21
I. Etude bibliographique	25
I.1. Le tissu musculaire	25
I.1.1. Tissu musculaire chez le modèle murin	25
I.1.2. Une organisation multi-échelle	26
I.1.3. Principales propriétés mécaniques du muscle squelettique	27
I.1.4. Les structures liées aux propriétés mécaniques passives	32
I.1.5. Les structures liées aux propriétés mécaniques actives	34
I.1.6. Différents types de fibres et muscles squelettiques	35
I.1.7. Modèle murin Klf10 (Krüppel-like factor 10) Knock-Out (KO)	37
I.2. Caractérisations mécaniques expérimentales.....	43
I.2.1. Caractérisation <i>in vitro</i> des propriétés mécaniques passives	44
I.2.2. Caractérisation <i>in vitro</i> des propriétés mécaniques actives	50
I.2.3. Caractérisation <i>in vivo</i> des propriétés mécaniques	60
I.2.4. Caractérisation <i>in situ</i> des propriétés mécaniques	63
I.3. Paramètres influençant les propriétés mécaniques du muscle	63
I.3.1. Les paramètres expérimentaux	63
I.3.2. Les variations inter-individus	64
I.4. Modélisation du comportement mécanique du muscle.....	65
I.4.1. Modèles phénoménologiques viscoélastiques linéaires	66

I.4.2. Modèles phénoménologiques hyperélastiques.....	67
I.4.3. Modélisation de l'anisotropie	73
I.4.4. Modélisation biophysique	75
I.4.5. Modélisation multi-échelle	79
Objectifs de la thèse	83
II. Matériels et méthodes.....	85
II.1. Animaux	85
II.2. Caractérisation macroscopique (muscle).....	86
II.2.1. Préparation des muscles et dispositif expérimental	86
II.2.2. Protocole de caractérisation passive : tests d'étirement-relâchement (rampe) et relaxation.....	87
II.3. Caractérisation microscopique	89
II.3.1. Préparation des fibres musculaires et dispositif expérimental.....	89
II.3.2. Protocole de caractérisation passive : tests d'étirement-relâchement (rampe) et relaxation.....	90
II.4. Analyses statistiques.....	92
II.5. Loi de comportement mécanique multi-échelle	92
II.5.1. Modèle constitutif des fibres musculaires	93
II.5.2. Modèle constitutif de la MEC	95
II.5.3. Lien multi-échelle de la fibre au muscle.....	97
II.6. Identification des paramètres.....	97
II.7. Simulations numériques	99
III. Résultats	103
III.1. Propriétés mécaniques des muscles lents et rapides sains.....	103
III.2. Propriétés mécaniques des muscles soléaires WT et Klf10 KO	106
III.3. Propriétés mécaniques des muscles EDL WT et Klf10 KO.....	108
III.4. Simulations numériques à l'échelle microscopique de fibres isolées	111
III.5. Simulations numériques multi-échelles du muscle squelettique.....	113

III.6. Influence des paramètres physiologiques sur les simulations numériques multi-échelles	116
IV. Discussions et perspectives	121
Conclusions	127
Bibliographie personnelle	129
Bibliographie	131

Liste des figures

Figure. 1: Structure multi-échelle du muscle squelettique, de l'échelle macroscopique jusqu'à l'échelle submicroscopique, (Tatarenko et al., 2022).	26
Figure. 2: Courbe caractéristique de la relation force-longueur (A), en fonction de l'état d'étirement des sarcomères (B). (Adapté de (Rassier et al., 1999)).	30
Figure. 3: Courbe caractéristique de la relation force-vitesse pour une contraction concentrique (A) et pour une contraction excentrique (B), en fonction de la vitesse de contraction du muscle (C). Le nombre de flèches représente la vitesse de contraction (1, 2, 3) et d'étirement musculaire (4, 5, 6).	31
Figure. 4: Courbe caractéristique de la relation force-activation du muscle (A), en fonction du nombre de fibres musculaires activées lors de la contraction (B). Les fibres roses représentent les fibres rapides inactives, les fibres rouges représentent les fibres lentes inactives, et les fibres vertes représentent les fibres actives	32
Figure. 5: Structure de la protéine géante de titine dans le sarcomère. (Adapté de Buck et al., 2014).	33
Figure. 6: Schéma du filament de myosine (à gauche) et du filament d'actine (à droite). (Adapté de (Canon, 2016)).	34
Figure. 7: Différentes étapes de la contraction musculaire jusqu'à la relaxation du muscle. (Traduit de (Gillett, 2021)).	35
Figure. 8: Muscles lent soléaire (rouge) et rapide EDL (jaune) qui sont les plus analysés dans la littérature chez le modèle murin. (Adapté du modèle 3D de (Charles et al., 2016)).	37
Figure. 9: Pourcentage du type de fibres I, IIa, IIb, IIx dans le muscle soléaire (gauche) et EDL (droite), pour les génotypes KLF10 KO (bleu) et WT : Wild Type (rouge). *: $p < 0,05$; **: $p < 0,01$; NS: non significatif. (Adapté de (Kammoun et al., 2016)).	38
Figure. 10: Coupes histologiques de muscles EDL et soléaire, pour les génotypes KLF10 KO (colonne gauche) et contrôles (colonne droite). (Adapté de (Kammoun et al., 2017)).	39
Figure. 11: Observation par microscopie électronique en transmission (TEM) de la structure myofibrillaire (noyaux de myosines et mitochondries) des muscles soléaires et EDL, pour les génotypes Klf10 KO et WT. (Adapté de (Kammoun et al., 2019)).	40
Figure. 12: Courbes caractéristiques du comportement mécanique des fibres musculaires de muscles soléaires (gauche) et EDL (droite) pour les génotypes Klf10 KO et WT pour un test de rampe. (Kammoun et al., 2016).	41

Figure. 13: Courbes représentatives du comportement mécanique des fibres de muscles soléaires (gauche) et EDL (droite) pour les génotypes Klf10 KO et WT pour un test de relaxation. (Adapté de Kammoun et al., 2016).	41
Figure. 14: Courbes représentatives d'un test d'activation puis d'étirement pour des fibres de muscles soléaires (gauche) et EDL (droite) pour les génotypes Klf10 KO (noir) et WT (gris). Fmax: Force maximale développée par la fibre pour une activation au calcium; Fstretch: force développée par la fibre lors d'un étirement pendant son activation. R, W, A sont les solutions présentes dans les bains successifs dans lesquels sont plongées les fibres pendant le test. R : solution de repos ; W : solution de nettoyage (washing) ; A : solution d'activation (adapté de (Kammoun et al., 2021)).	42
Figure. 15: Comparaison des contraintes maximales (A) et de la rigidité lors de l'étirement de la fibre pendant son activation (B) des fibres extraites de muscles soléaires et EDL pour les génotypes Klf10 KO (bleu) et WT (rouge). **: $p < 0,01$; ***: $p < 0,001$. (Adapté de (Kammoun et al., 2021)).	42
Figure. 16: Courbe représentative d'un test de relaxation par extension incrémentale. L_s : slack length; F_{d_i} ($i=1, 2, 3, 4$): les forces dynamiques aux pics d'étirement; F_{s_i} ($i=1, 2, 3, 4$): les forces statiques aux plateaux de relaxation (Toscano et al., 2010).	45
Figure. 17: Synthèse de plusieurs articles (Canon et al., 2008; Toscano et al., 2010; Hakim et al., 2011) de la contrainte dynamique à différents âges pour le muscle soléaire de rat contrôle (orange), le muscle EDL de souris contrôle (bleu), le muscle EDL de souris Duchenne KO (vert) lors d'un test de relaxation par extension incrémentale. (Adapté de (Tatarenko et al., 2022))	47
Figure. 18: Courbe caractéristique d'un test d'élongation et relâchement avec identification du module d'élasticité tangent E. (Adapté de (Toscano et al., 2010)).	48
Figure. 19: Schéma de l'agencement des filaments de desmine à l'intérieur des fibres musculaire. (Adapté et traduit de (Koutakis et al., 2015)).	49
Figure. 20: Carte de l'élasticité obtenue par un protocole AFM pour les fibres de muscles soléaires (haut) et EDL (bas) de souris WT et Klf10 KO. (Kammoun et al., 2019).	50
Figure. 21: Courbes caractéristiques d'un test de force-fréquence pour un muscle soléaire (orange) et EDL (bleu).	52
Figure. 22: Synthèse de plusieurs articles (Barton et al., 2005; Liu et al., 2005; Moran et al., 2005; Buck et al., 2014; Sitparan et al., 2014; Mitchell et al., 2015; Tarpey et al., 2018; D'Hulst et al., 2020) utilisant le test de force-fréquence, à différents âges, pour le muscle soléaire (orange),	

EDL (bleu), plantaris (marron), flexor digitorum brevis (mauve). (Adapté de (Tatarenko et al., 2022)).	53
Figure. 23: Courbe représentative d'un test de contraction twitch.	54
Figure. 24: Synthèse de différents articles (Moran et al., 2005; Feng et al., 2011; Sitparan et al., 2014; Buck et al., 2014; Mitchell et al., 2015; Barton et al., 2019) pour les résultats des tests de contraction supramaximale twitch pour les paramètres TPT (A) et HRT (B) pour les muscles soléaires (orange), EDL (bleu), plantaris (marron) chez la souris à différents âges. (Adapté de (Tatarenko et al., 2022)).	55
Figure. 25: Courbe caractéristique d'un test de fatigue pour le muscle soléaire (orange) et EDL (bleu).	56
Figure. 26: Courbe d'un test de fatigue du muscle soléaire KLF10 KO (orange) et WT (noir).	57
Figure. 27: Courbe représentative d'une contraction excentrique. Courbe expérimentale (noir), longueur du muscle (vert), stimulation électrique (rouge). (Adapté de (Liu et al., 2005)).	58
Figure. 28: Synthèse de plusieurs articles (Liu et al., 2005 ; Martin et al., 2009; Sonnermann et al., 2009; Baltgavis et al., 2011; Capogrosso et al., 2017; Olthoff et al., 2018; Call et Love, 2019) utilisant le test de contraction excentrique pour des muscles EDL mdx KO (vert), EDL WT (bleu) à différents âges. (Adapté de (Tatarenko et al., 2022)).	60
Figure. 29: Image anatomique en vue axiale pré contraint (A) et post contraint (B), et cartographie du module de perte G'' pré contraint (C) et post contraint (D) (droite) d'une patte de rat. (Nelissen & al. 2019).	61
Figure. 30: Schéma du modèle de Hill à 3 composantes (Adaptée de (Canon, 2016)).	66
Figure. 31: Représentation schématique des filaments de collagène (noirs) présents dans la matrice extracellulaire entourant une fibre musculaire (bleu), où $a_0=M_1$ et $b_0=M_2$ représentent les vecteurs unitaires des directions préférentielles des fibres de collagène, θ correspond à l'angle entre les fibres de collagène et l'axe principal des fibres de collagène, Y permettant de définir les vecteurs unitaires. (Adapté de (Bleiler et al., 2019)).	77
Figure. 32: Représentation schématique des étapes de formation des ponts entre les filaments d'actine et de myosine à partir de la théorie des filaments glissants de (Huxley et Niedergerke, 1954).	78
Figure. 33: Schéma du principe d'homogénéisation appliqué au muscle squelettique. (Adapté de Nierenberger, 2013).	80
Figure. 34: Dispositif de tests mécaniques sur muscles isolés.	86
Figure. 35: Schéma de l'initialisation du muscle à sa longueur optimale (L_0).	87

Figure. 36: Courbe de force en fonction du temps (gauche); contrainte en fonction de la déformation (droite) correspondant à un test de rampe à l'échelle macroscopique, pour les muscles soléaires (soleus) et EDL.....	88
Figure. 37: Courbe de force en fonction du temps correspondant à un test de relaxation à l'échelle macroscopique, pour les muscles soléaires (soleus) et EDL.....	89
Figure. 38: Dispositif expérimental de tests mécaniques sur fibres isolées	90
Figure. 39: Courbe de force en fonction du temps (gauche); contrainte en fonction de la déformation (droite) correspondant à un test de rampe à l'échelle microscopique, pour les fibres de muscles soléaire (soleus) et EDL.	91
Figure. 40: Courbe de force en fonction du temps correspondant à un test de relaxation à l'échelle microscopique, pour les fibres de muscles soléaire (soleus) et EDL	91
Figure. 41: Représentation schématique des fibres musculaires et des fibres de collagène de la MEC dans le muscle. (Adapté de (Liu et al.,2022)).....	95
Figure. 42: Schéma des étapes de modélisation numérique par éléments finis.	100
Figure. 43: Boxplot des propriétés mécaniques entre les muscles soléaires (orange) et EDL (bleu) WT à l'échelle macroscopique pour des paramètres des tests de rampe et de relaxation. *: $p < 0,05$	104
Figure. 44: Boxplot des propriétés mécaniques entre les génotypes WT (orange) et Klf10 KO (rouge) à l'échelle macroscopique pour les muscles soléaires à partir des tests de rampe et de relaxation. NS: non significatif.	107
Figure. 45: Boxplot de comparaison entre les génotypes WT (rouge) et Klf10 KO (bleu) à l'échelle microscopique pour les fibres de muscle soléaire des paramètres expérimentaux des tests de rampe et de relaxation. **: $p < 0,01$	108
Figure. 46: Boxplot des propriétés mécaniques pour les génotypes WT (bleu) et Klf10 KO (vert) à l'échelle macroscopique pour le muscle EDL (paramètres expérimentaux des tests de rampe et de relaxation). NS: non significatif.	109
Figure. 47: Boxplot des propriétés mécaniques entre les génotypes WT (bleu) et KLF10 KO (vert) à l'échelle microscopique pour le muscle EDL issues des tests de rampe et de relaxation. **: $p < 0,01$	111
Figure. 48: Comparaison entre les courbes contrainte-déformation identifiées et expérimentales (section II.5) sur fibres isolées. A: soléaire WT, $R^2 = 0,997$; B: soléaire Klf10 KO, $R^2 = 0,995$; C: EDL WT, $R^2 = 0,994$; D: EDL Klf10 KO, $R^2 = 0,996$).....	112

Figure. 49: Courbes de comparaison entre les courbes de simulations numériques avec les données expérimentales sur fibres isolées. A: soléaire WT, $R^2 = 0,996$; B: soléaire Klf10 KO, $R^2 = 0,994$; C: EDL WT, $R^2 = 0,994$; D: EDL Klf10 KO, $R^2 = 0,993$).	113
Figure. 50: Courbes de comparaison entre les courbes d'identification des paramètres de la loi de comportement (section II.5) avec les données expérimentales sur muscles complets (section II.2). A: soléaire WT, $R^2 = 0,982$; B: soléaire Klf10 KO, $R^2 = 0,980$; C: EDL WT, $R^2 = 0,974$; D: EDL Klf10 KO, $R^2 = 0,982$).	115
Figure. 51: Courbes de contraintes déformations issues des simulations numériques, et comparaison avec les données expérimentales sur muscles isolés. A: soléaire WT, $R^2 = 0,988$; B: soléaire Klf10 KO, $R^2 = 0,980$; C: EDL WT, $R^2 = 0,982$; D: EDL Klf10 KO, $R^2 = 0,985$).	116
Figure. 52: Analyse de l'influence du paramètre d'angle préférentiel des fibres de collagène de la MEC (θ_m) pour des valeurs allant de $\pm 50^\circ$ à $\pm 60^\circ$, sur les résultats de simulation numérique du comportement du muscle. A : soléaire WT ; B : soléaire Klf10 KO ; C : EDL WT ; D : EDL Klf10 KO.	117
Figure. 53: Analyse de l'influence du paramètre d'angle préférentiel des fibres musculaires (θ_f) pour des valeurs allant de 0° à 100° , sur les résultats de simulation numérique du comportement du muscle. A : soléaire WT ; B : soléaire Klf10 KO ; C : EDL WT ; D : EDL Klf10 KO.	118
Figure. 54: Analyse de l'influence du paramètre de fraction volumiques des fibres ϕ_f et de la MEC ϕ_m pour des valeurs allant de 0,9 à 0,99 pour les fibres et 0,1 à 0,01 pour la MEC, sur les résultats de simulations numériques du comportement du muscle. A : soléaire WT ; B : soléaire Klf10 KO ; C : EDL WT ; D : EDL Klf10 KO.	119
Figure. 55: Analyse de l'influence du paramètre d'incompressibilité des fibres K_f et de la MEC K_m pour des valeurs allant de 25 kPa à 500 MPa pour les fibres et 25 kPa à 500 MPa pour la MEC, sur les résultats de simulations numériques du comportement du muscle. A : soléaire WT ; B : soléaire Klf10 KO ; C : EDL WT ; D : EDL Klf10 KO.	120

Liste des tableaux

Tableau 1: Comparaison des propriétés physiologiques des différents types de fibre. (Traduit de Hopkins,2006)	36
Tableau 2: Variation des paramètres de fractions volumiques, angles d'orientations préférentiels et d'incompressibilité pour les fibres musculaires et la MEC	101
Tableau 3: Valeurs des données expérimentales des tests de rampe et relaxation à l'échelle macroscopique pour les muscles soléaire et EDL. La p-value correspond à la comparaison, pour les mêmes paramètres, entre les muscles soléaires et EDL à partir d'un test de Mann-Whitney.	104
Tableau 4: Valeurs des données expérimentales des tests de rampe et de relaxation à l'échelle microscopique, pour les fibres de muscles soléaire et EDL. La p-value correspond à la comparaison pour les mêmes paramètres entre les fibres de muscles soléaire et ED d'un test de Mann-Whitney.	105
Tableau 5: Valeurs des paramètres expérimentaux des tests de rampe et relaxation à l'échelle macroscopique, pour les muscles soléaire Klf10 KO et contrôles WT. La p-value correspond à la comparaison pour les mêmes paramètres entre les muscles soléaires Klf10 KO et contrôles WT d'un test de Mann-Whitney.....	107
Tableau 6: Valeurs des paramètres expérimentaux des tests de rampe et de relaxation à l'échelle microscopique, pour les fibres de muscles soléaires Klf10 KO et contrôles WT. La p-value correspond à la comparaison pour les mêmes paramètres entre les fibres de muscles soléaires Klf10 KO et contrôles WT d'un test de Mann-Whitney.	108
Tableau 7: Valeurs des paramètres expérimentaux des tests de rampe et relaxation à l'échelle macroscopique, pour les muscles EDL Klf10 KO et contrôles WT. La p-value correspond à la comparaison pour les mêmes paramètres entre les muscles EDL Klf10 KO et contrôles WT d'un test de Mann-Whitney.....	109
Tableau 8: Valeurs des paramètres expérimentaux des tests de rampe et de relaxation à l'échelle microscopique pour les fibres de muscles EDL Klf10 KO et contrôles WT. La p-value correspond à la comparaison pour les mêmes paramètres entre les fibres des muscles EDL Klf10 KO et contrôles WT d'un test de Mann-Whitney.	110
Tableau 9: Paramètres identifiés et implémentés pour les quatre types de fibres musculaires : soléaire WT, soléaire Klf10 KO, EDL WT et EDL Klf10 KO.....	112
Tableau 10: Paramètres identifiés et implémentés des parties fibres et MEC du modèle, pour les quatre types de muscles : soléaire WT, soléaire Klf10 KO, EDL WT, EDL Klf10 KO. .	114

Liste des acronymes

AFM	Microscopie à force atomique
ATP	Adénosine triphosphate
CC	Composante contractile
CEP	Composante élastique parallèle
CES	Composante élastique série
CSA	Cross section area
DMD	Dystrophie musculaire de Duchenne
EDL	Extensor digitorum longus
ERM	Elastographie par resonance magnétique
HRT	Demi temps de relaxation
IRM	Imagerie par résonance magnétique
Klf10	Krüppel-like factor 10
KO	Knock out
Lf	Longueur des fibres musculaires
Lo	Longueur optimale
Ls	Slack length
Mdx	Muscular dystrophy X-linked
MEC	Matrice extracellulaire
MS	Contrainte maximale
PA	Potentiel d'action
TIEG1	TGF β induce early gene I
TPF	Temps au pic de force
TPT	Temps au pic de tension
WLC	Work loop cycles
WT	Wild type

Liste des grandeurs mathématiques

c_1^f, c_2^f, c_3^f et k^f	Paramètres modèles de la phase fibres musculaires
c_1^m, c_2^m, c_3^m et k^m	Paramètres modèles de la partie matrice extracellulaire
$\dot{\lambda}$	Taux d'élongation
μ	Module de cisaillement
B	Tenseur des déformations de Cauchy Green gauche
C	Tenseur des déformations de Cauchy Green droit
df	Forces internes de la matière à l'état x
df_0	Forces internes de la matière à l'état X
dS	Element de surface défini
dS_0	Element de surface non défini
E	Module d'élasticité (module de Young)
E	Tenseur des déformations de Green Lagrange
F	Tenseur gradient de la déformation
fa	Fonction d'activation
fe	Fonction d'élongation
fv	Fonction de vitesse
I	Tenseur identité de deuxième ordre
IV_x, V_x, VI_x, VII_x	Pour tout tenseur X , les 4 ^{ème} , 5 ^{ème} , 6 ^{ème} , 7 ^{ème} invariants de la déformation
I_x, II_x, III_x	Pour tout tenseur X , les trois premiers invariants de la déformation
J	Coefficient de déformation volumique
K	Module d'élasticité isostatique
m	Masse
M, M₁, M₂	Vecteurs de direction préférentielles des fibres musculaires et collagène
N	Normale à la direction d'une particule à l'état X
n	Normale à la direction d'une particule à l'état x
S	Second tenseur des contraintes de Piola-Kirchhoff
t	Temps
V	Vecteur vitesse
W	Densité d'énergie de déformation
x	Position courante d'une particule

X	Position référence d'une particule
ε	Déformation
θ_x	Pour toute phase x , angle de l'orientation préférentielle
λ	Elongation
ν	Coefficient de poisson
Π	Premier tenseur des contraintes de Piola_Kirchhoff
σ	Tenseur des contraintes de Cauchy
ϕ_x	Pour toute phase x , fraction volumique

Introduction

Le tissu musculaire est l'un des tissus les plus présents dans le corps humain. Ses propriétés et son fonctionnement mécanique suscitent un intérêt particulier dans la communauté scientifique depuis de nombreuses années. On trouve dans le corps trois types de muscle : (1) le muscle strié cardiaque dont la contraction est automatique et rythmée, (2) le muscle lisse dont la contraction sert principalement liée à la constriction, (3) le muscle strié squelettique dont la contraction est volontaire et lui permet d'assurer son rôle d'effecteur du mouvement.

Du fait de sa structure sur différentes échelles, la caractérisation du muscle strié squelettique est une tâche complexe et nécessite de qualifier les composants des échelles microscopique et submicroscopique pour obtenir le comportement global de l'organe. Si l'on trouve dans la littérature un nombre conséquent d'études sur les propriétés mécaniques du muscle complet ainsi que sur la fibre isolée avec des protocoles expérimentaux variés, l'étude des propriétés mécaniques de la matrice extracellulaire (MEC) reste quant à elle une tâche complexe et peu documentée.

Il est possible à partir de cette caractérisation mécanique de développer des lois constitutives basées sur des expressions mathématiques pour modéliser numériquement le comportement mécanique du muscle. Les premiers modèles développés permettent de représenter le muscle par des éléments mécaniques simples comme des ressorts et des amortisseurs. Ces modèles ont rapidement évolué pour mieux représenter le comportement du muscle par des lois beaucoup plus complexes et proches du comportement du muscle squelettique : représentation de l'hyperélasticité du muscle, prise en compte de son anisotropie ou encore intégration d'un comportement contractile. Depuis quelques décennies, ces modèles sont complétés par des approches biophysiques multi-échelles, intégrant des paramètres physiologiques du muscle et permettant de lier les comportements aux différentes échelles par différentes méthodes (notamment par homogénéisation). En plus de la modélisation de muscles sains, ces modèles peuvent s'avérer appropriés à l'étude de pathologies neuromusculaires, notamment la myopathie de Duchenne.

En parallèle des pathologies neuromusculaires, ces modèles peuvent aussi être pertinents pour étudier les expressions géniques, telles celle du gène *Klf10* (Krüppel-like factor 10) dont l'inhibition entraîne des modifications dans les propriétés mécaniques et morphologiques dans différents tissus (notamment du tissu musculaire squelettique). Nous nous attachons ici à estimer

la mesure dans laquelle le développement d'un modèle multi-échelle s'avère approprié à l'étude de l'inhibition de ce gène dans le cas spécifique du muscle squelettique.

Ainsi, l'objectif de ce travail de thèse est de proposer une démarche scientifique de caractérisation et de modélisation mécanique de muscles squelettiques de souris soléaire lent et EDL (*Extensor digitorum longus*) rapide pour des génotypes sains et Klf10 KO (KO : *Knock out*). Cette caractérisation du muscle squelettique est faite sur deux échelles : l'échelle microscopique de la fibre musculaire et l'échelle macroscopique du muscle complet. Des expérimentations permettent tout d'abord de mettre en évidence les différences de propriétés mécaniques entre les muscles soléaires et EDL WT, ainsi que les différences observables entre les fibres musculaires des génotypes WT et Klf10 pour les deux types de muscles lents et rapides (soléaires et EDL). Ces différences de propriétés mécaniques ne sont cependant pas observables à l'échelle du muscle, permettant de mettre en avant l'implication importante de la MEC dans les propriétés mécaniques globales du muscle. En outre, ces expérimentations nous permettent d'obtenir les paramètres mécaniques d'un modèle multi-échelle en identifiant les paramètres des fibres musculaires sur les expérimentations faites sur fibres isolées, ainsi que les paramètres de la MEC sur les expérimentations faites sur muscles complets. Cette méthode d'identification des paramètres de la MEC nous permet de pallier le manque de données ainsi que le manque de protocole expérimentaux validés dans la littérature. Les paramètres expérimentaux obtenus peuvent ainsi être implémentés dans notre loi de comportement qui est ensuite intégrée dans un logiciel de modélisation par méthode des éléments finis afin de simuler le comportement mécanique pour les quatre types de muscles : soléaires contrôles et Klf10 KO, EDL contrôles et Klf10 KO. Ces simulations montrent de bonnes concordances avec les données obtenues expérimentalement à l'échelle de la fibre et du muscle complet. Une étude paramétrique est ensuite réalisée sur les paramètres physiologiques présents dans notre loi de comportement afin de tester leur implication dans la mécanique globale du muscle. Cette étude paramétrique montre encore plus l'implication de la MEC dans le comportement global du muscle, mettant en avant les variations importantes dans les résultats des simulations numériques lorsque l'on fait varier les paramètres liés à la MEC, comme l'angle d'orientation préférentielle des fibres de collagène qui la composent, ainsi que la variation des fractions volumiques de fibres.

La première partie de ce manuscrit a pour but de rappeler les propriétés structurelles multi-échelles et fonctionnelles du muscle squelettique. La présentation de ses propriétés mécaniques actives et passives ainsi qu'une mise en parallèle avec les différentes structures et processus biologiques qui y sont liés est proposée. Elle présente également les spécificités mécaniques et

biologiques des fibres musculaires dépourvues du gène Klf10. Cette partie est ensuite constituée par un rappel exhaustif des différentes méthodes de caractérisation des propriétés passives et actives du muscle, ainsi que des différents modèles mécaniques développés dans la littérature.

La deuxième partie de ce manuscrit a pour but de présenter les différents protocoles expérimentaux utilisés dans la caractérisation des muscles soléaire et EDL pour les génotypes WT et Klf10 KO aux deux échelles : microscopique (fibre musculaire) et macroscopique (muscle complet). Cette partie présente aussi la loi de comportement utilisée, la modélisation numérique du muscle squelettique réalisée à partir de celle-ci et les simulations numériques réalisées.

La troisième partie de ce manuscrit présente les différents résultats des tests expérimentaux réalisés sur les fibres musculaires et sur les muscles entiers (soléaire et EDL) en fonction du génotype (Klf10 KO, ou WT), ainsi que les résultats du modèle pour prédire le comportement mécanique du muscle à partir des résultats expérimentaux.

La dernière partie de ce manuscrit dresse la discussion et les conclusions générales sur les principaux résultats expérimentaux et numériques obtenus durant les travaux de recherche de cette thèse. Cette section met en avant leur intérêt à travers leurs utilisations possibles par la communauté scientifique, ainsi que les perspectives d'amélioration de la modélisation mécanique multi-échelle.

I. Etude bibliographique

La première section de ce manuscrit a pour objectif de dresser l'état de l'art de la composition du tissu musculaire en se focalisant sur le tissu musculaire squelettique murin, de sa caractérisation mécanique (exposé bibliographique exhaustif ayant fait l'objet de la publication d'une revue de la littérature à laquelle le lecteur est invité à se référer pour plus de détails (Tatarenko *et al.*, 2022)) et de sa modélisation multi-échelle.

I.1. Le tissu musculaire

I.1.1. Tissu musculaire chez le modèle murin

Malgré des différences génétiques, de nombreuses espèces animales partagent des similarités structurelles et fonctionnelles de leur tissu musculaire avec l'humain. En particulier, on trouve chez le modèle murin une similarité au niveau de l'organisation multi-échelle, de la composition en protéines sarcomériques (actine, myosine et titine) et matricielles (collagène). Le modèle murin est très présent dans la littérature dans l'étude du muscle squelettique. La force de ce modèle vient de sa courte durée de vie. Avec une espérance chez la souris et le rat d'environ 3 ans, il est facile d'étudier des phénomènes ayant un impact tout au long de l'existence d'un individu. De même, le temps de gestation ainsi que le grand nombre de nouveau-nés par portée permettent de développer rapidement des lignées génétiques d'intérêt.

Pour ces raisons, le modèle murin possède une grande bibliothèque de lignées génétiques et est très représenté dans la littérature. Il est un modèle de choix dans les études sur le vieillissement, l'évolution de pathologies, le suivi de traitements médicaux, mais aussi sur l'étude des propriétés mécaniques de tissus biologiques comme le muscle squelettique et les pathologies neuromusculaires qui lui sont associées comme la Dystrophie Musculaire de Duchenne (DMD).

En plus de ces avantages de reproduction, des études ont montré que le modèle murin pouvait être un bon modèle de comparaison avec l'humain. L'étude de (Jacobs *et al.*, 2013) met en parallèle humains et souris sur l'activité mitochondriale, au rôle important dans la production d'énergie pour la contraction musculaire via la respiration cellulaire. Ce processus est très important dans l'activité contractile du muscle, particulièrement pour les fibres oxydatives à contraction lente qui les composent.

Cependant, malgré ces avantages, on retrouve de nombreuses différences entre les modèles murin et humain. Du point de vue génétique, la localisation et l'expression de certains gènes associés notamment au tissu musculaire varient (Kho *et al.*, 2006). Ces variations peuvent entraîner des changements physiologiques. L'étude de (Spangenburg et Booth, 2003) montre que les proportions de fibres lentes et rapides au sein du même muscle sont différentes d'une espèce à une autre. En découlent des différences d'adaptation aux entraînements physiques induites par des expressions de types de fibres différentes. (Burkholder et Lieber, 2001) se sont intéressés à la différence de taille de sarcomères entre l'humain ($\approx 2,64 \mu\text{m}$) et le modèle murin ($\approx 2,4 \mu\text{m}$). D'une manière globale, malgré de nombreuses différences avec l'Homme, le modèle murin reste très présent depuis plusieurs décennies dans l'étude des domaines biologiques et biomécaniques.

I.1.2. Une organisation multi-échelle

Le muscle squelettique possède une structure complexe hiérarchisée et ordonnée à de nombreuses échelles comme illustré en Figure. 1.

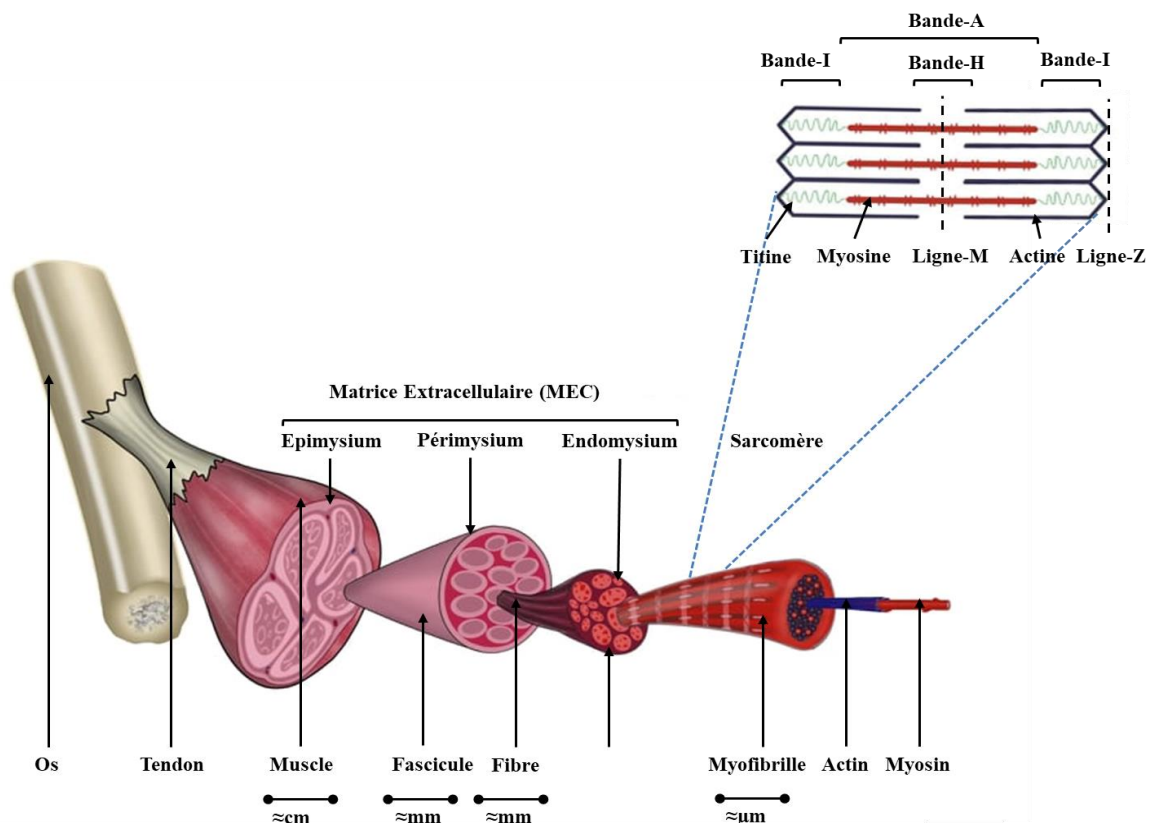


Figure. 1: Structure multi-échelle du muscle squelettique, de l'échelle macroscopique jusqu'à l'échelle submicroscopique, (Tatarenko *et al.*, 2022).

Si le muscle complet représente l'échelle macroscopique, celui-ci peut être décomposé en un ensemble de fascicules de cellules musculaires. Ces fascicules sont eux-mêmes composés d'un nombre variable de fibres musculaires. Respectivement, ils représentent les échelles mésoscopique et microscopique du muscle. En regardant au niveau inférieur, on se rend compte que les fibres musculaires sont composées de myofibrilles, elles-mêmes composées d'un enchainement successif de sarcomères, plus petites structures contractiles présentes dans le muscle. Ces sarcomères sont composés de myofilaments (actine, myosine, titine, *etc.*) impliqués dans leurs propriétés mécaniques passives et actives.

En parallèle des fibres musculaires, on trouve la matrice extracellulaire (MEC) répartie aux trois échelles. A l'échelle macroscopique, c'est l'épimysium qui est présent autour du muscle. A l'échelle mésoscopique, c'est le périmysium qui permet la séparation des fascicules. A l'échelle microscopique, c'est l'endomysium qui permet de séparer les fibres musculaires.

Ainsi c'est l'ensemble des structures aux différentes échelles et leurs interactions qui vont donner ses propriétés mécaniques passives et actives au muscle squelettique, et chaque variation obtenue à une échelle induit une modification du comportement global du muscle.

I.1.3. Principales propriétés mécaniques du muscle squelettique

Du fait de cette structure hiérarchisée et de la multitude de micro composants qui constituent le muscle, lors de petites déformations, le muscle squelettique exhibe un comportement viscoélastique linéaire. **L'élasticité** correspond à la capacité qu'a le muscle à se déformer sous l'application de forces externes et à retrouver ensuite sa forme initiale une fois ces forces retirées. Cette élasticité linéaire peut s'exprimer selon la loi de Hooke (Equation. 1) liant la contrainte σ et la déformation ε du matériau par un module d'élasticité, appelé aussi module d'Young E :

$$\sigma = E \cdot \varepsilon \quad (1)$$

Cette propriété permet au muscle d'assurer son rôle d'effecteur du mouvement par des enchainements de contractions et de relâchements. De nombreux microcomposants du muscle sont impliqués dans cette élasticité et sont développés dans la suite de ce manuscrit. **La viscosité** musculaire fait référence à la capacité de dissipation d'énergie du matériau impliquant une dépendance de ses propriétés mécaniques à la cinétique de sa sollicitation (vitesse, fréquence, relaxation, fluage, *etc.*). Il est montré que lors de tests de traction, les contraintes développées par le muscle squelettique sont plus élevées à des taux d'étirement plus importants

(Myers *et al.*, 1995, 1998). A l'inverse, en test de compression, les contraintes développées par le muscle sont plus faibles à des taux de compression plus importants (Van Loocke *et al.*, 2008). Une partie des études actuelles ne prennent pas en compte le comportement visqueux du muscle squelettique (Jenkyn *et al.*, 2002; Blemker *et al.*, 2005; D'Aulignac *et al.*, 2005; Agoras *et al.*, 2009).

On parle généralement de **grandes déformations** lorsque le muscle est soumis à des déformations supérieures de 5 à 10% de sa longueur initiale (Dao et Tho, 2018; Nierenberger, 2013). Au-delà de cette limite, le comportement mécanique du muscle se traduit par un comportement éminemment non-linéaire qui se caractérise par une rigidification (**hyperélasticité**).

De par sa composition en fibres musculaires et en fibres de collagène dans sa MEC, le muscle squelettique présente un comportement mécanique fortement anisotrope, dépendant alors de l'orientation préférentielle de ces différentes sortes de fibres présentes aux différentes échelles. L'orientation préférentielle des fibres musculaires est dépendante de leur angle de pennation dans le muscle, tandis que les fibres de collagène dans la MEC sont connues pour avoir une double inclinaison de $+55^\circ/-55^\circ$ par rapport aux fibres musculaires (Purslow, 2010, 2020). L'anisotropie du muscle est étudiée dans la littérature notamment par (Van Loocke *et al.*, 2006) par des tests de compression sur des éprouvettes de muscles à différentes orientations de fibres musculaires. Ces résultats montrent une contrainte plus importante pour des sollicitations transversales au muscle ($\sigma \approx 4$ kPa), par rapport aux sollicitations longitudinales ($\sigma \approx 2$ kPa). L'anisotropie du muscle est aussi observable *in vivo* par des méthodes d'élastographie par IRM (Qin *et al.*, 2014) ou ultrasonore (Gennisson *et al.*, 2010; Chatelin *et al.*, 2015). La vitesse de propagation des ondes (et donc le module de cisaillement calculé à partir de ces vitesses) varie selon l'angle de rotation de la sonde (soit l'angle de sollicitation), avec une vitesse de propagation plus faible dans le sens transversal ($v \approx 1,8$ m.s⁻¹) que dans le sens longitudinal des fibres musculaires ($v \approx 6$ m.s⁻¹). Les méthodes d'élastographie permettent aussi de mettre en évidence le caractère anisotrope du muscle squelettique par acquisition des modules de cisaillement perpendiculaire et parallèle aux fibres musculaires (Green *et al.*, 2013; Qin *et al.*, 2014 ; Bied *et al.*, 2021).

Le muscle squelettique est en grande partie composé d'eau ($\approx 79\%$ (Kastler *et al.*, 2011)), source d'une forte **incompressibilité**, à savoir une conservation importante de son volume sous contrainte. Cette incompressibilité s'exprime par un coefficient de poisson (ν) qui tend vers 0,5 (Fung et Cowin, 1994; Takaza *et al.*, 2013), ce qui s'exprime également par un module d'élasticité isostatique (K) très grand (Chakouch, 2015).

Le muscle squelettique est connu pour avoir un comportement plastique. **La plasticité musculaire** est la capacité du muscle à adapter sa structure et ses fonctions, source de déformations irréversibles indépendantes du temps lui permettant de s'adapter à son environnement et aux contraintes auxquelles il est soumis (Gransee *et al.*, 2012).

Lors de sa contraction, la force que le muscle développe est dépendante de sa longueur, de sa vitesse de contraction, ainsi que de son niveau d'activation. Expérimentalement, ces propriétés sont obtenues respectivement par les relations force-longueur, force-vitesse et force-activation. Ce sont ces relations, décrites ci-après, qui sont dans la majorité des cas retenues pour identifier les modèles comportementaux musculaires.

La **relation force-longueur** définit la force générée par le muscle en fonction de la longueur à laquelle il est étiré longitudinalement (*i.e.* dans l'axe des fibres musculaires), en relation avec deux mécanismes principaux : (1) Le premier mécanisme est lié au **comportement passif du muscle squelettique** et correspond à la contrainte développée par le muscle lors de son étirement dans l'axe des fibres, au-delà de la longueur optimale (L_0 , correspondant à la longueur du muscle où il développe le plus de force de contraction lors de son activation). A cette longueur L_0 , la contrainte passive développée par le muscle est proche de zéro, puis augmente lorsque le muscle est étiré. Ce développement de contrainte, développé par la suite dans ce manuscrit en section I.2.1 est principalement lié à la MEC du muscle, ainsi qu'à la protéine titine (section I.1.4). Le deuxième mécanisme se réfère au **comportement actif du muscle squelettique** et correspond à la force développée lors de la contraction musculaire. Comme représentée en Figure. 2, cette force va dépendre de l'état d'étirement des sarcomères dans les fibres musculaires et donc de la quantité de liaisons entre les filaments d'actine et de myosine (Huxley et Niedergerke.,1954). Elle est maximale lorsque le muscle est placé à sa L_0 . En dessous de cette longueur, les filaments d'actine et de myosine se chevauchent de manière suboptimale (Figure. 2.B), entraînant une diminution de la force développée (Figure. 2.A). De même, au-delà de cette longueur, les filaments d'actine et de myosine se chevauchent de manière suboptimale, entraînant une diminution de la force développée.

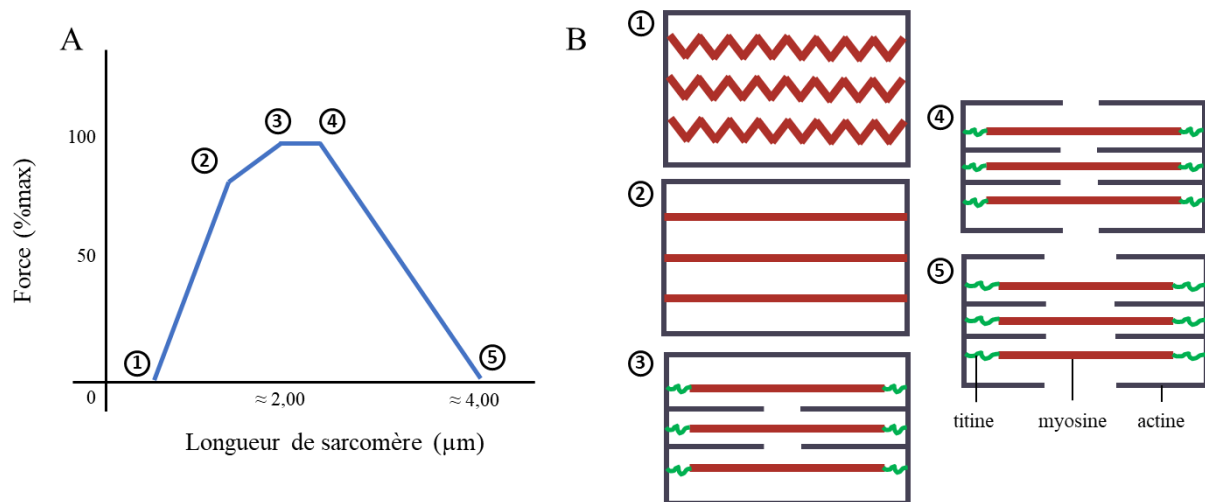


Figure. 2: Courbe caractéristique de la relation force-longueur (A), en fonction de l'état d'étirement des sarcomères (B). (Adapté de (Rassier et al., 1999)).

La **relation force-vitesse** définit la force générée par le muscle en fonction de sa vitesse de contraction. A l'inverse de la relation force-longueur, il n'existe pas de consensus sur les mécanismes sous-jacents, pouvant expliquer cette relation et l'allure de sa courbe en hyperbole (Figure. 3.A.B). Il existe cependant des hypothèses privilégiées pour expliquer la forme de cette courbe, notamment la cinétique de formation des ponts actine-myosine et un mécanisme de la contraction musculaire qui ne serait pas dépendant de la cinétique du calcium (Alcazar et al., 2019). Cette relation montre que lors d'une contraction concentrique (raccourcissement du muscle), plus la vitesse de raccourcissement du muscle est faible, plus la force qu'il développe est élevée. A l'inverse, plus il se raccourcit rapidement, plus la force développée est faible (Figure. 3.A). Lors d'une contraction excentrique (allongement du muscle), plus la vitesse à laquelle le muscle s'allonge est élevée, plus la force développée est faible. A l'inverse, plus le muscle s'allonge lentement, plus la force développée est élevée (Figure. 3.B).

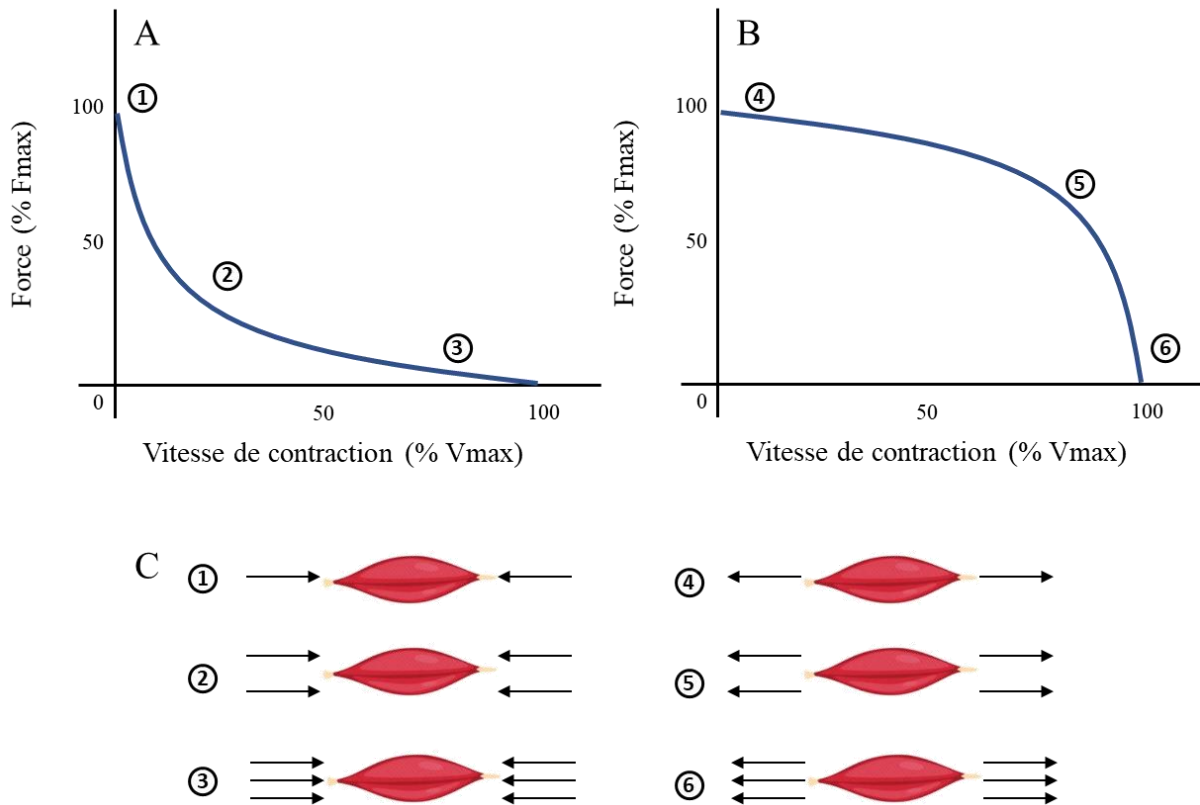


Figure. 3: Courbe caractéristique de la relation force-vitesse pour une contraction concentrique (A) et pour une contraction excentrique (B), en fonction de la vitesse de contraction du muscle (C). Le nombre de flèches représente la vitesse de contraction (1, 2, 3) et d'étirement musculaire (4, 5, 6).

La **relation force-activation** (ou **force-fréquence**) définit la force générée par le muscle en fonction du niveau d'activation généré par la fréquence d'arrivée des trains de potentiels d'action (PA) qui activent les fibres musculaires. Plus il y a de PA activant le muscle, plus il y a relargage d'ions calcium depuis le réticulum sarcoplasmique, augmentant la force produite jusqu'à saturation en calcium dans le sarcoplasme des fibres musculaires. Ceci se concrétise par un plateau de la force développée par le muscle (MacDougall *et al.*, 2020). De même, le phénomène de recrutement des fibres est impliqué dans cette relation : les fibres musculaires lentes nécessitant moins d'énergie sont les premières à s'activer, tandis que les fibres musculaires rapides nécessitant plus d'énergie sont les dernières à s'activer (Figure. 4.B). Cette relation peut être tracée (Figure. 4.A) à partir d'un test de force-fréquence présenté par la suite dans ce manuscrit.

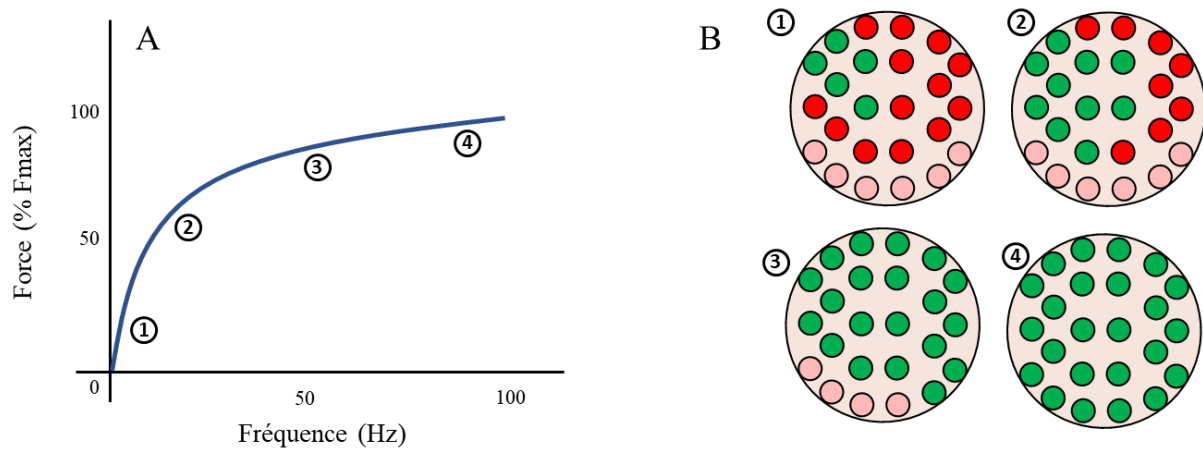


Figure. 4: Courbe caractéristique de la relation force-activation du muscle (A), en fonction du nombre de fibres musculaires activées lors de la contraction (B). Les fibres roses représentent les fibres rapides inactives, les fibres rouges représentent les fibres lentes inactives, et les fibres vertes représentent les fibres actives

I.1.4. Les structures liées aux propriétés mécaniques passives

Les propriétés mécaniques passives du muscle squelettique correspondent à sa réponse mécanique sous contraintes sans qu'il ne se contracte. Différents myofilaments internes aux fibres sont impliqués dans la réponse passive musculaire. Pour ne citer que les plus connus, on peut trouver : (1) **la nébuline** qui longe le filament d'actine et dont le rôle est la formation de liaisons entre l'actine et la myosine ainsi que la rigidification du filament d'actine (Kiss *et al.*, 2018); (2) **la desmine** présente dans le cytosquelette des cellules, qui relie les sarcomères à la membrane plasmique des fibres musculaires (sarcolemmes), ayant un rôle d'assemblage des myofibrilles et dont l'inhibition induit une modification de la rigidité musculaire chez les individus dépourvus de desmine (Charrier *et al.*, 2018); (3) **l'actine** présente sous forme de réseau, impliquée dans les propriétés mécaniques passives exprimées par le cytosquelette de par son rôle dans sa signalisation, migration et différenciation cellulaire (Asparuhova *et al.*, 2009; Roca-Cusachs *et al.*, 2013; Blanchoin *et al.*, 2014).

Cependant, c'est **la titine**, schématisée en Figure. 5, qui reste à ce jour la plus connue et étudiée. Elle se trouve dans les sarcomères, où chaque myofilament s'étend d'une extrémité du sarcomère (ligne-Z) jusqu'au centre du sarcomère (bande-M). Elle possède une région centrale riche en proline, glutamine, lysine et valine, ainsi que des régions proximale et distale *immunoglobuline-like-containing* (domaine-Ig) (Buck *et al.*, 2014).

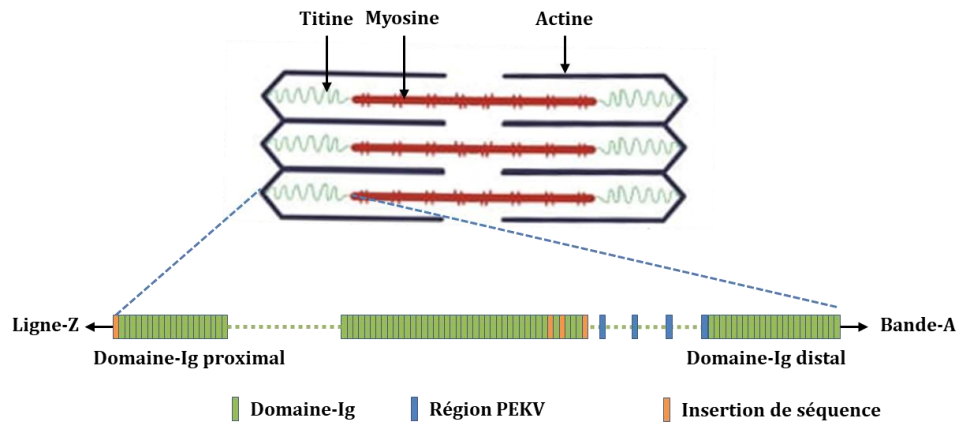


Figure. 5: Structure de la protéine géante de titine dans le sarcomère. (Adapté de Buck *et al.*, 2014).

Selon le muscle, la titine a des configurations géométriques différentes (isoformes) possédant des tailles et poids moléculaires différents (Linke, 2000, 2018; Kontogianni-Konstantopoulos *et al.*, 2009; Powers *et al.*, 2017). Ces différentes isoformes possèdent des rigidités variables et proportionnelles à leur taille : plus une isoforme est petite et légère, plus la protéine sera élastique (Prado *et al.*, 2005; Lindstedt et Nishikawa, 2017). Si cette protéine existe dans des isoformes variables, certaines anomalies génétiques sont responsables de pathologies musculaires appelées titinopathies induisant des variations des propriétés mécaniques.

La MEC joue aussi un rôle important dans le comportement mécanique passif du muscle. Elle est composée en grande partie d'un mélange de protéoglycanes dans lequel se trouvent des triples hélices de **filaments de collagène** organisées en réseau dense. Plusieurs types de collagène sont présents dans la MEC avec une prépondérance des types 1 et 3, représentant environ 75% du collagène musculaire (Csapo *et al.*, 2020). Les autres collagènes de types 4, 5, 6, 9 et 11 représentent les 25% restants.

L'organisation et le rôle de chaque réseau de collagène dans la MEC varient selon le type de collagène : les hélices de type 1 sont organisées en fibres parallèles donnant de la rigidité au muscle, tandis que les hélices de type 3 sont organisées en maillages lâches donnant de l'élasticité au muscle. La composition en collagène va dépendre du type de muscle : les muscles à contraction lente (impliqués principalement dans la posture) ont une proportion plus importante en type 1 tandis que les muscles à contraction rapide (impliqués dans les mouvements explosifs) ont une proportion plus importante en type 3 (Riso *et al.*, 2016). La composition en collagène de la MEC dépend de la couche de tissu conjonctif dans lequel on se situe : on trouve une prédominance du collagène de type 1 dans le périmysium tandis que le

type 3 est prédominant dans l'endomysium et l'épimysium (Gillies et Lieber, 2011 ; Murphy et Ohlndieck, 2016).

I.1.5. Les structures liées aux propriétés mécaniques actives

Les propriétés mécaniques actives du muscle squelettique correspondent à son activité contractile. Elle se définit par un raccourcissement des sarcomères à l'intérieur des myofibrilles composant les fibres musculaires. Deux protéines, représentées en Figure. 6, sont connues pour être responsables de ces contractions : (1) **les filaments de myosine**, composés de deux chaînes lourdes formant la queue de myosine, et quatre chaînes légères formant la tête de myosine ; (2) **les filaments d'actine**, composés de deux chaînes d'actines globulaires en association hélicoïdale, contenant des troponines sensibles au calcium et des tropomyosines qui cachent les sites de liaison de la myosine.

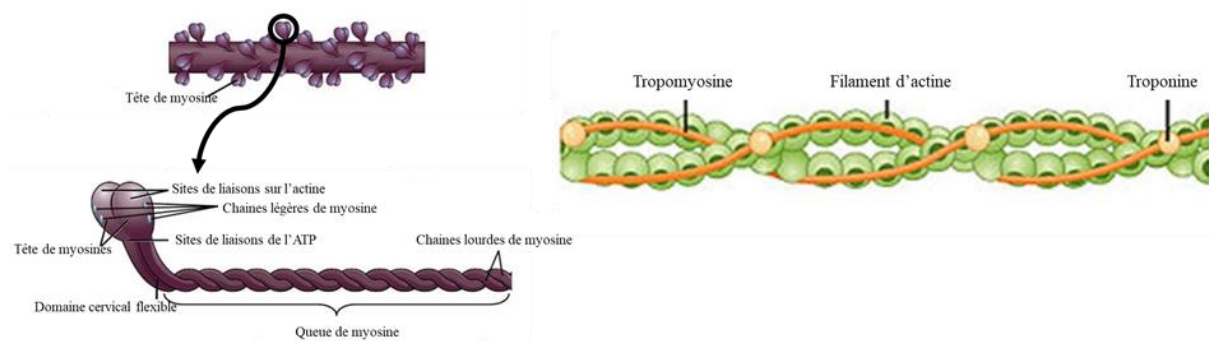


Figure. 6: Schéma du filament de myosine (à gauche) et du filament d'actine (à droite). (Adapté de (Canon, 2016)).

Une cascade complexe de réactions permet aux têtes des filaments de myosine de venir s'accrocher aux filaments d'actine, et de raccourcir le sarcomère par un mouvement de traction (Figure. 7). Brièvement, le PA va permettre la libération du calcium séquestré dans le réticulum sarcoplasmique des cellules musculaires. La présence de ce calcium et de molécules d'adénosine-triphosphate (ATP) va permettre l'accroche des têtes de myosine sur les filaments d'actine, et ainsi raccourcir les sarcomères par répétition de ce processus (Westerblad *et al.*, 2010).

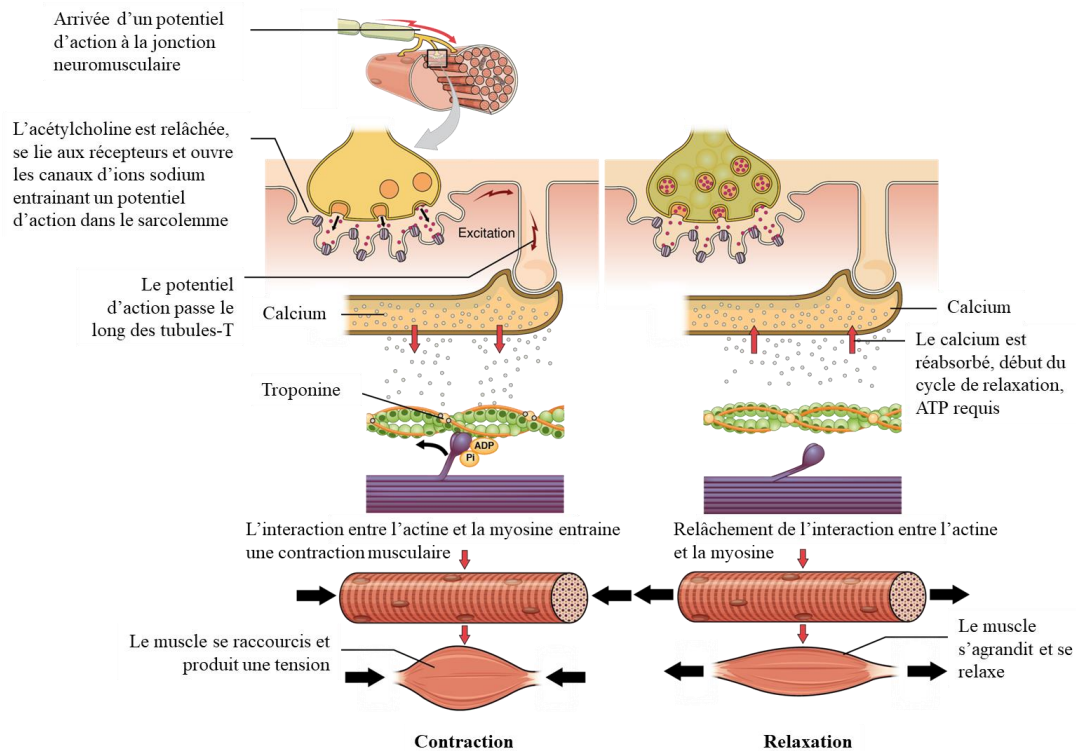


Figure. 7: Différentes étapes de la contraction musculaire jusqu'à la relaxation du muscle. (Traduit de (Gillett, 2021)).

I.1.6. Différents types de fibres et muscles squelettiques

Il existe trois types principaux de fibres selon les isoformes de myosine composant les sarcomères (Hopkins, 2006; Schiaffino et Reggiani, 2011; Bloemink et Geeves, 2011) :

Les fibres de type I sont appelées fibres lentes oxydatives. Elles utilisent de l'oxygène et du glucose pour fournir l'ATP nécessaire à la contraction musculaire. Ces fibres ont un diamètre plus petit que les autres fibres qui composent le muscle, elles sont très vascularisées et donc riches en hémoglobine, d'où leur couleur rouge. Elles n'ont pas pour but de développer beaucoup de force et sont résistantes à la fatigue.

Les fibres de type IIb et IIx sont appelées fibres rapides glycolytiques. Elles utilisent la glycolyse pour fournir l'ATP nécessaire à la contraction musculaire. Ces fibres ont des diamètres plus importants que les autres fibres qui composent le muscle. Elles sont peu vascularisées et donc pauvres en hémoglobine, d'où leur couleur blanche. Elles ont pour but de développer beaucoup de force mais sont peu résistantes à la fatigue.

Les fibres de type IIa sont appelées fibres rapides oxydatives. Elles utilisent la voie oxydative pour se fournir en ATP nécessaire à la contraction musculaire. Ces fibres ont des diamètres intermédiaires aux types I et IIb, elles sont moyennement vascularisées, entraînant une présence

moyenne d'hémoglobine, d'où leur couleur rose. Elles sont capables de développer plus de force que les fibres de type I tout en restant plus résistantes à la fatigue que les fibres de type IIb et IIx.

Tableau 1: Comparaison des propriétés physiologiques des différents types de fibre. (Traduit de Hopkins, 2006)

	Type I	Type IIa	Type IIx-IIb
Diamètre	Petit	Intermédiaire	Large
Taille sarcomère	Petite	Intermédiaire	Large
Recrutement	Tôt	Intermédiaire	Tard
Contraction	Lente	Rapide	Rapide
Contraction instantanée (twitch)	Longue	Courte	Courte
Séquestration du calcium	Lente	Rapide	Rapide
Capillarisation	Abondante	Intermédiaire	Faible
Capacité glycolytique	Faible	Intermédiaire	Elevée
Capacité oxydative	Elevée	Elevée	Faible
Myoglobine	Elevée	Intermédiaire	Faible
Glycogène	Faible	Intermédiaire	Elevée
Myosine ATPase	Lente	Rapide	Rapide

Les trois types de fibres représentés en Tableau. 1 sont dites « pures » car elles ne possèdent qu'un isoforme de myosine. En outre, il existe des types de fibres dites « hybrides », possédant plusieurs isoformes de myosine (Pette et Staron, 1997, 2000). Selon la proportion en fibres composant le muscle, on distingue trois types de muscle :

Les muscles oxydatifs lents, composés en majorité de fibres lentes, sont principalement impliqués dans la posture et le maintien du corps. Ils ne sont pas ou très peu impliqués dans les mouvements dynamiques et puissants mais sont cependant très résistants à la fatigue. Le muscle le plus étudié dans la littérature en termes de modèle murin est le muscle soléaire (soleus) (Figure. 8). Il est situé dans le mollet chez l'Homme et dans les pattes arrière chez le rongeur, avec une proportion de fibres oxydatives ($\approx 40\%$ de type I, $\approx 40\%$ de type IIa et $\approx 20\%$ de type hybride I/IIa) élevée chez la souris (Augusto *et al.*, 2004).

Les muscles glycolytiques rapides, composés en majorité de fibres rapides sont principalement impliqués dans les mouvements dynamiques comme lors d'une course mais sont cependant peu résistants à la fatigue. Le muscle le plus étudié dans la littérature chez le modèle murin est le muscle long extenseur des orteils (Figure. 8) (EDL: *extensor digitorum longus*). Il est situé aussi dans le mollet chez l'Homme et dans les pattes arrière chez le rongeur, avec une proportion de fibres rapides glycolytiques ($\sim 88\%$ de type IIb) très élevée chez la souris

(Augusto *et al.*, 2004). D'autres muscles rapides sont étudiés dans la littérature, même si de façon plus marginale, comme le muscle tibial antérieur (TA), composé à ~90% de type IIb-IIx (Augusto *et al.*, 2004).

Les muscles intermédiaires, composés en majorité de fibres rapides oxydatives, sont comme les muscles lents oxydatifs, principalement impliqués dans la posture ou le maintien du corps et résistants à la fatigue. Le muscle intermédiaire le plus étudié est le muscle du diaphragme. Il est situé à la jonction entre le thorax et l'abdomen chez l'Homme et le rongeur avec une proportion importante de fibres rapides oxydatives (~55% de type IIa) (Greising *et al.*, 2015).

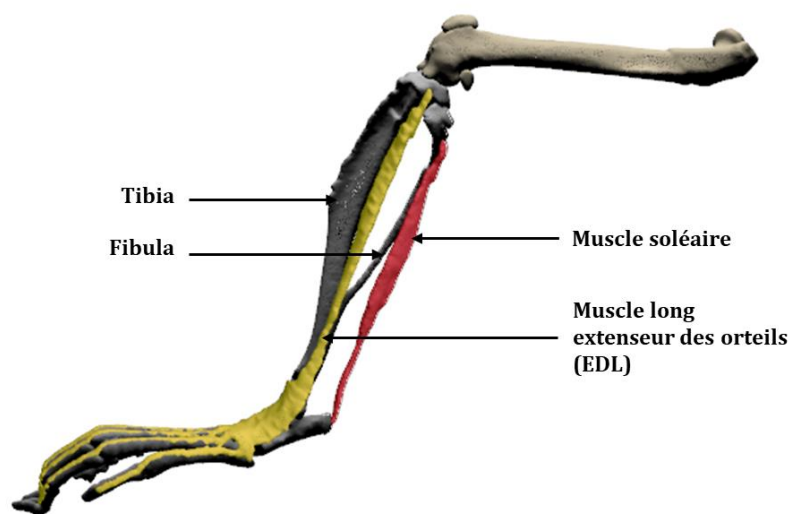


Figure. 8: Muscles lent soléaire (rouge) et rapide EDL (jaune) qui sont les plus analysés dans la littérature chez le modèle murin. (Adapté du modèle 3D de (Charles *et al.*, 2016)).

I.1.7. Modèle murin Klf10 (Krüppel-like factor 10) Knock-Out (KO)

Le muscle squelettique est un tissu avec une structure hiérarchique stricte et ordonnée, au même titre que les tissus tendineux et osseux. Son activité contractile lui permet d'être l'effecteur du mouvement et de la posture via son rattachement au système osseux par les tendons. Comme tous les organes, de nombreux facteurs peuvent influencer sa structure et sa physiologie, dont les plus communs sont : le vieillissement, les pathologies neuromusculaires, l'entraînement musculaire, mais aussi d'autres facteurs internes ou externes propres à chaque individu. Le gène Klf10, aussi appelé TIEG1 (*TGF β inducible early gene 1*), est un gène codant pour une protéine de la famille des *Kruppel-Like Factor* (Subramaniam *et al.*, 1995). Il s'agit d'un facteur de transcription de la protéine Klf10 connu pour inhiber Smad7, un régulateur de la voie des TGF β ,

et induire l'expression de Smad2, lui aussi impliqué dans la voie métabolique des TGF β . Il est montré dans la littérature que le gène Klf10 joue un rôle important dans les propriétés mécaniques et morphologiques de différents tissus tels que l'os - comme marqueur de l'ostéoporose (Hawse *et al.*, 2011) -, les tendons (Subramaniam *et al.*, 2005; Gumez *et al.*, 2010), mais également le tissu musculaire cardiaque où il est montré que son inhibition entraîne une hypertrophie, une fibrose et un désordre myofibrillaire (Rajamannan *et al.*, 2007). Il est montré que Klf10 est fortement exprimé dans le muscle strié squelettique (Blok *et al.*, 1995). Une étude réalisée par IRM a montré un changement de texture pour les muscles EDL et soléaire Klf10 KO par rapport aux muscles contrôles, ainsi que des changements structuraux comme une hypertrophie (augmentation du diamètre des fibres), une hyperplasie (augmentation du nombre de fibres), et un changement de la distribution de l'aire des fibres (Figure. 9 Figure. 10). Ces changements sont accompagnés d'une augmentation du pourcentage de fibres glycolytiques et d'une diminution du pourcentage de fibres oxydatives par rapport aux muscles contrôles (WT : *Wild Type*) (Kammoun *et al.*, 2017).

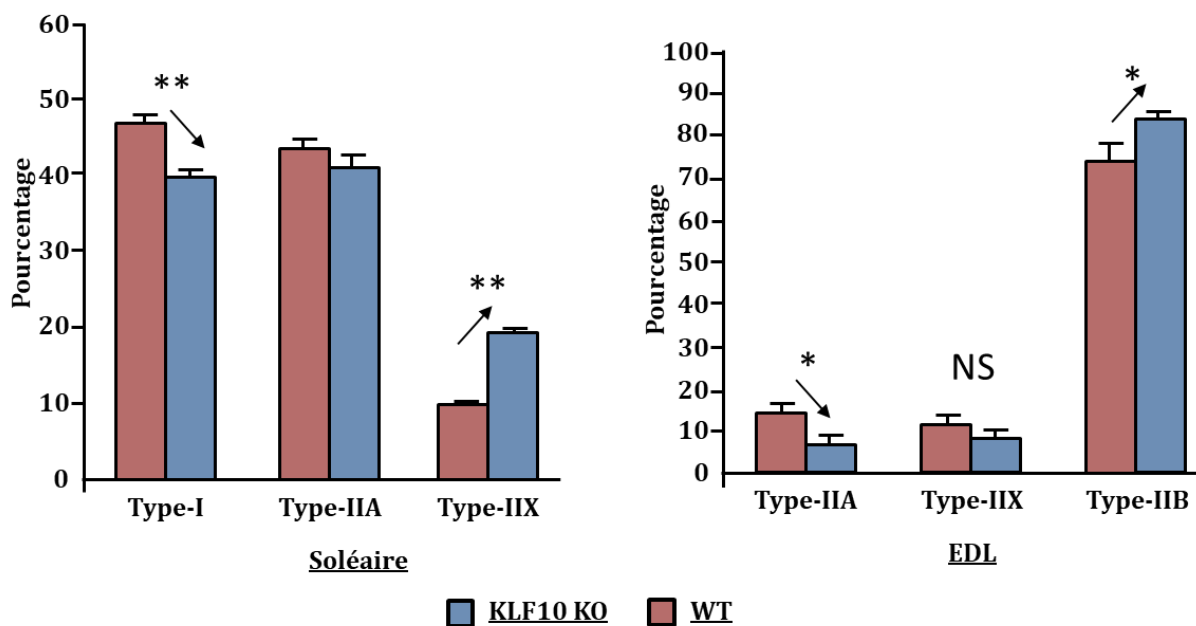


Figure. 9: Pourcentage du type de fibres I, IIA, IIB, IIX dans le muscle soléaire (gauche) et EDL (droite), pour les génotypes KLF10 KO (bleu) et WT : *Wild Type* (rouge). *: $p < 0,05$; **: $p < 0,01$; NS: non significatif. (Adapté de (Kammoun *et al.*, 2016)).

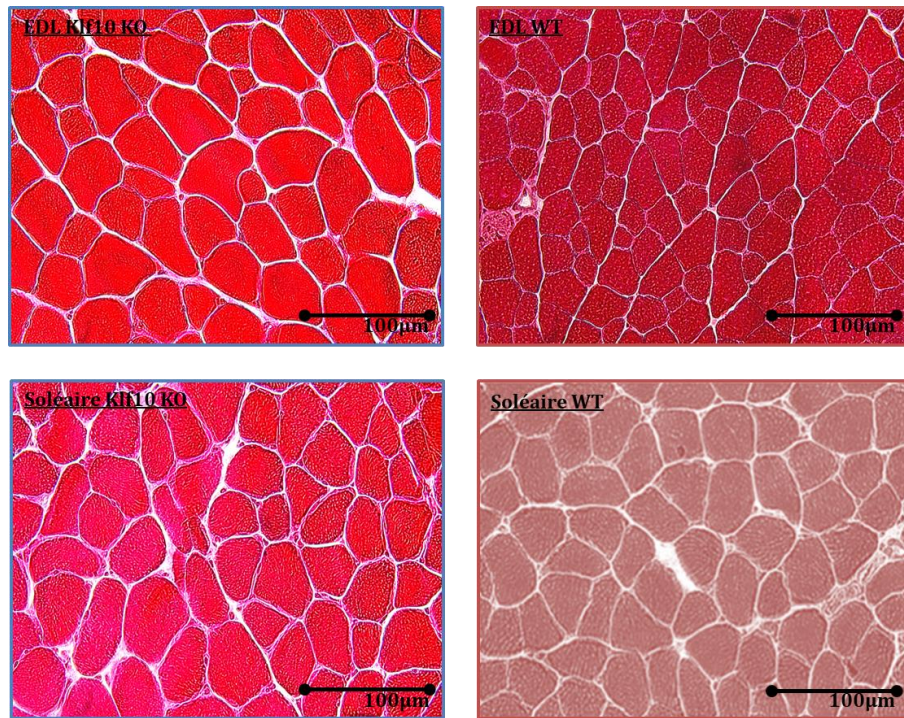


Figure. 10: Coupes histologiques de muscles EDL et soléaire, pour les génotypes KLF10 KO (colonne gauche) et contrôles (colonne droite). (Adapté de (Kammoun et al., 2017)).

Quelques années plus tard au sein de la même équipe du BMBI, une étude a mis en avant le rôle du gène *Klf10* dans le développement et la fonction du muscle. En effet, l'invalidation du gène entraîne une désorganisation de la structure du muscle avec des sarcomères plus petits, une absence de bande-I, et une diminution de la quantité et de l'activité des mitochondries (Figure. 11) (Kammoun *et al.*, 2020).

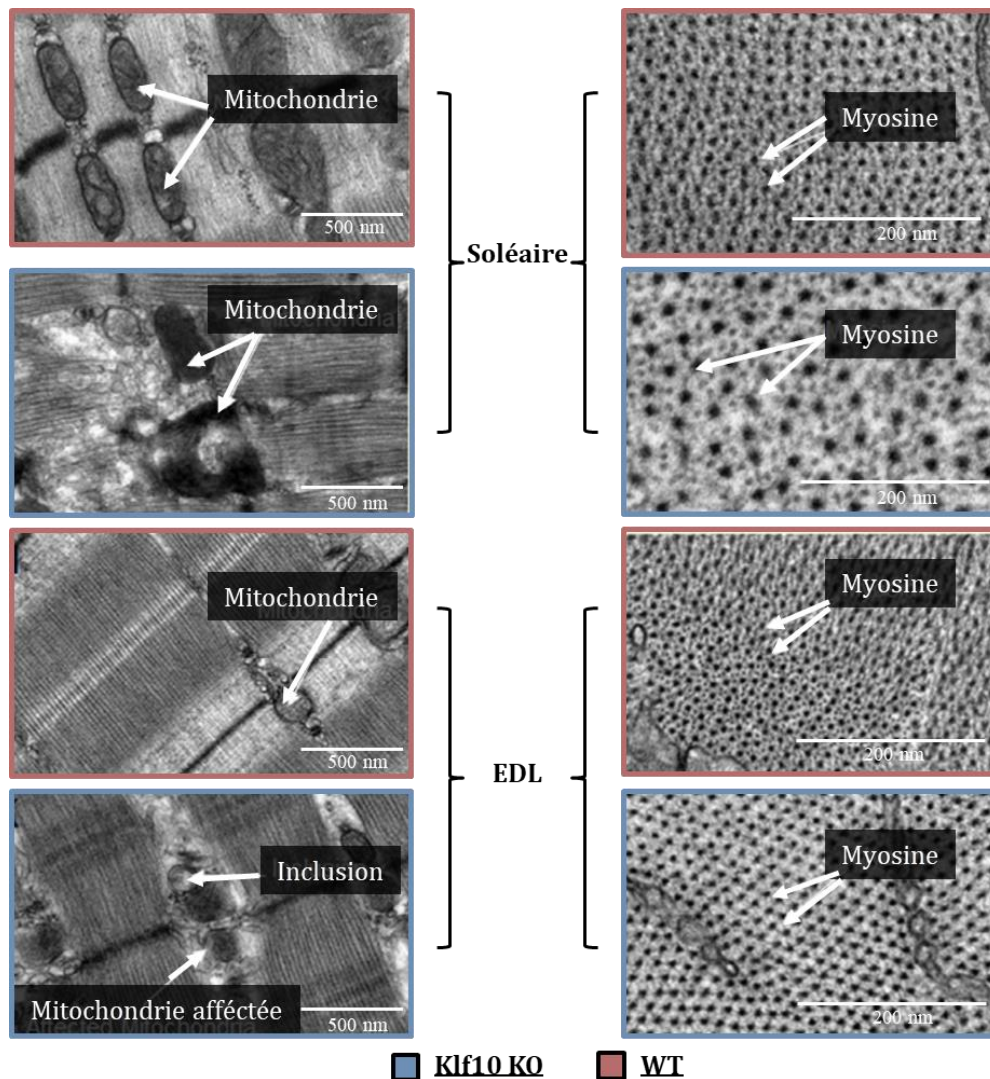


Figure. 11: Observation par microscopie électronique en transmission (TEM) de la structure myofibrillaire (noyaux de myosines et mitochondries) des muscles soléaires et EDL, pour les génotypes *Klf10* KO et WT. (Adapté de (Kammoun et al., 2019).

Toutes ces modifications structurelles et fonctionnelles entraînent des anomalies dans les comportements mécaniques passif (Kammoun et al., 2016) et actif (Kammoun et al., 2021) des muscles squelettiques soléaires et EDL à l'échelle de la fibre. En effet, les propriétés mécaniques passives des fibres dépourvues du gène *KLF10* ont montré une augmentation de la rigidité des fibres lentes (type I) extraites de muscles soléaires, et à l'inverse une diminution de la rigidité pour les fibres rapides (type IIb-IIx) extraites de muscles EDL (Figure. 12 et Figure. 13) (Kammoun et al., 2016).

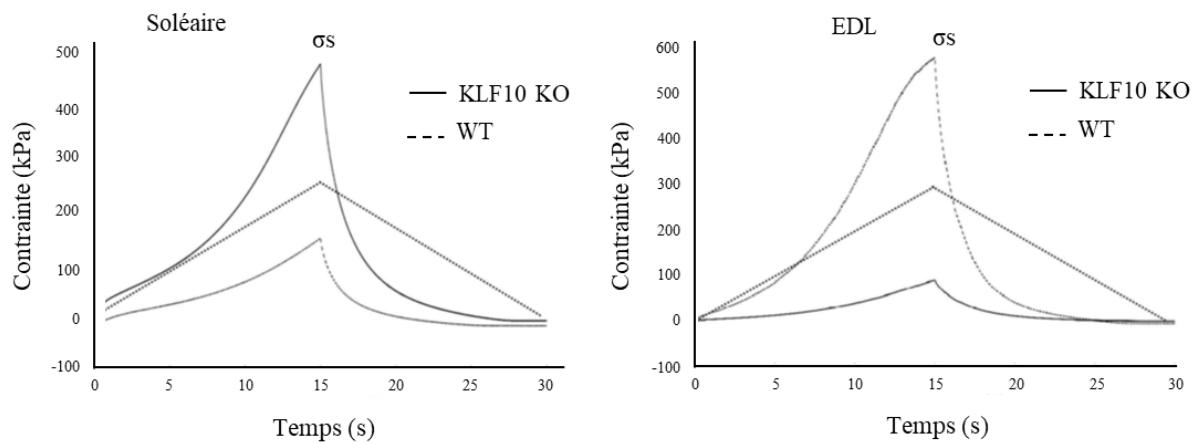


Figure. 12: Courbes caractéristiques du comportement mécanique des fibres musculaires de muscles soléaires (gauche) et EDL (droite) pour les génotypes *Klf10* KO et WT pour un test de rampe. (Kammoun et al., 2016).

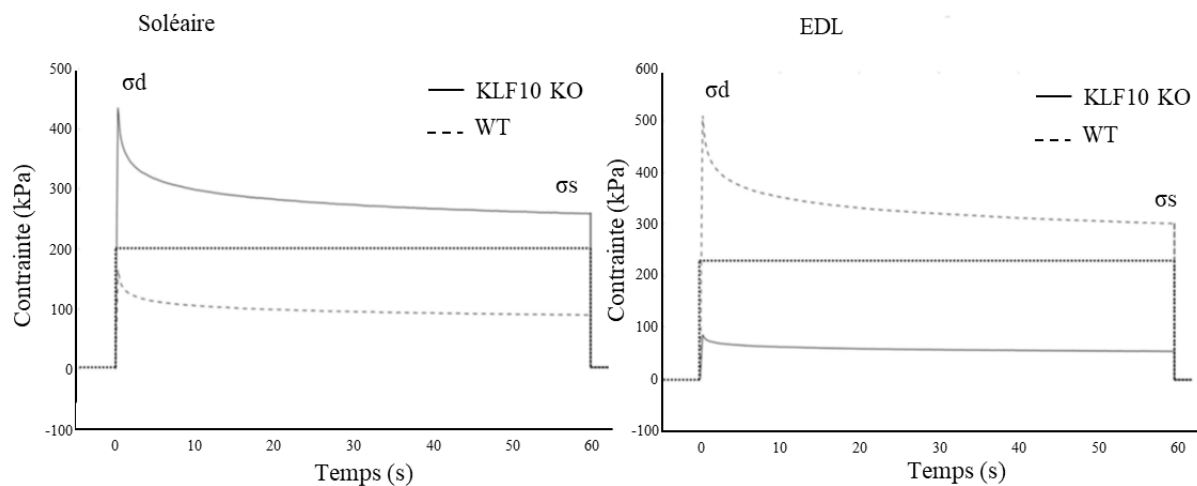


Figure. 13: Courbes représentatives du comportement mécanique des fibres de muscles soléaires (gauche) et EDL (droite) pour les génotypes *Klf10* KO et WT pour un test de relaxation. (Adapté de Kammoun et al., 2016).

D'autres études plus récentes que nous sommes en train de mener sur l'impact de la délétion de ce gène sur le vieillissement tendent à montrer que la délétion de ce gène pourrait entraîner une baisse de la rigidité musculaire chez des souris âgées de 21 mois (Tatarenko *et al.*, 2022). Ces résultats ne sont pas développés dans ce manuscrit du fait que l'étude n'est pas encore achevée, et ont fait l'œuvre d'une présentation poster aux World Congress of Biomechanics de 2022.

Si les propriétés passives sont impactées par l'expression du gène *Klf10*, les propriétés actives le sont aussi avec une diminution des rigidités actives développées par les fibres lentes extraites du muscle soléaire *Klf10* KO, diminution interprétable comme étant liée au dysfonctionnement des mitochondries dont sont très dépendantes les fibres oxydatives lentes (Figure. 14). A l'inverse, une augmentation des contraintes actives développées pour les fibres rapides extraites de muscles EDL *Klf10* KO est observée. Cette augmentation s'explique par l'hypertrophie des

fibres et des myosines induite par la délétion du gène KLF10, mais aussi par le fait que ces fibres ne sont pas dépendantes de la respiration mitochondriale dysfonctionnelle (Figure. 15) (Kammoun *et al.*, 2021).

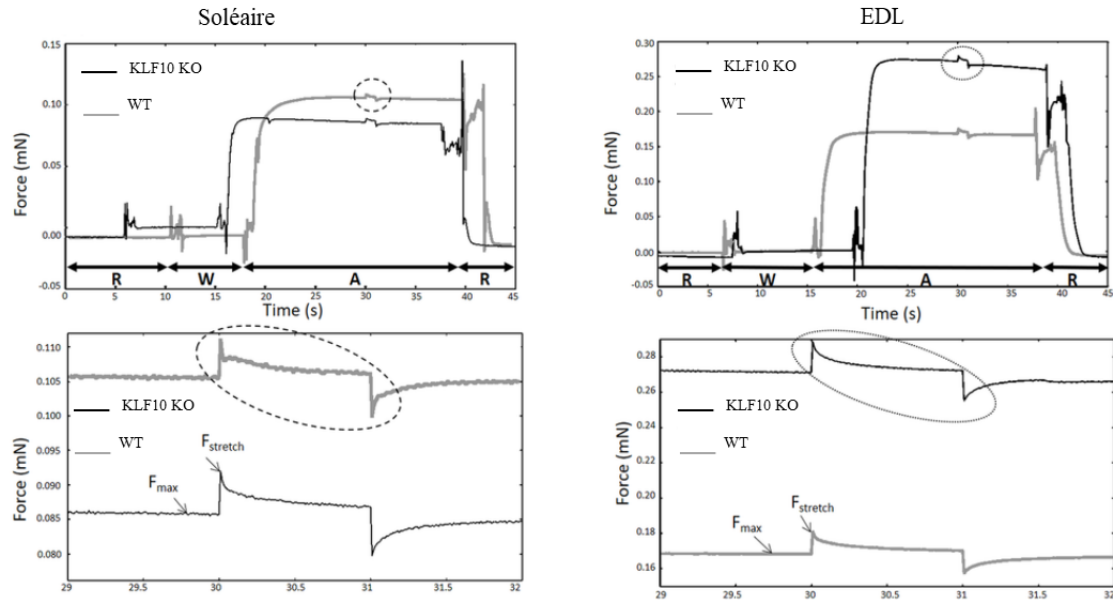


Figure. 14: Courbes représentatives d'un test d'activation puis d'étirement pour des fibres de muscles soléaires (gauche) et EDL (droite) pour les génotypes *Klf10* KO (noir) et WT (gris). F_{max} : Force maximale développée par la fibre pour une activation au calcium; $F_{stretch}$: force développée par la fibre lors d'un étirement pendant son activation. R, W, A sont les solutions présentes dans les bains successifs dans lesquels sont plongées les fibres pendant le test. R : solution de repos ; W : solution de nettoyage (washing) ; A : solution d'activation (adapté de (Kammoun *et al.*, 2021)).

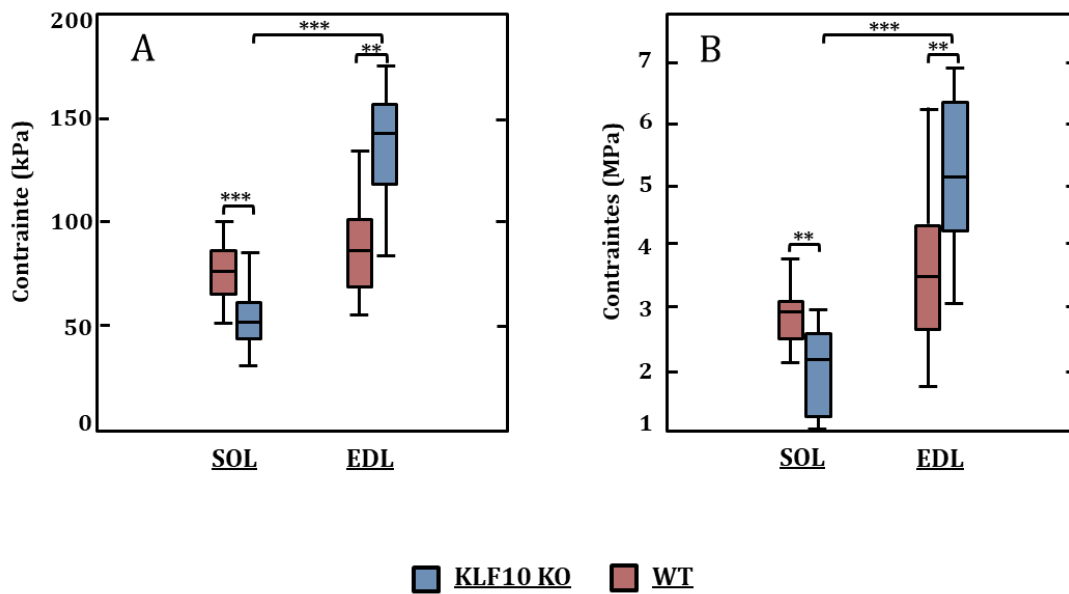


Figure. 15: Comparaison des contraintes maximales (A) et de la rigidité lors de l'étirement de la fibre pendant son activation (B) des fibres extraites de muscles soléaires et EDL pour les génotypes *Klf10* KO (bleu) et WT (rouge). **: $p < 0,01$; ***: $p < 0,001$. (Adapté de (Kammoun *et al.*, 2021)).

I.2. Caractérisations mécaniques expérimentales

La caractérisation des propriétés mécaniques est une étape cruciale dans la compréhension du comportement du muscle. On trouve dans la littérature trois principales méthodes de caractérisation mécanique du muscle squelettique, avec chacune des avantages et des inconvénients.

La caractérisation *in vitro* consiste en un retrait du tissu de son milieu naturel avant expérimentation. Le muscle peut être plongé dans une solution saline maintenue à température constante et oxygénée, servant à mimer son milieu naturel. Cette méthode est fortement invasive et entraîne généralement le sacrifice de l'animal. L'expérimentation *in vitro* est plus simple à mettre en place puisque le muscle est plus facile d'accès une fois son retrait de l'animal. Cela permet aussi via la solution dans laquelle il est plongé pendant les tests de faire varier les conditions expérimentales comme la température, l'oxygénation, ou encore la contenance de la solution saline. Cependant, les propriétés mécaniques enregistrées lors des tests expérimentaux peuvent légèrement différer de celles d'un muscle dans son milieu physiologique.

La caractérisation *in vivo* consiste en l'étude du tissu sans le retirer de son milieu physiologique. Cette méthode est le plus souvent non-invasive et il est notamment possible de la réaliser grâce à des techniques d'imagerie médicale pour mesures percutanées. On a donc des méthodes n'entraînant pas le sacrifice de l'animal, et les propriétés mécaniques sont au plus proche de la réalité. Cependant, même s'il est impossible avec cette caractérisation *in vivo* de faire varier les conditions expérimentales, les méthodes d'analyse et paramètres mécaniques mesurables sont plus restreints car le muscle n'est pas directement accessible. Malgré tous les avantages de cette méthode, il existe des différences de propriétés tissulaires par rapport aux muscles à l'état naturel puisque l'animal est anesthésié.

La caractérisation *in situ* consiste à étudier le tissu dans son milieu naturel, tout en ayant accès au muscle de manière invasive. Intermédiaire entre les deux approches précédemment évoquées, elle permet de moduler plus librement le protocole expérimental.

Il est donc important de bien choisir la voie de test qui sera appliquée pour mesurer les paramètres mécaniques, comme décrit dans les paragraphes ci-après.

La plupart des comparaisons de ces résultats de la littérature est publiée dans le cadre de ma thèse de doctorat (Tatarenko *et al.*, 2022).

I.2.1. Caractérisation *in vitro* des propriétés mécaniques passives

Dans cette partie sont présentés les tests de caractérisation des propriétés mécaniques passives qui sont le plus couramment utilisés dans la littérature sur muscles squelettiques murins. Nous verrons dans un premier temps les principes des tests ainsi que les paramètres mesurés, puis différentes applications pour lesquelles ils sont utilisés. Bien que d'autres formes de tests *in vitro* existent, nous nous consacrons ici aux tests les plus couramment décrits dans la littérature pour le muscle squelettique murin.

Dans le cadre d'une caractérisation *in vitro*, le muscle est extrait de son environnement naturel puis placé sur un système mécanique, où il est plongé dans une cuve remplie d'une solution mimant le milieu naturel du muscle. Il est ensuite placé à une certaine longueur correspondant à sa configuration initiale. On trouve dans la littérature deux possibilités :

La longueur "**slack length**" (L_s) qui correspond à la longueur où le muscle est tendu, mais ne développe presque aucune force passive, avec alors des forces longitudinales comprises entre 5 et 10 mN (Canon *et al.*, 2008 ; Toscano *et al.*, 2010).

La **longueur optimale** (L_o) qui correspond à la longueur où les filaments d'actine et de myosine des sarcomères du muscle présentent l'alignement permettant de développer une force maximale lors de la contraction musculaire. Pour le modèle murin, cela correspond à une longueur de sarcomères de l'ordre de 2,4 μm (Burkholder et Lieber, 2001). A l'inverse de L_s , L_o est indispensable pour les tests actifs afin que les muscles testés soient tous dans une configuration similaire et optimale de développement de force.

Tests de relaxation par extension incrémentale

Pour ce test, le muscle est placé à sa L_s , comme longueur initiale puis est soumis à une série d'étirements quasi-instantanés et sans stimulation électrique. Le muscle est maintenu à un premier niveau d'étirement jusqu'à atteindre un plateau de relaxation (où la force enregistrée est stabilisée), puis passe à un deuxième niveau d'étirement où il sera là aussi maintenu jusqu'au plateau de force, et ainsi de suite pour tous les étirements successifs (Figure. 16). Le muscle est ensuite relâché à sa longueur initiale. L'incrément du pourcentage d'élongation à chaque étirement est variable selon les auteurs, pouvant généralement varier de 2,5% (Smith et Barton, 2014; Brashear *et al.*, 2021) à 5% (Toscano *et al.*, 2010).

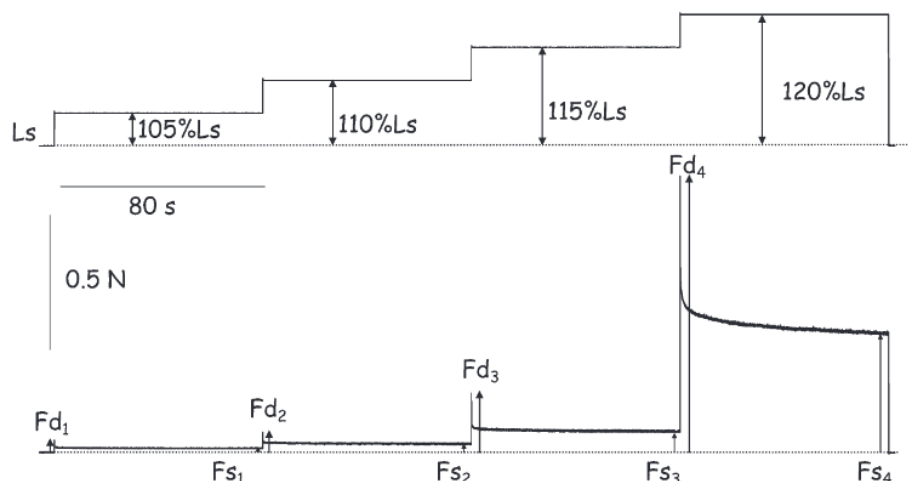


Figure. 16: Courbe représentative d'un test de relaxation par extension incrémentale. L_s : slack length; Fd_i ($i=1, 2, 3, 4$): les forces dynamiques aux pics d'étirement; Fs_i ($i=1, 2, 3, 4$): les forces statiques aux plateaux de relaxation (Toscano et al., 2010).

Il est possible de mesurer plusieurs paramètres : la **force dynamique** (F_d), correspondant à la valeur enregistrée au pic d'étirement pour chaque incrément, et la **contrainte statique** qui est la valeur enregistrée au plateau de relaxation pour chaque incrément lorsque la force développée est stabilisée à la valeur F_s . A partir de ces forces il est possible de déterminer les **contraintes dynamiques** (σ_d) et **statiques** (σ_s), en divisant la force enregistrée par l'aire de la section transversale (CSA : *cross section area*) du muscle (Del Prete et al., 2008):

$$CSA = \frac{m}{L_f \cdot 1.06} \quad (2)$$

où m (mg) représente la masse du muscle, L_f (mm) la longueur optimale des fibres du muscle relative à la longueur du muscle et la valeur 1,06 ($\text{kg} \cdot \text{dm}^{-3}$) la masse volumique du muscle. Il est possible d'étudier les propriétés élastiques à partir de ces paramètres de contraintes et les propriétés viscoélastiques à partir des temps que met le muscle à retourner à son état d'équilibre pour chaque incrément.

Dans la littérature, ce test est notamment utilisé pour l'étude du vieillissement musculaire chez le rat âgé de 1 mois (jeune rat) à 24 mois (rat âgé) par (Canon et al., 2008). Il y est montré que la rigidité des muscles soléaires augmente avec l'âge, avec des valeurs de contraintes dynamiques de 0,451 MPa chez les rats jeunes, contre 0,970 MPa chez les rats âgés. Ces changements de rigidité ont été montrés comme étant plus important dans le début de vie du rat qu'aux autres périodes ultérieures, pouvant être corrélé à une modification du type de collagène dans la matrice extracellulaire (MEC) lors du développement de l'individu.

En parallèle du vieillissement, ce test permet aussi l'étude de pathologies neuromusculaires comme les desminopathies (Anderson et al., 2001, 2002). Une augmentation des rigidités

passives et actives est constatée pour les muscles soléaires de souris dont le gène lié à la desmine est inhibée (souris desmine-KO) par rapport aux muscles de souris contrôles. D'autres pathologies telles que les titinopathies sont étudiées (Buck *et al.*, 2014 ; Brynnel *et al.*, 2018) chez des souris modifiées génétiquement pour exprimer des isoformes de titine plus courts et plus légers que les souris contrôles. Ces profils de souris ont montré des contraintes dynamiques et statiques plus élevées que la normale. (Brynnel *et al.*, 2018) ont cependant précisé que leurs résultats divergeaient de précédentes études qui montraient une plus grande implication du collagène de la MEC dans les propriétés mécaniques passives du muscle par rapport aux filaments de titine (Tirrell *et al.*, 2012).

La pathologie qui reste la plus étudiée à ce jour par ce type de tests est la myopathie de Duchenne (souris mdx). Ces souris ont montré une plus grande rigidité des muscles soléaires et EDL, représentée par des contraintes dynamiques plus élevées que celles développées par les souris contrôles, ainsi qu'une variation des propriétés mécaniques entraînées par le génotype mdx selon l'âge et le sexe (Hakim *et al.*, 2011, 2013; Hakim et Duan, 2012). Une augmentation des temps de relaxation chez les souris mdx est observée, démontrant une modification des propriétés viscoélastiques. Les souris mdx ont aussi été utilisées pour l'analyse de la MEC du fait de leur profil fibrotique (augmentation du volume de la MEC aux dépens des fibres dans le muscle) (Smith et Barton, 2014; Brashear *et al.*, 2021). Les résultats présentés ont montré que, pour les muscles rapides (EDL), une augmentation de la rigidité n'est pas accompagnée d'une augmentation de la concentration en collagène. A l'inverse, pour les muscles lents (soléaires), aucune augmentation de la rigidité des muscles n'est observable alors que la concentration en collagène matriciel augmente. La rigidité musculaire n'est donc pas à corrélérer avec la concentration en collagène de la MEC (Smith et Barton, 2014). En 2021, c'est l'architecture du collagène qui est analysée et les résultats ont montré une corrélation entre l'augmentation de la rigidité du muscle et l'architecture du collagène pour les deux types de muscles (Brashear *et al.*, 2021).

Malgré le fait que le test de relaxation par extension incrémentale soit souvent utilisé dans la littérature, le protocole expérimental varie grandement selon les études. En effet, on trouve différents taux d'étirement pour chaque incrément ainsi que différentes vitesses d'étirement du muscle, ce qui est notamment le cas entre les études de (Buck *et al.*, 2014) et celle de (Hakim *et al.*, 2011). De même, certains auteurs initialisent leurs muscles à la longueur L_s et d'autres à la longueur L_o .

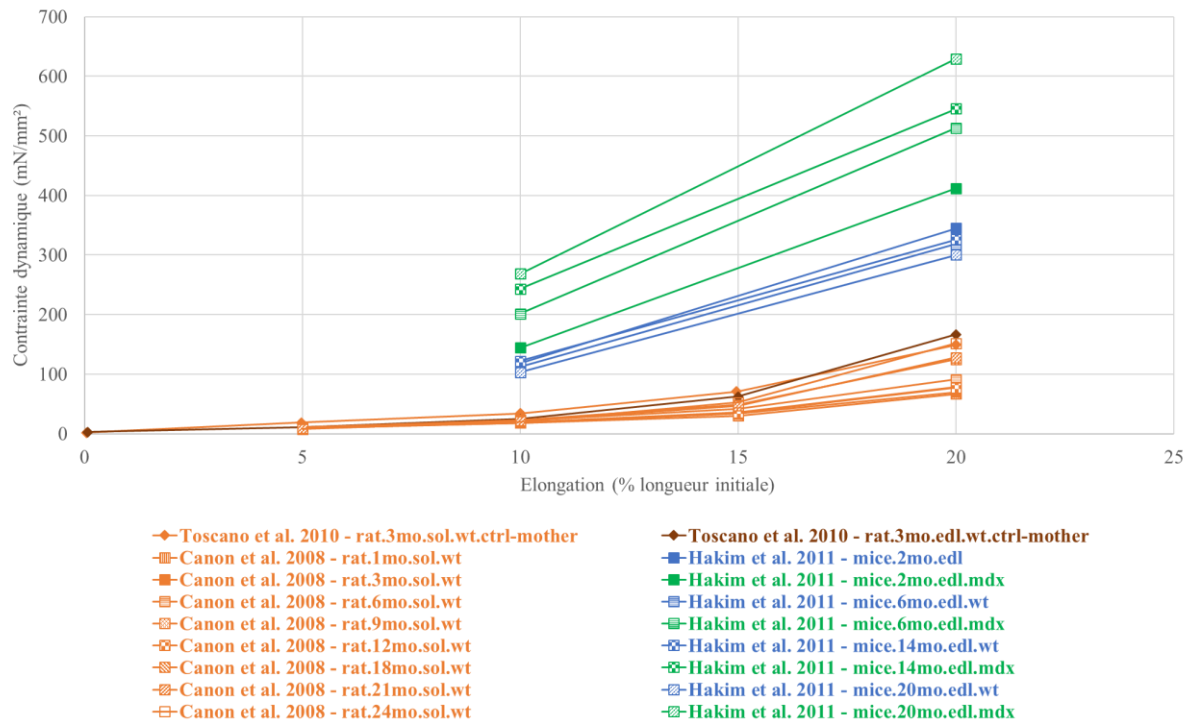


Figure. 17: Synthèse de plusieurs articles (Canon et al., 2008; Toscano et al., 2010; Hakim et al., 2011) de la contrainte dynamique à différents âges pour le muscle soléaire de rat contrôle (orange), le muscle EDL de souris contrôle (bleu), le muscle EDL de souris Duchenne KO (vert) lors d'un test de relaxation par extension incrémentale. (Adapté de (Tatarenko et al., 2022))

Le test d'étirement-relâchement

De même que pour le test précédent, le muscle est placé à sa L_s comme longueur initiale, puis est soumis à un étirement à vitesse constante sans stimulation électrique. Il est ensuite relâché pour revenir à sa longueur initiale (Figure. 18). A partir de ce test, deux paramètres peuvent être mesurés : la **contrainte statique** (σ_s) au **pic de déformation**, ainsi que le **module d'élasticité tangent** (E) à la courbe contrainte-déformation. Ce module E est calculé dans la partie linéaire des grandes déformations, entre 60 % et 80 % de la déformation totale (Hollenstein *et al.*, 2006).

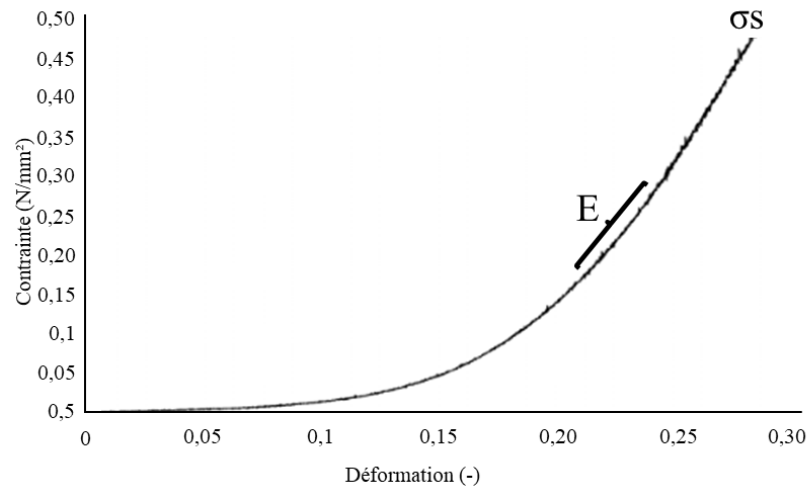


Figure. 18: Courbe caractéristique d'un test d'élongation et relâchement avec identification du module d'élasticité tangent E . (Adapté de (Toscano *et al.*, 2010)).

En 2008, ce test est utilisé en complément du test de relaxation par extensions incrémentales dans l'étude du vieillissement chez les rats (Canon *et al.*, 2008). Une augmentation du module E et de σ_s est reportée chez les rats âgés (24 mois) par rapport aux rats jeunes (1 mois). En 2010, ce test a permis d'étudier l'impact de la sous nutrition maternelle prénatale sur les propriétés mécaniques des muscles soléaire et EDL de rats nouveau-nés (Toscano *et al.*, 2010). Une rigidification des muscles apparaît en cas de sous nutrition maternelle. Ce test a aussi été utilisé dans la caractérisation mécanique à différentes échelles du muscle de rat (Bensamoun *et al.*, 2006).

Test de compression et étirement dynamique

Les tests de compression sont principalement utilisés pour la caractérisation transversale du muscle squelettique, de nombreuses structures n'étant pas dans l'alignement longitudinal du muscle, comme les filaments de desmine (Figure. 19) ou le collagène de la MEC. Comme pour les tests d'élongation, les valeurs de contraintes sont enregistrées aux pics de compression.

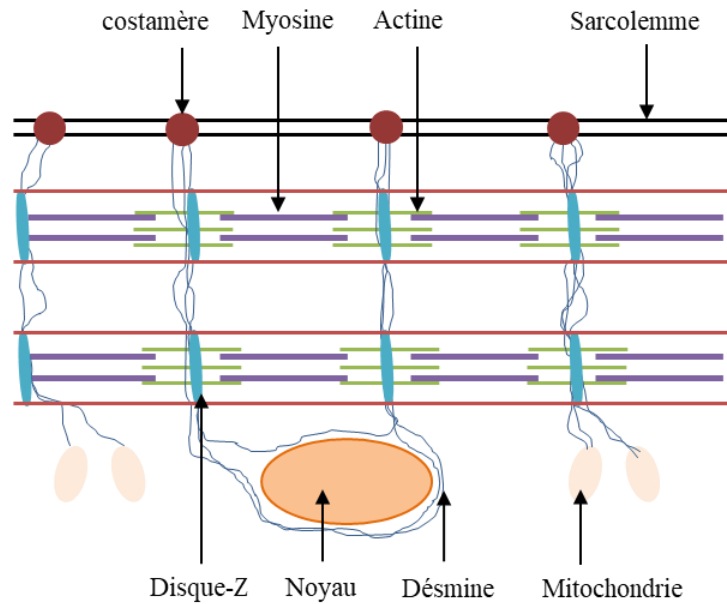


Figure. 19: Schéma de l'agencement des filaments de desmine à l'intérieur des fibres musculaire. (Adapté et traduit de (Koutakis et al., 2015)).

En 2021, des tests de compression ont été réalisés sur des muscles soléaires de lapin pour étudier les effets du vieillissement sur les variations des propriétés mécaniques au cours de la vie (Leichsenring *et al.*, 2021). Alors qu'une augmentation de la rigidité est observée chez des lapins entre 31 et 100 jours, aucune variation significative n'est observée sur les autres périodes de la vie.

Certains tests de compression sont utilisés dans la caractérisation de plus petites échelles, comme c'est le cas de la microscopie à force atomique (*Atomic Force Microscopy* ou AFM). Cette méthode permet de cartographier l'élasticité via une pointe qui va rentrer en contact avec le tissu. L'AFM est utilisée à l'échelle de la fibre (Kammoun *et al.*, 2019) pour révéler une rigidité plus importante au sein des sarcomères des fibres musculaires de muscles soléaires et EDL de souris dépourvues du gène *Klf10* par rapport à des souris contrôles (Figure. 20).

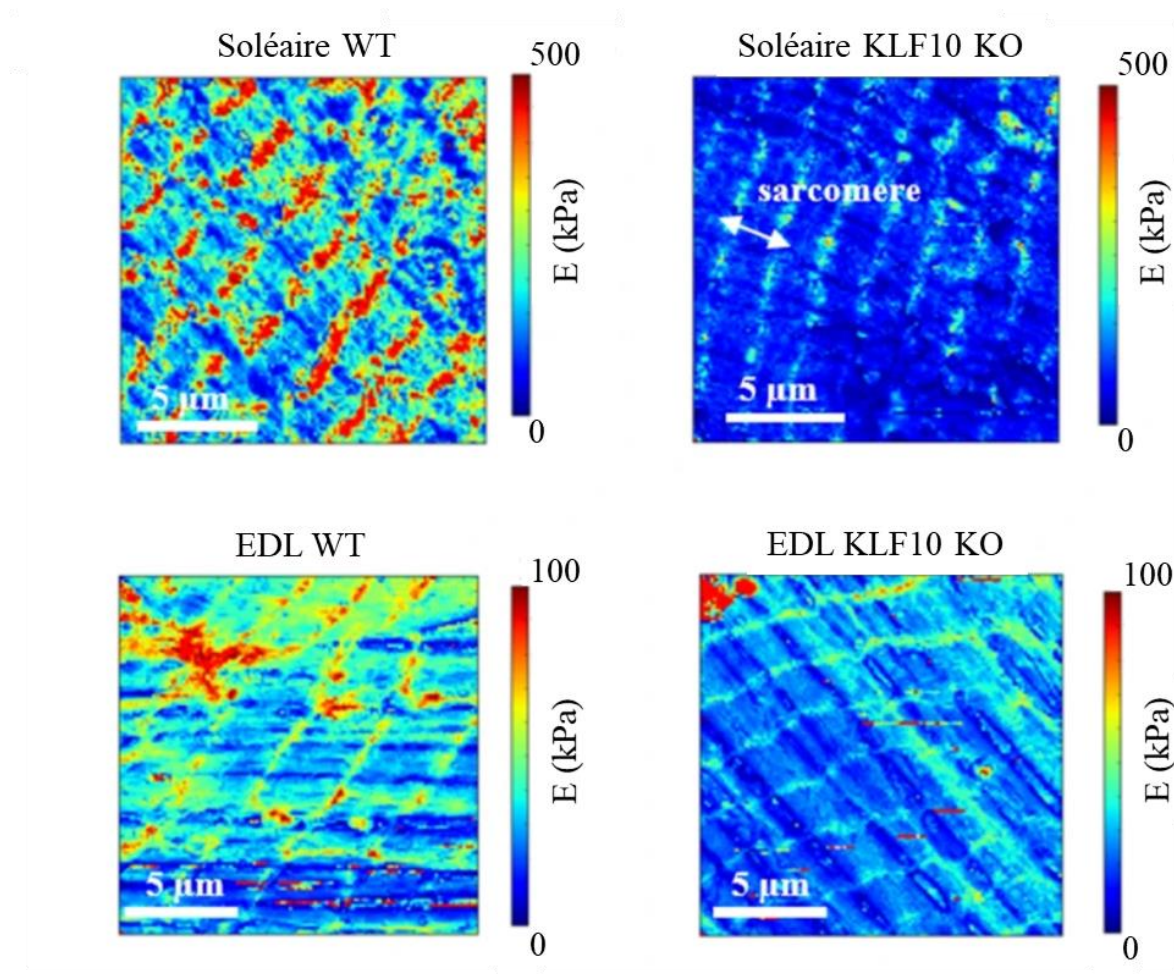


Figure. 20: Carte de l'élasticité obtenue par un protocole AFM pour les fibres de muscles soléaires (haut) et EDL (bas) de souris WT et Klf10 KO. (Kammoun et al., 2019)

Certains auteurs soumettent le muscle squelettique à des stimulations dynamiques pour le caractériser mécaniquement. Le muscle de souris a ainsi été testé avec des stimulations sinusoïdales (Stein et Gordon, 1986; Gordon et Stein, 1988) afin de caractériser les propriétés mécaniques passives des souris dépourvues de dystrophine.

I.2.2. Caractérisation *in vitro* des propriétés mécaniques actives

Dans cette partie sont présentés les tests de caractérisation des propriétés mécaniques actives qui sont le plus couramment utilisés dans la littérature. Nous verrons dans un premier temps le principe du test ainsi que les paramètres qu'il permet d'évaluer, puis différentes applications pour lesquelles il est utilisé.

Dans le cadre d'une caractérisation *in vitro* des propriétés actives, le muscle est placé à la longueur optimale L_0 où il développe sa force maximale lors d'une contraction. La stimulation

électrique du muscle se fait grâce à des électrodes placées de chaque côté du muscle dans la cuve où il baigne, permettant de simuler l'arrivée d'un PA. La composition de la solution saline, notamment par sa concentration en calcium et ATP, permet la contraction du muscle. Dans la littérature, quatre principaux tests permettent de caractériser le processus de raccourcissement des sarcomères : (1) le **test de relation force-fréquence**, (2) le **test de contraction supra-maximale**, (3) le **test de fatigue et récupération**, (4) le **test de contraction excentrique**. Nous allons voir successivement chacun de ses protocoles et applications aux muscles murins associées.

Tests de relation force-fréquence

Après avoir été étiré à la longueur L_0 , le muscle est stimulé électriquement selon une gamme de fréquences croissantes, allant généralement de 10 Hz à 300 Hz (Figure. 21). La force développée par le muscle augmente proportionnellement à la fréquence de stimulation électrique, de par la dépendance des niveaux d'intensité de contractions aux types de fibres musculaires présentes (Hopkins, 2006). A partir d'une certaine fréquence, le muscle atteint un plateau de force, correspondant à la fréquence à laquelle toutes les fibres qui le composent sont activées. Il est possible d'analyser de deux façons les résultats obtenus par ce test : (1) par analyse de la **force en fonction de la fréquence de stimulation électrique**, (2) par analyse de la **contrainte en fonction de la fréquence de stimulation électrique**.

L'analyse du pourcentage de force maximale (F_{max}) développée en fonction de la fréquence de stimulation constitue la première approche. A partir de quoi, il est possible de comparer les compositions en fibres lentes et rapides à partir des pourcentages de forces développées par les muscles à chaque fréquence de stimulation. Plus le pourcentage est faible, plus la composition en fibres rapides est élevée. Il est admis dans la littérature que le muscle soléaire atteint son plateau à une fréquence de stimulation plus faible que le muscle EDL chez la souris (Barton *et al.*, 2019), à respectivement 80 Hz et 120 Hz en moyenne. Jusqu'à 80 Hz de stimulation, à fréquence équivalente, le muscle EDL développera un pourcentage de sa force maximale inférieur à celui du muscle soléaire ce qui concorde avec le fait que le muscle soléaire est un muscle lent et l'EDL un muscle rapide. Il est donc possible d'observer des variations entre même type de muscle dans des cas de changements importants dans leurs compositions en fibres, pouvant apparaître notamment par le vieillissement, ou l'entraînement musculaire.

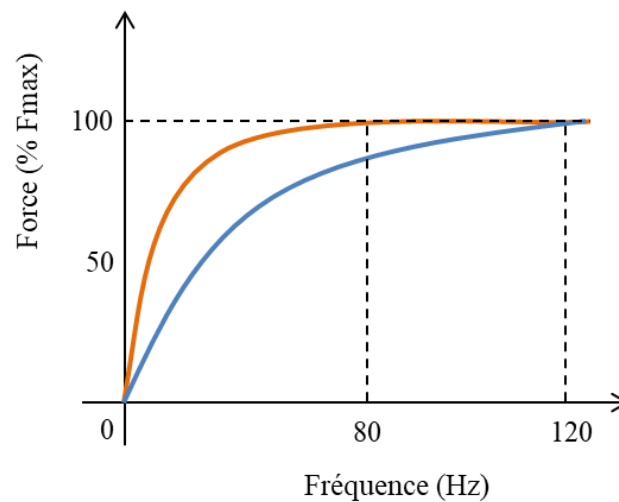


Figure. 21: Courbes caractéristiques d'un test de force-fréquence pour un muscle soléaire (orange) et EDL (bleu).

La deuxième approche consiste à analyser l'évolution de la contrainte en fonction de la fréquence d'activation électrique. Cette approche donne des informations sur l'état fonctionnel du muscle. Une étude a ainsi montré des différences de contraintes développées entre des souris de 4 mois et 21 mois avec une diminution pour les souris âgées pour une même fréquence optimale de stimulation (Moran *et al.*, 2005). De la même façon, ce type d'analyse a permis de mettre en évidence qu'un traitement à la créatine pouvait augmenter la résistance à la fatigue suite à un effort musculaire, avec une augmentation de la contrainte contractile développée chez les souris traitées à la créatine (Head *et al.*, 2011). Comme pour les tests de caractérisation passive, de nombreuses études caractérisent le comportement actif du muscle de souris mdx (myopathies de Duchenne) avec une dégradation des propriétés contractiles en fonction de l'âge (Hakim *et al.*, 2013). Les bénéfices d'un traitement de plusieurs semaines de muscles EDL de souris mdx à l'arginine ont été observés (Barton *et al.*, 2005). De nombreuses études utilisant des lignées pathologiques sont présentes dans la littérature (Figure. 22) (Tatarenko *et al.*, 2022). Le test précédemment évoqué est alors très largement utilisé afin de caractériser le système contractile musculaire lors de l'inhibition, que ce soit en lien avec un gène lié au développement du muscle (Sitparan *et al.*, 2014), avec un régulateur de la masse du muscle (D'Hulst *et al.*, 2020) ou encore avec le rôle de la titine dans les propriétés contractiles du muscle (Buck *et al.*, 2014).

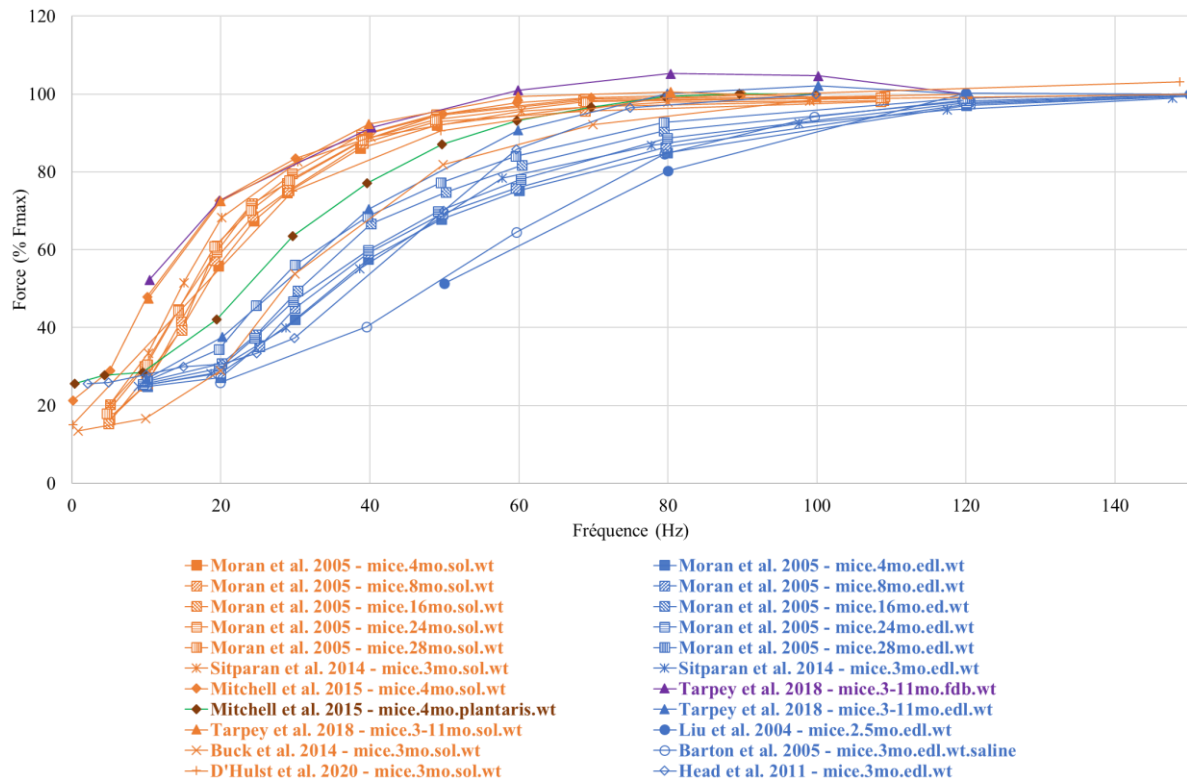


Figure 22: Synthèse de plusieurs articles (Barton et al., 2005; Liu et al., 2005; Moran et al., 2005; Buck et al., 2014; Sitparan et al., 2014; Mitchell et al., 2015; Tarpey et al., 2018; D'Hulst et al., 2020) utilisant le test de force-fréquence, à différents âges, pour le muscle soléaire (orange), EDL (bleu), plantaris (marron), flexor digitorum brevis (mauve). (Adapté de (Tatarenko et al., 2022)).

Tests de contraction supramaximale

Les tests de contraction supramaximale sont possibles soit en stimulation instantanée (moins de 2 ms), appelée un **twitch** ou **contraction twitch**, soit en stimulation longue (de l'ordre de la seconde), appelée un **tétanos** ou **contraction tétanique**. Ces tests consistent en une stimulation électrique à une fréquence suffisamment élevée pour activer toutes les fibres du muscle. Cette fréquence est généralement très élevée par rapport à la fréquence de plateau obtenue lors du test de force-fréquence et va varier selon le type de muscle testé (entre 100 Hz et 300 Hz). Pour ce test, le muscle a besoin d'être mis à sa longueur optimale L_0 , puis est soumis à une contraction **twitch** ou tétanique. Il est possible de mesurer les mêmes paramètres sur ces deux types de contractions qui sont : le **temps jusqu'au pic de force** (*Time to Pic Force* ou TPF) aussi appelé **temps au pic de tension** (*Time to Pic Tension* ou TPT), le temps de **demi- relaxation** (HRT: Half Relaxation Time), et la **contrainte maximale** (MS: Maximal Stress) (Figure. 23).

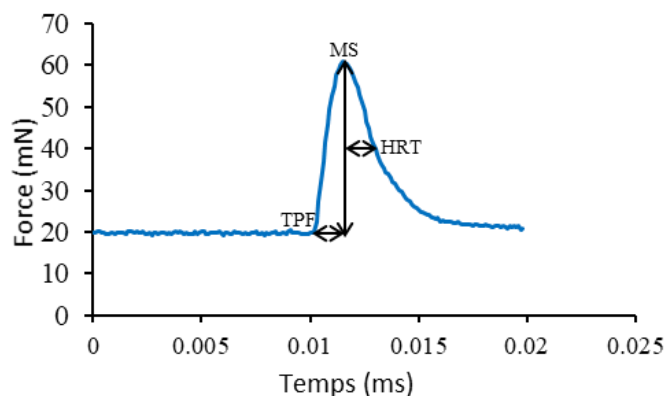


Figure. 23: Courbe représentative d'un test de contraction twitch.

Ces trois paramètres permettent notamment la caractérisation de la cinétique du calcium avec : le TPF lié au temps de séquestration du calcium dans le réticulum sarcoplasmique, le HRT correspondant à son temps de réabsorption dans le réticulum et le MS qui est lié à la force maximale que peut développer le muscle (Ortenblad *et al.*, 2000; Robbins *et al.*, 2010). Il est plus fréquent de trouver dans la littérature la caractérisation d'une seule des deux contractions, même si certaines études comme celles de (Buck *et al.*, 2014) caractérisent les variations de cinétique pour les deux types de contractions. Cette étude a montré qu'il est possible d'observer des variations de paramètres de contraction pour le *twitch* qui ne sont pas observables pour le téтанos, et à l'inverse des différences de paramètres de contractions téтанiques qui ne sont pas observables pour les contractions *twitch*, pour des muscles soléaires et EDL.

Les muscles lents et rapides ont des propriétés mécaniques de contractions différentes dues aux différents types de protéines contractiles, et plus particulièrement aux isoformes de myosines. Cela induit des différences quant aux paramètres TPF, HRT et MS lors d'une contraction. Lorsque l'on compare un muscle soléaire et un muscle EDL, on se rend compte que le muscle lent a des HRT et TPF deux fois plus élevés, donc une contraction deux fois plus lente, comparé à un muscle rapide de souris jeune (Barton *et al.*, 2008). On retrouve des résultats similaires dans une étude sur le vieillissement de muscle soléaire et EDL, avec un ralentissement de la contraction du muscle EDL caractérisée par une augmentation du HRT de 8 ms entre les muscles jeunes de 4 mois et les muscles âgés (Moran *et al.*, 2005). Le muscle soléaire montre quant à lui une diminution de 70 kPa de la contrainte de contraction développée entre des souris de 8 mois et celles de 28 mois.

Les mêmes types de changements sont observables lors de tests de contraction téтанos (Smith et Barton, 2014; Brashear *et al.*, 2021) sur des muscles soléaires et EDL de souris mdx atteintes

de la myopathie de Duchenne. Les deux types de muscles présentent un ralentissement de leur vitesse de contraction, se traduisant par une augmentation du TPF et du HRT, ainsi que par une diminution de la contrainte maximale développée (Hakim *et al.*, 2011, 2013; Hakim et Duan, 2012). Ce test a aussi permis de caractériser le comportement des muscles soléaires et EDL pour les myopathies inflammatoires chez les souris atteinte de myopathie musculaire avec myosites (*muscular dystrophy myositis* ou mdm) où une vitesse de contraction plus lente et un temps de décontraction trois fois supérieurs aux souris saines ont été obtenus (Hessel *et al.*, 2019).

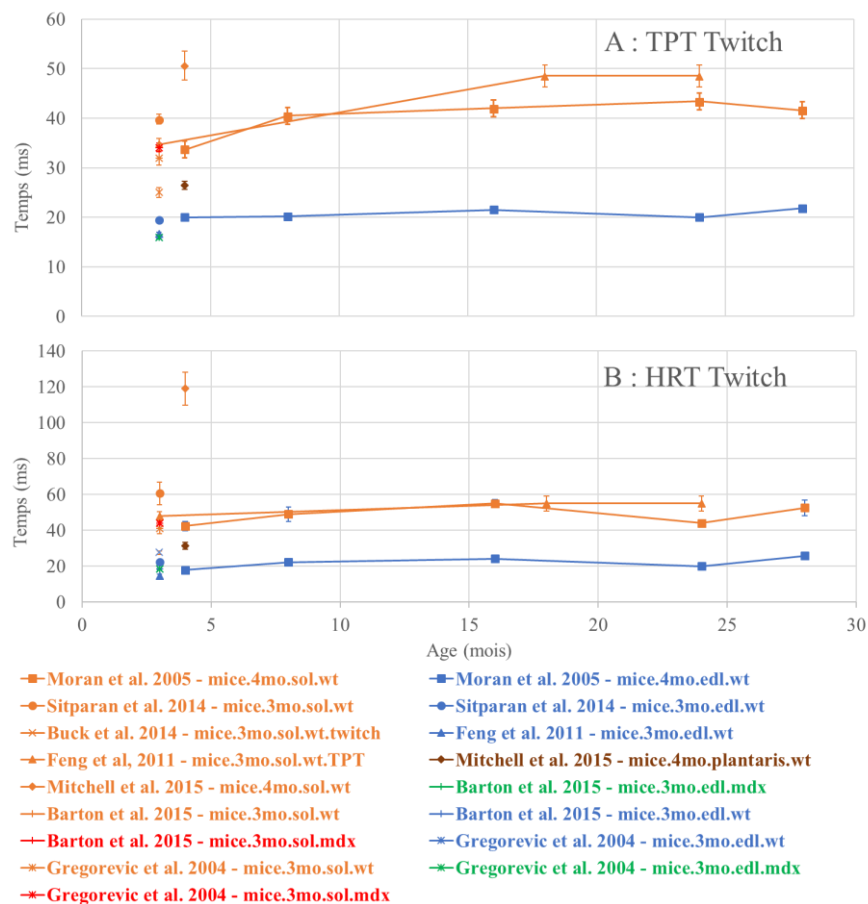


Figure. 24: Synthèse de différents articles (Moran *et al.*, 2005; Feng *et al.*, 2011; Sitparan *et al.*, 2014; Buck *et al.*, 2014; Mitchell *et al.*, 2015; Barton *et al.*, 2019) pour les résultats des tests de contraction supramaximale twitch pour les paramètres TPT (A) et HRT (B) pour les muscles soléaires (orange), EDL (bleu), plantaris (marron) chez la souris à différents âges. (Adapté de (Tatarenko *et al.*, 2022)).

En parallèle de la comparaison entre les muscles lents et rapides et en fonction de génotypes différents, ce test a également permis de montrer l'implication de la protéine titine sur le développement de la force de contraction (Herzog *et al.*, 2008; Herzog, 2014). Une autre étude recourant au même type de test a montré que le jeûne n'entraînait aucune modification

significative des propriétés contractiles des muscles soléaires chez les souris jeunes, tandis qu'une tendance à l'augmentation du HRT ainsi qu'une diminution significative de la force développée chez les souris âgées étaient observables (Kvedaras *et al.*, 2020).

Puisque, comme nous venons de le voir, les fibres lentes et rapides ont des propriétés contractiles différentes, il est possible de mettre en évidence une variation des proportions de fibres lentes/rapides composant un muscle. Une augmentation des paramètres HRT et TPF ainsi qu'une diminution du MS lors de contractions téтанos et *twitch* ont ainsi pu être observées sur des muscles soléaires de souris déficientes en protéine $G\alpha$, délétion entraînant une transformation des fibres rapides en fibres lentes (Feng *et al.*, 2011).

Tests de fatigue et récupération

Le test de fatigue et récupération (*Work Loop Cycles* ou WLC) est utilisé pour étudier la résistance aux efforts prolongés, ainsi que la récupération musculaire (James *et al.*, 2004). Le muscle placé à sa longueur L_0 est alors soumis à des stimulations électriques de types téтанos, entraînant des contractions longues et répétées dans le temps (Figure. 25). La fréquence des stimulations électriques ainsi que la durée du protocole varient selon les auteurs.

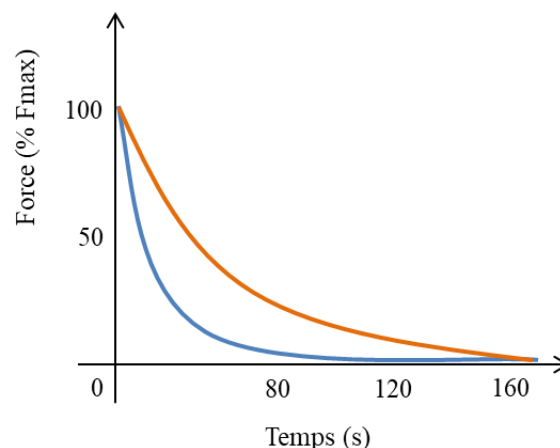


Figure. 25: Courbe caractéristique d'un test de fatigue pour le muscle soléaire (orange) et EDL (bleu).

La fatigue induite par ce protocole est caractérisée par une diminution de la force téтанique développée par le muscle. De nombreuses hypothèses sont proposées pour expliquer physiologiquement cette diminution de force. De façon non exhaustive, on retrouve la concentration en acide lactique, l'accumulation d'ions potassium et hydrogène dans les cellules, ou encore l'accumulation de phosphate inorganique dans le sarcoplasme (Wan *et al.*, 2017). L'exposition à des contractions répétées impacterait la libération de calcium depuis le réticulum

sarcoplasmique (Ortenblad *et al.*, 2000). En 2006, (Zhang *et al.*, 2006) ont réalisé des tests de fatigue sur des muscles soléaires et EDL de souris en présence de cyanure à différentes températures, résultant en une augmentation de la fatigue ainsi qu'en une diminution de la récupération musculaire sur les deux types de muscle dépendante de la température. A l'inverse, la présence de créatine dans la solution où baigne le muscle lors d'un test de fatigue permettrait d'augmenter la résistance à la fatigue en réduisant l'impact des forces ioniques sur le processus de contraction (Head *et al.*, 2011).

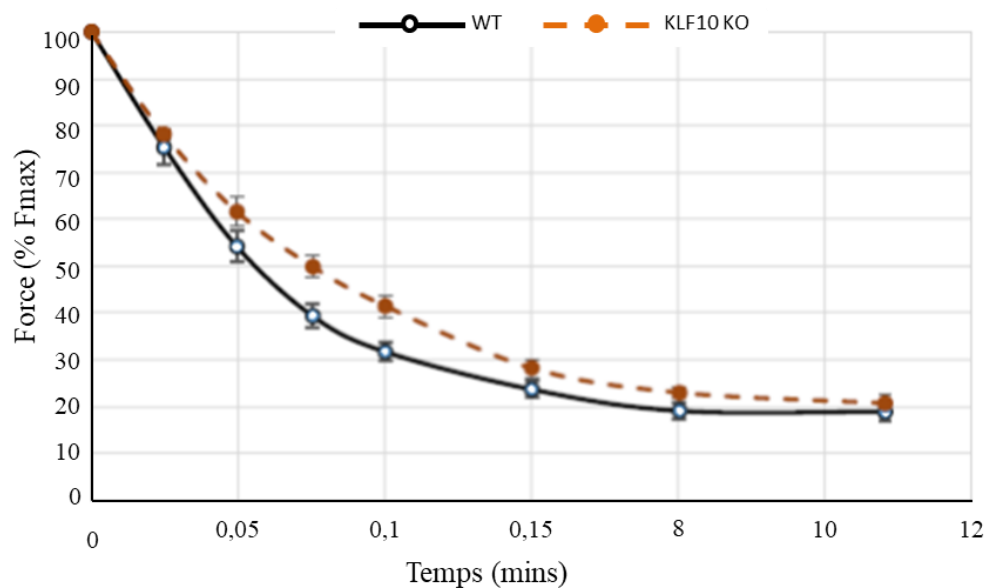


Figure. 26: Courbe d'un test de fatigue du muscle soléaire KLF10 KO (orange) et WT (noir).

Une diminution de la fatigue des muscles EDL et soléaire est enregistrée sur des muscles dont un gène de développement est inhibé (Sitparan *et al.*, 2014). A l'inverse, lors de la transformation des fibres rapides en fibres lentes, une augmentation de la résistance à la fatigue pour le muscle EDL est observable (Feng *et al.*, 2011), les fibres lentes résistant mieux à la fatigue.

Bien qu'il s'agisse d'un test couramment utilisé dans la littérature, la comparaison de résultats entre différentes études reste difficile. En effet, de nombreux paramètres de protocole peuvent faire varier la vitesse à laquelle se fatigue le muscle. Si l'on compare des études dont les protocoles de fatigue sont différents, on remarque que dans l'étude de (Sitparan *et al.*, 2014), les auteurs enregistrent une diminution de la force tétaïque de 70% après 4 minutes de fatigue, tandis que (Head *et al.*, 2011) enregistrent cette même diminution de force après seulement 30 s de fatigue. Ces différences de résultats s'expliquent par des durées de contraction différents

(respectivement 0,7 s contre 1,0 s), ainsi que par l'intervalle de repos entre les contractions téaniques (respectivement 5 s contre 1 s).

Tests de contraction excentrique

Les contractions excentriques sont caractérisées par une augmentation de la longueur du muscle pendant qu'il se contracte. Elles sont connues pour induire des endommagements des fibres à l'intérieur du muscle (Hody *et al.*, 2019). Lors de ce test, le muscle est initialement placé à sa longueur L_0 , puis est soumis à des contractions téaniques durant lesquelles on applique un étirement du muscle (Figure. 27).

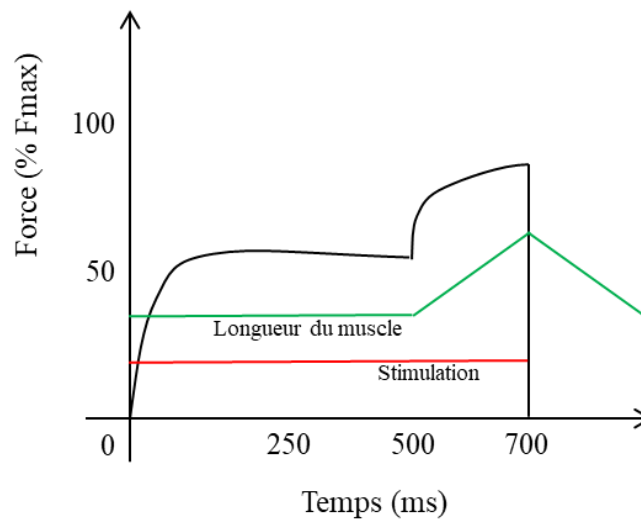


Figure. 27: Courbe représentative d'une contraction excentrique. Courbe expérimentale (noir), longueur du muscle (vert), stimulation électrique (rouge). (Adapté de (Liu *et al.*, 2005)).

Ces contractions sont répétées à la suite, comme pour un test de fatigue, mais sont séparées par des temps de repos de plusieurs minutes. Ces temps de repos permettent à chaque contraction d'induire une diminution de la force téanique développée non par la fatigue mais par des endommagements internes. Il est possible par ce test d'étudier les mécanismes de régénération musculaire suite à un endommagement du muscle (Call et Lowe, 2016). Ce test est aussi utilisé pour caractériser l'influence de l'entraînement physique sur l'adaptation des muscles aux endommagements (Capogrosso *et al.*, 2017). L'âge semble être un facteur déterminant dans la résistance aux endommagements avec une diminution accrue de la force de contraction lors de ce test sur des muscles EDL de souris âgées par rapport aux muscles de souris jeunes (Liu *et al.*, 2005).

Ce test est principalement utilisé dans la littérature pour l'étude des myopathies, notamment chez les souris mdx atteintes de la myopathie de Duchenne (Liu *et al.*, 2005; Martin, *et al.*, 2009; Sonnemann *et al.*, 2009; Baltgalvis *et al.*, 2011; Call et Lowe, 2016; Capogrosso *et al.*, 2017; Olthoff *et al.*, 2018). L'ensemble de ces études a montré une sensibilité accrue aux endommagements des souris mdx. L'étude de (Olthoff *et al.*, 2018) caractérise cette différence par une perte de force moyenne de 80% à la fin du protocole pour les souris mdx, contre moins de 10% pour les souris contrôles aux mêmes âges. De plus, les souris mdx ne présenteraient pas d'adaptation de résistance à l'endommagement suite à un entraînement physique (Capogrosso *et al.*, 2017), résultats expliqués par l'absence de dystrophine protégeant le muscle chez ces animaux (Baltgalvis *et al.*, 2011).

Certaines de ces études ont cherché comment traiter ces problèmes d'endommagements pour les muscles atteints de la myopathie de Duchenne avec (1) l'expression d'un substitut à la dystrophine qui restaure la résistance à l'endommagement (Liu *et al.*, 2005), (2) l'augmentation de l'expression de l'actine du cytosquelette qui augmente la résistance à l'endommagement (Baltgalvis *et al.*, 2011), (3) l'expression d'un homologue à la dystrophine qui restaure une partie de la résistance à l'endommagement (Sonnemann *et al.*, 2009) et (4) l'implication d'une enzyme dans le processus de stabilité du muscle qui permet une meilleure résistance des muscles mdx aux endommagements (Martin *et al.*, 2009)

Comme pour le test de fatigue, de nombreux paramètres expérimentaux peuvent conduire à des résultats différents au sein d'une même population de souris. On peut le voir clairement entre les études de (Capogrosso *et al.*, 2017) où, à population équivalente (souris saines de 5-6 mois), la diminution de la force tétranique est respectivement de 90% contre 30%. Cela peut être expliqué par des différences entre les paramètres expérimentaux tels que la vitesse d'étirement du muscle, la durée de la contraction tétranique, les temps de repos entre chaque contraction, ou encore la façon dont sont attachés les muscles au dispositif mécanique (Martin *et al.*, 2009).

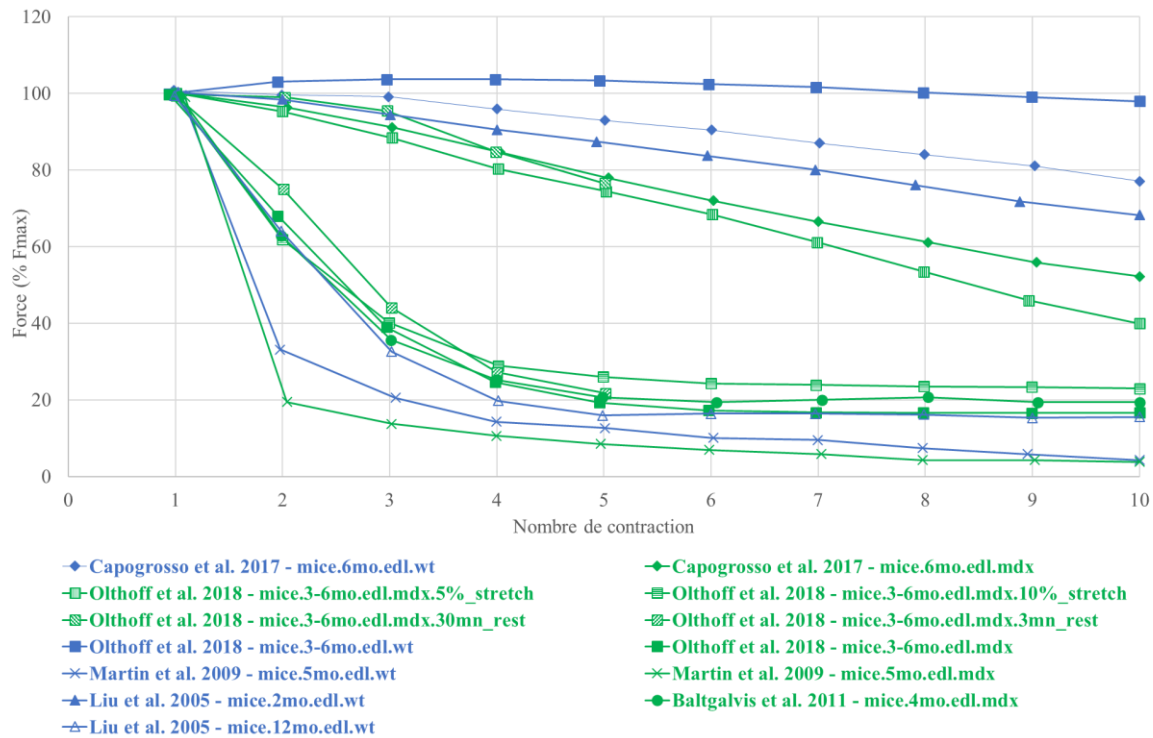


Figure. 28: Synthèse de plusieurs articles (Liu et al., 2005 ; Martin et al., 2009; Sonnermann et al., 2009; Baltgalvis et al., 2011; Capogrosso et al., 2017; Olthoff et al., 2018; Call et Love, 2019) utilisant le test de contraction excentrique pour des muscles EDL mdx KO (vert), EDL WT (bleu) à différents âges. (Adapté de (Tatarenko et al., 2022)).

I.2.3. Caractérisation *in vivo* des propriétés mécaniques

Les méthodes de caractérisations *in vivo* diffèrent de celles *in vitro* de par le fait que ces méthodes sont non invasives. Le muscle est ainsi testé dans son milieu physiologique interne à l'animal, où il est vascularisé. C'est pourquoi des différences de propriétés mécaniques sont observables dans la littérature entre les études *in vivo* et *in vitro*. De plus, les expérimentations longitudinales sont possibles par le maintien de l'animal vivant après les essais. C'est pourquoi il existe un fort besoin en techniques d'imagerie médicale permettant ce suivi temporel, par exemple dans le cadre de pathologies neuromusculaires, ainsi que de certains processus biologiques fondamentaux. L'élastographie par ondes de cisaillement représente des méthodes par imagerie (IRM, ultrasonore ou optique) pouvant répondre à ces besoins.

Tests d'élastographie par résonance magnétique (ERM)

La méthode ERM vise à mesurer les propriétés mécaniques des tissus mous *in vivo* de manière non invasive. Le principe est de générer des ondes de cisaillement harmoniques stationnaires et non invasives à l'intérieur de l'organe, de réaliser le codage des déplacements d'ondes générés

par une séquence d'imagerie IRM spécifique, puis de reconstruire les propriétés mécaniques viscoélastiques des tissus mous (Muthupillai *et al.*, 1995). Cette modalité d'imagerie est de plus en plus utilisée en recherche clinique médicale pour étudier le vieillissement musculaire ou les pathologies telles que la myopathie de Duchenne (Bensamoun *et al.*, 2007, 2015), ainsi que pour la caractérisation et le suivi des propriétés mécaniques des muscles lents et rapides (Debernard *et al.*, 2011a, 2011b).

L'ERM est utilisée ponctuellement dans des études précliniques sur différents organes de rongeurs tels que le foie (Yin *et al.*, 2007; Zhu *et al.*, 2017; Everwien *et al.*, 2020; Pagé *et al.*, 2021) ou le cerveau (Atay *et al.*, 2008; Chatelin *et al.*, 2015; Bigot *et al.*, 2018). Concernant le muscle squelettique de rongeur, l'application de l'ERM est proposée afin d'étudier la pertinence de l'anisotropie mécanique du muscle (par combinaison de l'ERM avec l'imagerie par IRM de diffusion DTI) en tant que biomarqueur de la nécrose tissulaire (Qin *et al.*, 2014). Les résultats ont montré que lorsque le taux de tissu nécrotique augmente, l'anisotropie mécanique diminue. Plus récemment, des études ont examiné les différences entre muscles sains et atteints d'escarres (mimé par l'application d'une contrainte sur le muscle) chez le rat, montrant une augmentation du module de stockage pour le muscle tibial antérieur de 4,2 kPa à 5,1 kPa (Nelissen *et al.*, 2017, 2019) (Figure. 29). Cependant, l'utilisation de la technique ERM dans le domaine préclinique sur modèle murin, et notamment sur le muscle squelettique, reste à l'heure actuelle peu étudiée malgré un très fort potentiel.

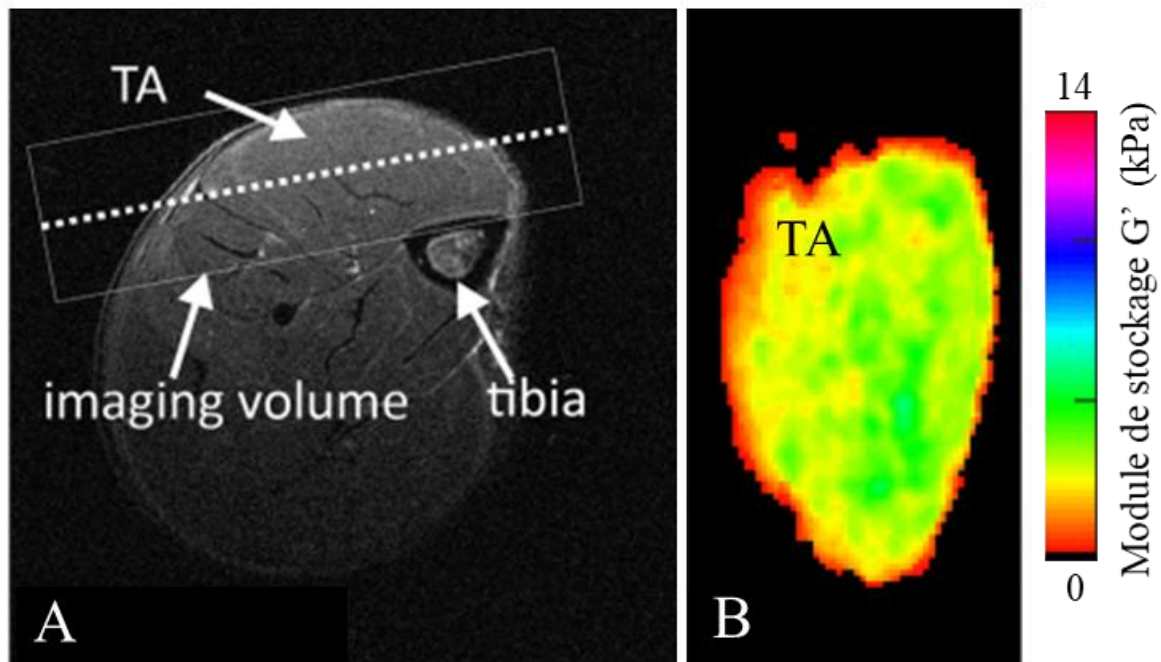


Figure. 29: Image anatomique en vue axiale pré contraint (A) et post contraint (B), et cartographie du module de perte G'' pré contraint (C) et post contraint (D) (droite) d'une patte de rat. (Nelissen & al. 2019).

Tests d'élastographie ultrasonore

Au même titre que l'ERM, les méthodes ultrasonores permettent une analyse des propriétés mécaniques (rigidité via le module de cisaillement) du muscle squelettique en évaluant la vitesse de propagation d'ondes de cisaillement générées dans le tissu (Cosgrove *et al.*, 2013; Gennisson *et al.*, 2013). Il existe dans la littérature peu d'études utilisant cette méthode de caractérisation sur le muscle squelettique pour le modèle murin. Des protocoles expérimentaux spécifiques ont été développés pour analyser les muscles des pattes postérieure, afin de caractériser la rigidité passive de groupes musculaires. Une récente étude a développé un protocole d'élastographie ultrasonore pour mieux comprendre l'impact du gène Klf10 sur l'élasticité des muscles (Ternifi *et al.*, 2019), dont les résultats ont montré une absence de différences significatives entre les muscles Klf10 KO et WT. Selon les auteurs, ces résultats peuvent être expliqués par le fait que les muscles des pattes arrière de souris sont trop fins pour une analyse individuelle des muscles. (Martins-Bach *et al.*, 2021) ont utilisé une technique par élastographie ultrasonore pour démontrer le lien entre les propriétés mécaniques du muscle et la microstructure du collagène via l'étude des différences de rigidité musculaire chez des souris avec des niveaux différents de collagène dans la MEC. Cela a permis d'établir une corrélation entre les propriétés morphologiques et mécaniques dans le cadre de muscles atteints de fibrose, avec une augmentation de la rigidité du muscle en fonction de la quantité de collagène dans la MEC chez les sujets atteints de myopathie de Duchenne. L'utilisation d'une méthode d'élastographie ultrasonore dans cette étude (Martins-Bach *et al.*, 2021) a permis de quantifier les augmentations de rigidité moyenne des muscles lorsque la patte de souris est placée à 40° (passant de 27,8 kPa chez les souris contrôles à 34,8 kPa pour les souris fibrotiques) et à 60° (passant de 34,0 kPa chez les souris contrôles à 44,0 kPa pour les souris fibrotiques) de flexion plantaire de la cheville dû à l'étirement des muscles.

Si la caractérisation mécanique *in vitro* des propriétés du muscle reste la méthode la plus utilisée à l'heure actuelle, de par sa simplicité d'exécution et la liberté qu'elle apporte dans le contrôle des conditions expérimentales, les techniques de caractérisation *in vivo*, notamment les méthodes d'élastographie, montrent l'importance de caractériser le tissu musculaire en conditions les plus proches de son milieu physiologique.

I.2.4. Caractérisation *in situ* des propriétés mécaniques

La caractérisation *in situ* est à mi-chemin entre les méthodes *in vivo* et *in vitro*. Ses conditions expérimentales sont plus proches des conditions *in vivo* car le muscle est dans son environnement physiologique et vascularisé. Mais la conception et réalisation du protocole est similaire à celui réalisé en *in vitro* car l'expérimentateur a un accès direct au muscle. Il est donc possible de relier le muscle à un dispositif de traction, que ce soit pour de la caractérisation passive ou active. (Hakim *et al.*, 2013) proposent ainsi un protocole de caractérisation à la fois passive et active du muscle tibial antérieur chez la souris, garantissant alors un apport fondamental en oxygène suffisant par comparaison aux approches *in vitro*. La fatigue musculaire a aussi été analysée en condition *in situ* sur le muscle soléaire de souris (Feng *et al.*, 2016). Cependant la caractérisation *in situ* reste peu représentée chez le modèle murin dans la littérature et certains muscles restent difficiles d'accès pour cette catégorie de protocoles.

I.3. Paramètres influençant les propriétés mécaniques du muscle

La synthèse bibliographique précédemment décrite montre l'importance des paramètres expérimentaux à définir en fonction du modèle animal et des conditions (active ou passive) à analyser, comme détaillés ci-après.

I.3.1. Les paramètres expérimentaux

Sauf comparaisons d'études monocentriques, il est malheureusement rare, dans la littérature, d'avoir des études avec les mêmes protocoles expérimentaux, conduisant de fait le plus souvent à des résultats difficilement comparables. Ainsi, une standardisation des protocoles et dispositifs expérimentaux s'avère cruciale. Nous allons néanmoins ici nous attacher à faire ressortir les caractéristiques fondamentales de protocoles menant à ces différences, mais aussi les paramètres communs à toutes les études influençant la mécanique musculaire murine.

La **méthode de caractérisation** est un paramètre à prendre en compte. Si la distinction entre *in vivo* et *in vitro* est simple du fait de la grande différence de protocoles utilisés, on remarque que la différence est plus subtile entre les protocoles *in situ* et *in vitro*, donnant des propriétés mécaniques différentes. Par exemple, un écart de fatigue de 40% est observable entre des tests similaires réalisés en condition *in vitro* (Feng *et al.*, 2011) et *in situ* (Feng *et al.*, 2016).

Les paramètres liés au protocole expérimental, tel que les **temps de repos**, les **taux et vitesses d'étirement**, ou encore les **temps de stimulation électrique** sont propres à chaque étude, et peuvent avoir un impact sur les propriétés mesurées. Ces différences sont plus importantes non seulement dans des tests de caractérisation des propriétés mécaniques actives, tel que les tests de contraction excentrique ou de fatigue et récupération, mais également dans les tests de caractérisation des propriétés mécaniques passive durant lesquels différentes déformations sont appliquées.

Cette synthèse bibliographique soulève beaucoup de questions, notamment pour la caractérisation active sur la **durée** et la **fréquence électrique** à laquelle doit être stimulé un muscle lent ou rapide, ainsi que les **temps de repos à respecter**. On a pu voir précédemment que pour le protocole de fatigue et récupération, les différents paramètres appliqués entraînaient des profils de fatigue différents (Sitparan *et al.*, 2014; Mitchell *et al.*, 2015). De même, la variation des temps de repos entre chaque contraction lors d'un test de contraction excentrique impacte la diminution de force développée lorsqu'il passe de 30 minutes à 3 minutes entre chaque contraction (Olthoff *et al.*, 2018).

Les **propriétés viscoélastiques** du muscle vont impacter les propriétés mécaniques passives, selon la vitesse à laquelle il sera déformé, indépendamment du test passif effectué. On peut également remarquer que, lors du test de relaxation par extension incrémenté, le **niveau de déformation** de chaque cycle, ainsi que le **nombre de cycles** ont un impact sur les résultats (Canon *et al.*, 2008; Brashear *et al.*, 2021).

A ces paramètres peuvent s'ajouter l'**oxygénation du muscle**, la **température** à laquelle est placé le muscle, ainsi que les **composants présents dans la solution** de bain thermostaté (Zhang *et al.*, 2006). De plus, il semblerait que la **méthode de dissection et d'accroche** du muscle au dispositif mécanique soit aussi un facteur pouvant influencer les résultats obtenus (Martin *et al.*, 2009).

I.3.2. Les variations inter-individus

En plus des paramètres propres aux conditions expérimentales, une raison importante de la variation des propriétés mécaniques du muscle squelettique est la variation inter-individus. Un des paramètres qui peut influencer les propriétés mécaniques d'un muscle est l'**état pathologique ou non du tissu musculaire**. Une souris saine n'aura pas forcément les mêmes propriétés mécaniques musculaire que celles obtenues pour une souris mdm (muscular

dystrophy with myositis) ou mdx (Duchenne muscular dystrophy) (Smith et Barton, 2014; Brashear *et al.*, 2021). Le **sexe du sujet** est aussi un facteur important comme cela est montré chez les souris saines et mdx avec une plus grande rigidité chez les souris âgées femelles par rapport aux souris âgées males (Hakim et Duan, 2012). L'**âge**, comme nous avons pu le voir précédemment à plusieurs reprises, est aussi un paramètre important à prendre en compte. De nombreuses études ont étudié les modifications des propriétés mécaniques au cours du vieillissement chez le rat (Canon *et al.*, 2008), le lapin (Leichsenring *et al.*, 2021) ainsi que la souris (Moran *et al.*, 2005).

D'autres facteurs sont à prendre en compte lors de l'élevage des animaux. La **nutrition** est montrée comme un facteur impactant les propriétés mécaniques du muscle (Kvedaras *et al.*, 2020), ainsi que l'**activité physique** plus ou moins importante de l'animal dans sa cage (Capogrosso *et al.*, 2017).

Comme nous le verrons par la suite, nous avons eu l'occasion de montrer dans cette thèse que **la lignée génétique**, même pour des souris saines, est d'une importance cruciale pour les propriétés mécaniques du muscle.

A tout cela s'ajoute des **différences inhérentes entre individus**, deux sujets n'étant jamais strictement semblables.

I.4. Modélisation du comportement mécanique du muscle

Depuis quelques dizaines années, de nombreux types de modèles mécaniques se sont développés dans la littérature pour représenter et étudier le comportement mécanique du muscle squelettique. Outre leurs géométries, une composante essentielle de ces modèles réside dans leurs lois de comportement constitutives. Ces modèles comportementaux reposent sur des hypothèses précises visant à rendre compte de la réponse mécanique d'une part des composantes du tissu, telles que précédemment détaillées. L'identification de ces paramètres à partir des données issues des protocoles expérimentaux précédemment décrits est une étape fondamentale et requière au préalable la description, la définition des hypothèses et la mise en équation de ces modèles comportementaux. Dans cette partie nous verrons différents types de modèles mécaniques existant dans la littérature pour décrire le tissu musculaire, des modèles phénoménologiques viscoélastiques linéaires, non linéaires aux modèles physiques multi-échelles.

I.4.1. Modèles phénoménologiques viscoélastiques linéaires

Le muscle squelettique est dans un premier temps représenté par des éléments mécaniques simples comme des ressorts au comportement élastique (Hill, 1922). L'ajout d'une composante contractile, spécifique au tissu musculaire, permet de proposer un modèle phénoménologique du muscle basé sur 3 composantes (Hill, 1951) comme illustré en Figure. 30.

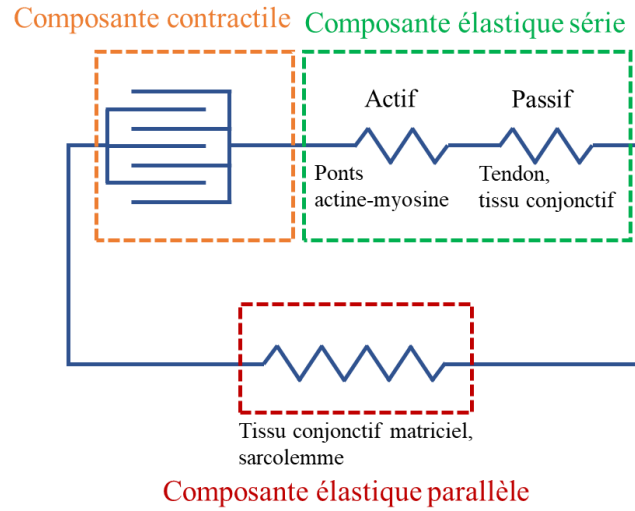


Figure. 30: Schéma du modèle de Hill à 3 composantes (Adaptée de (Canon,2016))

La **composante contractile** (CC) modélise le comportement de contraction musculaire. Ses paramètres sont dépendants des ponts entre les filaments d'actine et de myosine.

La **composante élastique série** (CES) permet de représenter le comportement élastique des forces d'accroches entre les filaments d'actine et de myosine (actifs), ainsi que des tissus tendineux liés au muscle (passifs).

La **composante élastique parallèle** (CEP) permet de représenter la résistance à l'allongement musculaire en état non contracté. Elle peut être associée au comportement élastique des tissus conjonctifs matriciels (épimysium, périmysium et endomysium) ainsi que des protéines structurales comme la titine.

Il est possible d'écrire les relations force-étirement pour chaque élément avec les équations suivantes :

$$\begin{aligned}
 F_{CC} &= F_0 f_L^{CC}(\lambda^{CC}) f_V^{CC}(\dot{\lambda}^{CC}) a \\
 F_{CES} &= F_0 f^{CES}(\lambda^{CES}, \lambda^{CC}) \\
 F_{CEP} &= F_0 f^{CEP}(\lambda^{CES}, \lambda^{CC})
 \end{aligned} \tag{3}$$

où λ^{CES} et λ^{CC} sont respectivement les élongations des composantes élastique série et contractile, F_0 est le pic de force isométrique développée par le muscle et a est un facteur d'activation variant de 0 (muscle non actif) à 1 (muscle complètement actif). f^{CEP} , f^{CES} et f_L^{CC} sont des fonctions d'élongation pour chaque composante et f_V^{CC} est la fonction de vitesse de la composante contractile.

Ce modèle est encore aujourd'hui très utilisé pour la modélisation du complexe musculo-tendineux (Zajac, 1989), par exemple du muscle gastrocnémien de rat (Ettema et Meijer, 2000), où il est modifié pour modéliser le muscle en prenant en compte les différents types de fibres musculaires (Stojanovic *et al.*, 2007).

I.4.2. Modèles phénoménologiques hyperélastiques

En mécanique des milieux continus, on considère que la matière occupe l'espace de façon continue. On a donc à chaque instant t une particule de matière qui est associée à un point de l'espace occupé à cet instant t par le matériau. On peut ainsi décrire le mouvement en donnant à chaque instant t la position courante $\mathbf{x}$ de la particule occupant une position de référence $\mathbf{X}$. Les déplacements puis déformations peuvent alors être considérés selon des descriptions lagrangienne et eulérienne. La description lagrangienne permet de suivre une particule de matière pendant son mouvement (à sa position $\mathbf{x}$), selon sa position d'origine $\mathbf{X}$ à l'instant $t=0$, selon l'Equation. 4 :

$$\mathbf{x} = \mathbf{x}(\mathbf{X}, t) \quad (4)$$

En description lagrangienne, il est alors possible de définir le second tenseur des contraintes de Piola-Kirchhoff $\mathbf{S}$ (Equation. 5), représentant les forces internes de la matière $d\mathbf{f}_0$, par rapport à sa configuration de référence qui s'exercent à travers l'élément de surface non défini dS_0 et la normale à sa direction à l'état initial $\mathbf{N}$.

$$d\mathbf{f}_0 = \mathbf{S}N dS_0 \quad (5)$$

En description eulérienne, le mouvement d'une particule est défini selon sa position actuelle $\mathbf{x}$ à l'instant t à partir de sa vitesse $\mathbf{V}$, selon (Equation. 6) :

$$\mathbf{V} = \mathbf{V}(\mathbf{x}, t) \quad (6)$$

Le tenseur des contraintes de cauchy $\boldsymbol{\sigma}$ est alors défini (Equation. 7), représentant les forces internes de la matière $d\mathbf{f}$ par rapport à sa configuration à l'instant t qui s'exercent à travers l'éléments de surface défini dS et la normale à sa direction à l'état actuel $\mathbf{n}$.

$$d\mathbf{f} = \boldsymbol{\sigma} n dS \quad (7)$$

Même si bien d'autres tenseurs des contraintes peuvent être définis, nous nous baserons sur ces deux tenseurs, couramment utilisés dans les lois de comportement, ainsi que sur un troisième tenseur des contraintes, mixte lagrangien/eulérien : le premier tenseur des contraintes de Piola-Kirchhoff (Π) (Equation. 8), représentant les forces internes $d\mathbf{f}$ par rapport à sa configuration à un instant t qui s'exercent à travers un élément de surface non défini dS_0 et la normale à sa direction à l'état initial $\mathbf{n}$. La contrainte calculée est la contrainte nominale.

$$d\mathbf{f} = \Pi n dS_0 \quad (8)$$

La modélisation phénoménologique est très répandue dans la littérature du fait de sa simplicité d'utilisation par rapport à la modélisation biophysique présentée par la suite. Les modèles hyperélastiques sont particulièrement à même de rendre compte du comportement musculaire élastique non linéaire anisotrope en grandes déformations, notamment la rigidification en grandes déformations précédemment décrite.

La manière la plus commune dans la littérature pour décrire le comportement mécanique d'un matériau hyperélastique est de considérer sa densité d'énergie de déformation W permettant d'exprimer les trois tenseurs de contrainte retenus en chaque point du matériau à partir des relations suivantes :

$$\mathbf{S} = \mathbf{F}^{-1} \frac{\partial W}{\partial \mathbf{C}} = \frac{\partial W}{\partial \mathbf{E}} \quad \boldsymbol{\sigma} = \frac{1}{J} \frac{\partial W}{\partial \mathbf{F}} \mathbf{F}^T = \frac{2}{J} \frac{\partial W}{\partial \mathbf{B}} \mathbf{B} \quad \Pi = \frac{\partial W}{\partial \mathbf{F}} \quad (9)$$

Il est possible de passer du tenseur $\boldsymbol{\sigma}$ au tenseur $\mathbf{S}$ par l'équation suivante :

$$\mathbf{S} = J \mathbf{F}^{-1} \boldsymbol{\sigma} \mathbf{F}^{-T} \quad (10)$$

où $\mathbf{F}_{ij} = \partial \mathbf{x}_i / \partial \mathbf{X}_j$ est le tenseur gradient du déplacement, avec $\partial \mathbf{X}_j$ correspondant à un vecteur position en configuration initiale, et $\partial \mathbf{x}_i$ dans sa configuration déformée. $\mathbf{C}$ est le tenseur d'ordre 2 des déformations de Cauchy Green droit et $\mathbf{B}$ le tenseur d'ordre 2 de Cauchy Green gauche (ou tenseur des déformations de Finger). $\mathbf{E}$ le tenseur d'ordre 2 des déformations de Green-Lagrange (ou tenseur de Green-St-Venant) où $\mathbf{E} = \frac{1}{2}(\mathbf{C} - \mathbf{I})$. $J = \text{III}_{\mathbf{F}} = \det(\mathbf{F})$ est le coefficient de déformation volumique décrivant l'incompressibilité (ayant une valeur de 1 pour un matériau parfaitement incompressible, hypothèse généralement admise pour le tissu musculaire, comme précédemment évoqué). Pour tout tenseur $\mathbf{X}$, il est toujours possible de définir trois invariants de la déformation que nous noterons systématiquement dans la suite de ce manuscrit $\text{I}_{\mathbf{X}}$, $\text{II}_{\mathbf{X}}$ et $\text{III}_{\mathbf{X}}$ (Equation. 11) :

$$\text{I}_{\mathbf{X}} = \text{tr}(\mathbf{X}) \quad \text{II}_{\mathbf{X}} = \frac{1}{2} [\text{tr}(\mathbf{X})^2 - \text{tr}(\mathbf{X}^2)] \quad \text{III}_{\mathbf{X}} = \det(\mathbf{X}) \quad (11)$$

On trouve dans la littérature différentes lois de comportement basées sur des définitions différentes de W . Cette partie n'a pas pour but d'être une liste exhaustive de toutes les lois de

comportement phénoménologiques présentes dans la littérature mais d'en présenter les plus couramment utilisées pour la modélisation des propriétés mécaniques du muscle squelettique en utilisant les concepts et notations succinctement décrits dans ce paragraphe.

Le modèle Néo-Hookéen

Ce modèle hyperélastique, défini selon l'expression de W en Equation. 12, est développé par (Rivlin, 1948). Il est souvent utilisé, en complément d'autres éléments, dans la définition du comportement isotrope du muscle squelettique, notamment pour décrire le comportement des éléments de base dans le cadre de la modélisation multi-échelle (Liu *et al.*, 2022 ; Spyrou *et al.*, 2017, 2019). Ce modèle se caractérise par un paramètre C_{10} lié au module de cisaillement μ du matériau par $\mu=2C_{10}$, ainsi que d'un module d'élasticité isostatique K . L'expression de sa densité d'énergie de déformation ne dépend que du premier invariant I_C du tenseur de déformation $\mathbf{C}$:

$$W=C_{10}(I_C-3)+\frac{K}{2}(J-1)^2 \quad (12)$$

Ce modèle a l'avantage d'être simple à mettre en place et à implémenter numériquement, et ne nécessite qu'un seul paramètre dans le cas d'un matériau incompressible.

Le modèle de Mooney-Rivlin

Ce modèle, défini par l'expression de W présentée en (Equation.13), est proposé par (Mooney, 1940) et exprimé à partir des invariants de la déformation par (Rivlin, 1948). Ce modèle est très souvent utilisé dans la définition du comportement isotrope du muscle squelettique (Röhrle, 2010; Wang *et al.*, 2013; Wu *et al.*, 2014; Lee *et al.*, 2017). A cet ordre, ce modèle se caractérise par deux paramètres C_{01} et C_{10} liés au module de cisaillement μ par $\mu=2(C_{01} + C_{10})$, ainsi que d'un module isostatique $K=1/D_1$. L'expression de W dépend des deux premiers invariants I_B et II_B du tenseur de déformation $\mathbf{B}$:

$$W=C_{10}(\bar{I}_B-3)+C_{01}(\bar{II}_B-3)+\frac{1}{D_1}(J-1)^2 \quad (13)$$

où $\bar{I}_B=J^{-2/3}I_B$ et $\bar{II}_B = J^{-4/3}II_B$ sont les invariants du tenseur $\bar{\mathbf{B}}=\det(\mathbf{B})^{-1/3}\mathbf{B}$.

Il est possible d'exprimer ce modèle sous sa forme généralisée (Equation. 14) où C_{pq} sont des paramètres du matériau, N et M correspondent aux ordres du modèle.

$$W=\sum_{p,q=0}^N C_{pq}(\bar{I}_B-3)^p(\bar{II}_B-3)^q+\sum_{m=1}^M \frac{1}{D_m}(J-1)^{2m} \quad (14)$$

Le modèle de Mooney-Rivlin généralisé a notamment été utilisé pour décrire le comportement hyperélastique du muscle squelettique à l'ordre 2 (Yang *et al.*, 2016) ou 3 (He *et al.*, 2022).

Le modèle d'Ogden

Ce modèle est développé par (Ogden, 1972) et, initialement développé pour décrire le comportement d'élastomères en grandes déformations, est aujourd'hui très largement utilisé pour la description du comportement mécanique d'un grand nombre de tissus mous biologiques (Evans, 2009; Goriely *et al.*, 2015; Oomens *et al.*, 2017). Il permet de décrire le comportement hyperélastique des matériaux à partir des coefficients λ_{ij} du tenseur gradient du déplacement $\mathbf{F}$ à un ordre N, comme décrit en (Equation. 15) :

$$W = \sum_{p=1}^N \left(\frac{\mu_p}{\alpha_p} \lambda_1^{\alpha_p} + \lambda_2^{\alpha_p} + \lambda_3^{\alpha_p} - 3 \right) + \frac{K}{2} (J-1)^2 \quad (15)$$

où μ_p et α_p sont les paramètres du modèle et K est le module d'élasticité isostatique. A partir des paramètres μ_p et α_p il est possible de déterminer le module de cisaillement μ du matériau (Equation. 16).

$$\mu = \frac{1}{2} \sum_{p=1}^N \mu_p \alpha_p \quad (16)$$

Les modèles exponentiels

En parallèle des modèles précédemment évoqués, des modèles utilisant des équations exponentielles ont été largement utilisés pour décrire le comportement musculaire en grandes déformations (Demiray, 1972; Demiray *et al.*, 1988; Holmes et Mow, 1990; Volokh et Vorp, 2008; Tang *et al.*, 2009). Ainsi, le modèle proposé par (Demiray *et al.*, 1988) défini à partir du premier invariant I_E du tenseur de déformation de Green-Lagrange présente une composante exponentielle avec deux paramètres c_1 et c_2 (Equation. 17).

$$W = \frac{c_1}{c_2} \left\{ e^{\frac{c_2}{2}(I_E-3)^2} - 1 \right\} \quad (17)$$

De même, avec une forme exponentielle et en se basant sur les invariants I_C et II_C , le modèle proposé par (Tang *et al.*, 2009), dont l'expression de W est définie en (Equation. 18), présente une composante exponentielle avec quatre paramètres c_1 , c_2 , c_3 , c_4

$$W = c_1(I_C-3) + c_2(II_C-3) + c_3 \left\{ e^{c_4(I_C-3)^2} - 1 \right\} \quad (18)$$

Composante active

Tous les modèles précédemment cités permettent de décrire le comportement mécanique du muscle en tant que matériau passif. Cependant, il est possible de représenter le comportement

actif du muscle à partir de trois fonctions liées aux relations de force-longueur, de force-vitesse et de force-activation (Van Leeuwen, 1991; Van Leeuwen et Spoor, 1992; Van Leeuwen et Kier, 1997), comme précédemment décrites en section I.1.3.

La **fonction d'élongation** f_e permet de transcrire la dépendance de la force développée, au nombre de pont actine-myosine formés. Elle est souvent représentée par une fonction exponentielle (Van Leeuwen, 1991; Van Leeuwen et Spoor, 1992; Johansson *et al.*, 2000; Ehret *et al.*, 2011) comme présentée en (Equation. 19), ou polynomiale (Blemker *et al.*, 2005; Lu *et al.*, 2010) comme présentée en (Equation. 20).

$$f_e = \begin{cases} \frac{\lambda_{\min} - \lambda_m}{\lambda_{\min} - \lambda_{\text{opti}}} e^{\frac{(2\lambda_{\min} - \lambda_m - \lambda_{\text{opti}})(\lambda_{\min} - \lambda_{\text{opti}})}{2(\lambda_{\min} - \lambda_{\text{opti}})}} & \text{si } \lambda_m > \lambda_{\min} \\ 0 & \text{sinon} \end{cases} \quad (19)$$

où $\lambda_{\min}$, λ_m , λ_{opti} représentent respectivement les élongations minimum du muscle où les filaments d'actine et de myosine se superposent pour créer des ponts, l'élongation effective du muscle et l'élongation optimale du muscle où il développe le plus de force de contraction (Ehret *et al.*, 2011).

$$f_e = \begin{cases} 9\left(\frac{\lambda}{\lambda_{\text{off}}} - 0,4\right)^2, & \text{si } \lambda \leq 0,6\lambda_{\text{off}} \\ 9\left(\frac{\lambda}{\lambda_{\text{off}}} - 1,6\right)^2, & \text{si } \lambda \geq 1,4\lambda_{\text{off}} \\ 1 - 4\left(1 - \frac{\lambda}{\lambda_{\text{off}}}\right)^2, & \text{si } 0,6\lambda_{\text{off}} < \lambda < 1,4\lambda_{\text{off}} \end{cases} \quad (20)$$

où λ , et λ_{off} représentent respectivement l'élongation du muscle et l'élongation optimale des fibres musculaires (Blemker *et al.*, 2005).

La **fonction de vitesse** f_v permet de représenter la dépendance de la force développée par rapport à sa vitesse de contraction. Elle est le plus souvent représentée sur la base de la relation hyperbolique développée par (Hill, 1951) et étendue par la suite par (Van Leeuwen, 1991; Van Leeuwen et Spoor, 1992; Van Leeuwen et Kier, 1997; Johansson *et al.*, 2000; Beldie *et al.*, 2010) comme présentée en (Equation. 21) :

$$f_v = \frac{1 - \frac{\dot{\lambda}_m}{\dot{\lambda}_{\min}}}{1 + \frac{k_c \dot{\lambda}_m}{\dot{\lambda}_{\min}}} \quad \text{si } \dot{\lambda}_m \leq 0 \quad (21)$$

$$f_v = \frac{1 + \frac{\dot{\lambda}_m}{\dot{\lambda}_m^{\min}}}{1 - \frac{k_e k_c \dot{\lambda}_m}{\dot{\lambda}_m^{\min}}} \quad \text{si } \dot{\lambda}_m > 0$$

où $\dot{\lambda}_m$, $\dot{\lambda}_m^{\min}$ représentent respectivement le taux d'élongation du muscle et le taux d'élongation minimale du muscle, soit le taux de déformation auquel il développe une force maximale. k_c et k_e sont des constantes qui se réfèrent respectivement aux contractions concentriques et excentriques (Ehret *et al.*, 2011).

La fonction d'activation f_a permet de représenter la dépendance de la force développée selon l'intensité de l'activation musculaire. Elle est comprise dans un intervalle $[0,1]$, 0 étant pour une inactivation complète, et 1 pour une activation complète (Van Leeuwen et Kier, 1997; Johansson *et al.*, 2000; Spyrou et Aravas, 2011; Spyrou *et al.*, 2017; Spyrou *et al.*, 2019) comme présentée en (Equation. 22) :

$$\begin{aligned} f_a &= 0 & \text{si } t \leq t_d \\ f_a &= \left(\frac{1}{2} \left(1 + \sin \left(\frac{\pi(t-t_d)}{t_a} - \frac{1}{2}\pi \right) \right) \right)^q & \text{si } t_d < t < t_d + t_a \\ f_a &= 1 & \text{si } t \geq t_d + t_a \end{aligned} \quad (22)$$

où t_d est le délai par rapport à l'activation la plus faible, t_a est le temps entre le début de l'activation et l'activation totale, q est un paramètre du modèle permettant une modification de la courbe et t est le temps actuel (Van Leeuwen, 1991).

Si le comportement mécanique du muscle est majoritairement simplifié dans la littérature en éludant son comportement visqueux, certains modèles considèrent le muscle comme un matériau viscoélastique (Hedenstierna et Halldin, 2008) prenant en compte la viscosité par l'intégration d'une composante de contrainte linéaire, dépendante de la vitesse de déformation dans un modèle de l'ensemble des muscles de la nuque. D'autres études considèrent le muscle comme un matériau visco-hyperélastique, comme le modèle développé par (Lu *et al.*, 2010). La viscosité est prise en compte dans cette étude par l'ajout d'une composante visqueuse dans l'expression de la densité d'énergie de déformation, telle que précédemment définie par (Limbert et Middleton, 2004; Zhurov *et al.*, 2007).

I.4.3. Modélisation de l'anisotropie

Comme vu précédemment, l'anisotropie du muscle squelettique lui provient de sa composition en fibres musculaires mais aussi en fibres de collagène présentes dans la MEC, donnant au muscle un comportement mécanique dépendant de la direction de l'espace considérée.

Il existe un grand nombre de modèles dans la littérature prenant en compte le comportement anisotrope du muscle squelettique. De nouveaux invariants des tenseurs de déformations, notamment les quatrième et cinquième invariants IV_C et V_C de $\mathbf{C}$, sont souvent définis pour la caractérisation du comportement anisotrope des matériaux renforcés de fibre (Spencer, 1984), vus comme isotropes transverses (ou hexagonaux) (Equation. 23) :

$$IV_C = \text{tr}[\mathbf{C} \cdot (\mathbf{M}_1 \otimes \mathbf{M}_1)] = \mathbf{M}_1 \cdot (\mathbf{C} \cdot \mathbf{M}_1) \quad (23)$$

$$V_C = \text{tr}[\mathbf{C}^2 \cdot (\mathbf{M}_1 \otimes \mathbf{M}_1)] = \mathbf{M}_1 \cdot (\mathbf{C}^2 \cdot \mathbf{M}_1)$$

avec $\cdot$ le produit tensoriel contracté et $\otimes$ le produit tensoriel. $\mathbf{M}_1$ est le vecteur unitaire représentant la direction préférentielle de déformation du matériau.

Dans le cas où le matériau considéré possède n orientations préférentielles, il faut définir les invariants IV_C^n et V_C^n pour chaque orientation. Cependant, il est plus commun dans le cadre des tissus mous avec deux orientations préférentielles, $\mathbf{M}_1$ et $\mathbf{M}_2$, de définir deux nouveaux invariants de la déformation, par exemple les sixième et septième invariants VI_C et VII_C du tenseur $\mathbf{C}$ comme présenté en (Equation. 24)

$$VI_C = \text{tr}[\mathbf{C} \cdot (\mathbf{M}_2 \otimes \mathbf{M}_2)] = \mathbf{M}_2 \cdot (\mathbf{C} \cdot \mathbf{M}_2) \quad (24)$$

$$VII_C = \text{tr}[\mathbf{C}^2 \cdot (\mathbf{M}_2 \otimes \mathbf{M}_2)] = \mathbf{M}_2 \cdot (\mathbf{C}^2 \cdot \mathbf{M}_2)$$

L'importance de l'utilisation combinée des deux invariants IV_C et V_C pour la description du comportement hyperélastique anisotrope des tissus mous biologiques et notamment du muscle squelettique est à plusieurs reprises attestée (Murphy, 2013).

Il est possible de scinder l'expression de W en trois parties distinctes, comme montré en (Equation. 25), avec une partie isotrope dépendante des invariants I_C et II_C , une partie anisotrope dépendante des invariants de $\mathbf{C}$, IV_C et V_C , et une partie volumique dépendante du coefficient de déformation volumique décrivant l'incompressibilité J

$$W = W_{\text{iso}}(I_C, II_C) + W_{\text{ani}}(IV_C, V_C) + W_{\text{vol}}(J) \quad (25)$$

Il existe dans la littérature différentes formulations pour W_{ani} . Dans cette partie, je m'intéresserai principalement aux formulations polynomiales, puissances et exponentielles.

Les modèles anisotropes polynomiaux

L'expression reportée en (Equation. 26) permet d'exprimer le comportement anisotrope du matériau en utilisant le quatrième invariant de $\mathbf{C}$, IV_C dans la description du comportement hyperélastique des matériaux renforcés de fibres (Kaliske, 1999).

$$W_{ani} = \sum_{i=1}^N c_i (IV_C - 1)^{i+1} \quad (26)$$

N correspond à l'ordre du modèle et c_i sont les paramètres du modèle. Cette description de l'anisotropie est associée à une partie isotrope comme celles décrites précédemment en section I.4.2. On trouve dans la littérature ce type de formulation dans l'étude du tissu musculaire (Lin et Yin, 1998; Paetsch *et al.*, 2012; Paetsch et Dorfmann, 2013).

Les modèles anisotropes en lois puissances

On trouve dans la littérature des formulations de l'anisotropie musculaire sous forme de lois puissance. (Ghaemi *et al.*, 2009) proposent l'expression de W_{ani} reportée en (Equation. 27), composante anisotrope dépendant du quatrième invariant IV_C de $\mathbf{C}$ pour le tissu musculaire myocardique :

$$W_{ani} = C (IV_C^a - 1)^b \quad (27)$$

où C , a et b sont des paramètres du modèle.

Les modèles anisotropes exponentiels

Les modèles exponentiels semblent plus présents dans la littérature pour décrire le comportement musculaire que les lois polynomiales ou puissances précédemment décrites. On trouve dans la littérature des modèles utilisant le quatrième invariant IV_C de $\mathbf{C}$ pour modéliser les propriétés mécaniques passives du tissu musculaire (Humphrey et Yin, 1987; Humphrey *et al.*, 1990) présentées en (Equation. 28).

$$W_{ani} = c_1 \left(e^{c_2 (\sqrt{IV_C} - 1)^2} - 1 \right) \quad (28)$$

où c_1 et c_2 sont des paramètres du modèle.

Cette formulation sera par la suite utilisée dans la modélisation du muscle squelettique (Martins *et al.*, 1998; Calvo *et al.*, 2010), notamment des muscles abdominaux (Hernández *et al.*, 2011) développée en (Equation. 29), initialement développée par (Holzapfel *et al.*, 2000) dans l'étude des tissus aortiques.

$$W_{ani} = \frac{c_3}{2c_4} \left(e^{c_4 (IV_C - 1)^2} - 1 \right) \quad (29)$$

où c_3 et c_4 sont des paramètres du modèle.

Plus récemment, (Liu *et al.*, 2022) ont intégré un terme exponentiel dans la description du comportement anisotrope du tissu musculaire qui sera développé dans la suite de ce manuscrit en section II.5.

Le tenseur des contraintes peut ensuite être déterminé, par exemple $\mathbf{S}$, à partir de la dérivation de W par rapport à $\mathbf{C}$ (Equation. 9) pour donner l'expression donnée en Equation. 30 :

$$\mathbf{S}=2[(W_1+\mathbf{I}_C W_2)\mathbf{I}-W_2\mathbf{C}+W_4\mathbf{M}\otimes\mathbf{M}+W_5(\mathbf{M}\otimes\mathbf{C}\mathbf{M}+\mathbf{M}\mathbf{C}\otimes\mathbf{M})] \quad (30)$$

où $W_i=\frac{\partial W}{\partial I_i}$ pour ($i=1, 2, 4, 5$), $\mathbf{I}$ étant le tenseur identité d'ordre 2.

En plus de son comportement anisotrope, l'incompressibilité du muscle squelettique est une propriété importante à prendre en compte dans le développement d'une loi constitutive du muscle. On trouve dans la littérature des études considérant le muscle squelettique comme un matériau quasi-incompressible (Martins *et al.*, 1998), définissant un coefficient de poisson de 0,49 (Beldie *et al.*, 2010) pour la modélisation des muscles faciaux. D'autres études définissent le muscle comme un matériaux incompressible (Büchler *et al.*, 2002) dans la modélisation des muscles de l'épaule, et (Röhrle et Pullan, 2007) dans les muscles de la mâchoire.

Certaines études prennent aussi en compte le comportement plastique du muscle, et plus particulièrement lors de la modélisation des muscles faciaux comme matériaux visco-élastoplastiques, permettant la simulation de la perte de rigidité du tissu, présente notamment dans le processus de vieillissement musculaire (Barbarino *et al.*, 2009; Mazza *et al.*, 2005, 2006) ainsi que chez le muscle cardiaque (Rubin, 2016).

I.4.4. Modélisation biophysique

Les modèles biophysiques sont de plus en plus utilisés dans la littérature pour décrire le comportement mécanique du tissu musculaire. Ils consistent à incorporer des paramètres matériaux physiologiques. Ces paramètres renvoient à la morphologie du matériau, plus particulièrement aux structures qui le composent. Ces modèles sont globalement plus complexes à implémenter que les modèles phénoménologiques et nécessitent une analyse expérimentale (mécanique mais pas uniquement) plus approfondie du matériau. Plus encore, d'un point de vue numérique, l'ajout de paramètres matériaux augmente les coûts de calculs et rend plus complexe leur intégration dans des logiciels de modélisation numérique. Ces modèles, appliqués au tissu musculaire, reprennent la structure de base des modèles phénoménologiques,

pouvant être composés d’une partie isotrope, généralement représentée par un des modèles décrits en section I.4.2, et d’une partie anisotrope présentée par une des formulations décrites en section I.4.3. Une composante biophysique est ensuite ajoutée à cette base, selon deux types de modèles principaux : les **modèles structuraux** et les **modèles électromécaniques**.

Les modèles biophysiques structuraux

Ces modèles prennent en compte des éléments structuraux du matériau. Dans le cas du muscle squelettique, cela peut correspondre à l’angle de pennation des fibres musculaires, aux fractions volumiques de chacune des phases (fibres musculaires et MEC), à la forme des fibres musculaires, à l’angle d’inclinaison des fibres de collagène dans la MEC, ou encore à la structure des fibres de collagène. L’angle d’enroulement des filaments de collagène en hélice (Figure. 31) est ainsi pris en compte dans le modèle de (Bleiler *et al.*, 2019), où la densité d’énergie de déformation s’exprime de la façon suivante :

$$\begin{aligned}
 W &= n^f W^f + n^m W^m \\
 W^f &= \frac{\mu^f}{2} (\mathbf{F} \cdot \mathbf{F} - 3) \\
 W^m &= \frac{\mu^m}{2} (\mathbf{F} \cdot \mathbf{F} - 3) + 2 \sum_{\zeta} n^{\zeta} \langle W_{cf}^{\zeta}(\lambda_a) \rangle_{\Omega}^{\zeta}
 \end{aligned} \tag{31}$$

où n^f et n^m représentent respectivement les fractions volumiques des fibres musculaires et de la MEC, W^f et W^m correspondent respectivement aux densités d’énergie de déformation des fibres musculaires et de la MEC, μ^f et μ^m représentent respectivement les modules de cisaillement des fibres musculaires et de la MEC, $\langle W_{cf}^{\zeta}(\lambda_a) \rangle_{\Omega}^{\zeta}$ correspond à la moyenne des densités d’énergie de déformation des fibres de collagène, ζ correspond au type de fibre de collagène, n^{ζ} à la fraction volumique des différentes phases de collagène considérées, λ_a à l’élongation des fibres de collagène et Ω représente l’ensemble des fibres de collagène.

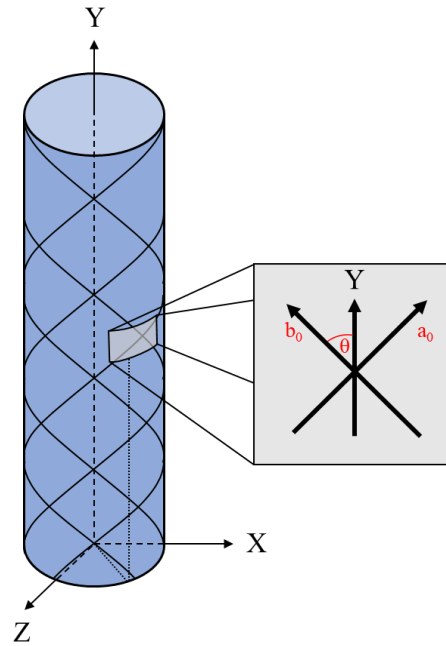


Figure. 31: Représentation schématisée des filaments de collagène (noirs) présents dans la matrice extracellulaire entourant une fibre musculaire (bleu), où $a_0=M_1$ et $b_0=M_2$ représentent les vecteurs unitaires des directions préférentielles des fibres de collagène, θ correspond à l'angle entre les fibres de collagène et l'axe principal des fibres de collagène, Y permettant de définir les vecteurs unitaires. (Adapté de (Bleiler et al.,2019)).

Modèle biophysiques électromécaniques

Les modèles biophysiques électromécaniques permettent de prendre en compte le comportement actif du muscle squelettique à partir des éléments du métabolisme musculaire impliqués dans l'activité contractile du muscle. Ces modèles prennent leur origine dans la théorie des filaments glissants représentée en (Figure. 32) (Huxley et Niedergerke., 1954). Cette théorie permet de décrire la contraction musculaire à partir de la libération du calcium (étape 1) permettant la formation d'un pont entre la tête de myosine et le filament d'actine (étape 2). Un mouvement de traction du filament d'actine par la tête de myosine est opéré à partir de la rotation de cette tête de myosine (étape 3) entraînant un raccourcissement du sarcomère. Ensuite, il y a rupture du pont formé entre l'actine et la myosine avec un recommencement de ce cycle tant qu'il y a relargage du calcium dans le myoplasme des fibres musculaires (étape 4). De plus en plus de paramètres différents, liés à la cinétique de contraction musculaire, sont modélisés par les différents auteurs de la littérature, comme décrit ci-après.

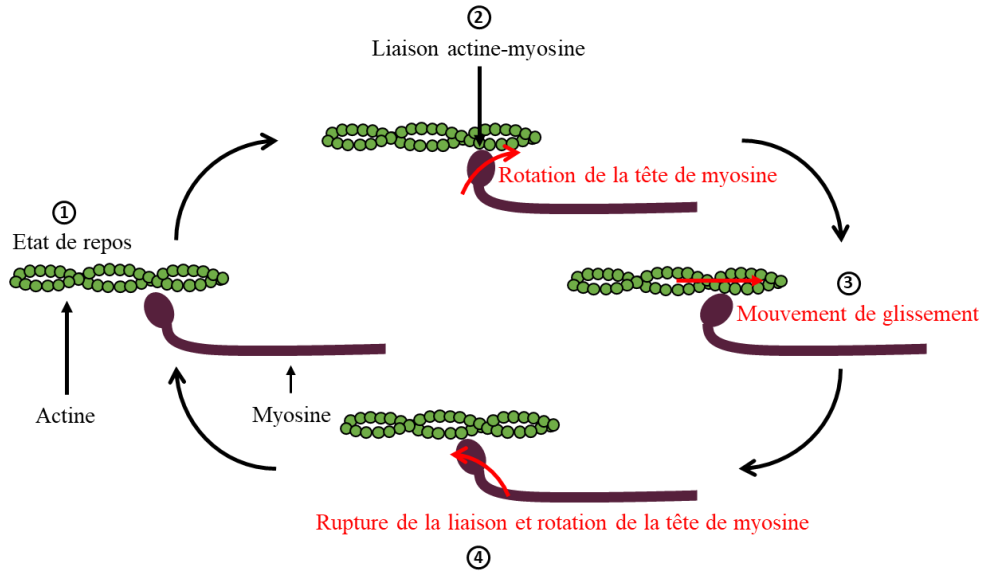


Figure. 32: Représentation schématique des étapes de formation des ponts entre les filaments d'actine et de myosine à partir de la théorie des filaments glissants de (Huxley et Niedergerke, 1954).

En 2008 et 2012, des modèles prennent en compte la proportion de fibres musculaires lentes et rapides associées à une même unité motrice pour modéliser le niveau d'activation du muscle. La conductivité transmembranaire, dépendante de la concentration en ions intracellulaire et extracellulaire, est également intégrée pour représenter l'impact de l'accumulation d'ions potassium sur la contraction musculaire et le potentiel transmembranaire (Röhrle *et al.*, 2008, 2012). L'intégration de ces paramètres dans la loi de comportement permettent de définir le tenseur des contraintes de Piola-Kirchhoff comme reporté en (Equation. 32) :

$$\begin{aligned}
 \mathbf{S} = & c_1 \mathbf{I} + c_2 (\mathbf{I}_C \mathbf{I} - \mathbf{C}) - p \sqrt{\text{III}_C} \mathbf{C}^{-1} + \left[\frac{\sigma_{\text{pass}}^{\text{ff}}}{\text{IV}_C} f^{\text{passive}}(\text{IV}_C) \right] (\mathbf{a}_0 \otimes \mathbf{a}_0) \\
 & + \left[\frac{A_1 + A_2}{c_{\text{trop}}} \frac{\sigma_{\text{pass}}^{\text{ff}}}{\text{IV}_C} f^{\text{active}}(\lambda) + \frac{A_2}{A_2^{\text{max}}} \frac{\sigma_{\text{ten}}^{\text{ff}}}{\text{IV}_C} f^{\text{active}}(\lambda) \right] (\mathbf{a}_0 \otimes \mathbf{a}_0)
 \end{aligned} \quad (32)$$

où c_1 et c_2 sont des paramètres modèles, $\mathbf{I}$ est le tenseur identitaire d'ordre 2, A_1 et A_2 représentent la concentration de ponts actine-myosine respectivement non formés et formés, $\sigma_{\text{pass}}^{\text{ff}}$ et $\sigma_{\text{ten}}^{\text{ff}}$ sont les rigidités respectivement passive et active maximum le long des fibres musculaires, p est la pression hydrostatique, c_{trop} est la concentration maximum de troponine disponible pour la formation de ponts actine-myosine. f^{passive} et f^{active} correspondent aux fonctions d'élongation respectivement passive et active et $\mathbf{a}_0$ est le vecteur unitaire définissant la direction de la force contractile générée par le muscle (longitudinale au muscle).

D'autres modèles, proposés en 2008 et 2011, proposent de prendre en compte l'état de fatigue musculaire en modélisant les différents états dans lesquels peut se trouver une fibre

musculaire (état actif, état de fatigue ou repos) ainsi que le recrutement des fibres en fonction du niveau d'activation musculaire (Böl et Reese, 2008; Böl *et al.*, 2011).

La modélisation biophysique est donc une prise en compte des phénomènes aux échelles microscopiques (fibres musculaires et MEC) et submicroscopique (myofilaments sarcomériques et protéines de la MEC) pour transcrire le comportement à l'échelle macroscopique du muscle. Pour cette raison et depuis plusieurs années, la modélisation multi-échelle s'est grandement développée dans la caractérisation mécanique du muscle squelettique.

I.4.5. Modélisation multi-échelle

La modélisation multi-échelle part du constat qu'il est possible de représenter le comportement global d'un matériau hétérogène (dans notre cas le muscle strié squelettique) à partir des différents éléments aux échelles inférieures qui le composent. Comme montré en (Figure. 1) sur la structure du muscle, il possède une architecture multi-échelle allant des myofilaments sarcomériques (échelle submicroscopique) au muscle complet (échelle macroscopique), en passant par les fibres musculaires (échelle microscopique) regroupées en amas appelés fascicules (échelle mésoscopique). Ces modélisations se basent le plus souvent sur des méthodes d'homogénéisation pour lier les propriétés des échelles inférieures aux échelles supérieures. Le but de ces méthodes est de représenter le matériau hétérogène par un matériau homogène dont les propriétés sont celles des constituants du matériau hétérogène moyennées.

L'homogénéisation part de la définition d'un volume élémentaire représentatif (VER) du matériau hétérogène, correspondant au plus petit élément à partir duquel on peut reconstruire la microstructure hétérogène du matériau. Comme présenté dans la (Figure. 33) entre deux échelles successives du muscle squelettique, le VER homogénéise notamment une phase fibres musculaires et une phase MEC. L'organisation de ces deux phases n'étant pas homogène au sein d'un muscle, le VER est une représentation microscopique moyenne locale de l'ensemble du matériau.

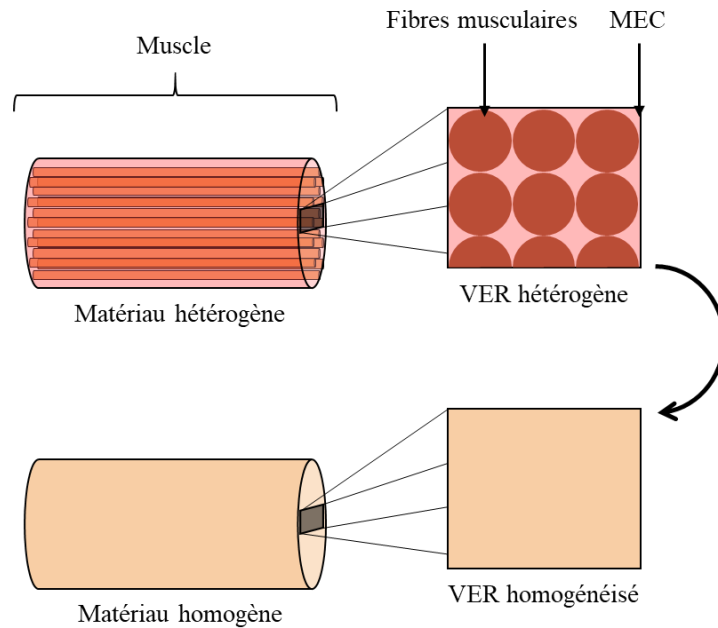


Figure. 33: Schéma du principe d'homogénéisation appliqué au muscle squelettique. (Adapté de Nierenberger, 2013).

Il existe dans la littérature différentes méthodes d'homogénéisation, dont les plus connues sont les approximations de Voigt et Reuss. L'approximation de Voigt considère une distribution homogène de la déformation dans le VER, tandis que l'approximation de Reuss considère une distribution de la contrainte homogène dans le VER. Certains modèles récents utilisent ces méthodes d'homogénéisation dans la modélisation des propriétés mécaniques du muscle squelettique, notamment celle de Voigt, pour lier les échelles microscopiques des fibres et MEC à l'échelle macroscopique du muscle (Spyrou *et al.*, 2017; Bleiler *et al.*, 2019).

Plus récemment, des études (DeBotton *et al.*, 2006; Lopez-Pamies et Idiart, 2010) développent des méthodes d'homogénéisation par itérations pour des matériaux composites renforcés de fibres, reprises par (López Jiménez, 2014) dans le cadre de tissus mous. Cette méthode d'homogénéisation par itération est utilisée en 2019 dans le cadre d'un modèle biophysique multi-échelle du muscle squelettique (Spyrou *et al.*, 2019), résultant en un comportement mécanique plus réaliste qu'avec l'approximation de Voigt.

Dans le cadre du muscle squelettique, des modèles considèrent une échelle microscopique avec fibres musculaires et MEC, ainsi qu'une échelle macroscopique du muscle complet (Zhang *et al.*, 2020; Lamsfuss et Bargmann, 2021; He *et al.*, 2022). Cependant certains modèles décrivent d'autres échelles intermédiaires, comme c'est le cas de (Virgilio *et al.*, 2015) qui considère en plus une échelle mésoscopique représentée par les fascicules musculaires. En 2019, (Schmid *et al.*, 2019) incorporent une composante liée aux filaments de titine dans l'expression du comportement passif des fibres musculaires dans leur modèle biophysique multi-échelle. La

même année, le modèle de (Bleiler *et al.*, 2019) décrit le comportement de la MEC comme l'addition d'une composante liée aux fibres de collagène et une composante liée à la matrice de protéoglycanes dans laquelle se trouve ces fibres. En 2013, (Heidlauf et Röhrle, 2013) décrivent le comportement chimio-électromécanique du muscle à partir d'un modèle multi-échelle et multi-physique. Ce modèle permet de lier un modèle biophysique du sarcomère avec la propagation de potentiel d'action dans les fibres musculaires, et d'intégrer ces paramètres cellulaires dans un modèle mécanique du muscle, pour décrire l'ensemble du processus d'excitation contraction du muscle.

Ainsi, la modélisation multi-échelle se développe de plus en plus ces dernières années pour le muscle squelettique de par le développement, de méthodes d'homogénéisation, des logiciels et machines de calculs, et des procédés expérimentaux permettant l'acquisition des propriétés mécaniques des micro constituants musculaires.

Ce chapitre bibliographique nous permet d'avoir une vision d'ensemble de ce qui se fait dans la littérature en termes de tests mécaniques sur le muscle, ainsi que des modèles mécaniques. De manière globale, ces tests et modèles sont utilisés dans divers contextes d'études tels que l'études de muscle neuropathologiques, défaillant d'un gène, le suivis d'une pathologie, ou encore sur muscle sains. A partir de cet ensemble d'informations, il est possible de sélectionner les tests expérimentaux adaptés à notre étude, ainsi que le modèle mécanique le plus adapté dans la modélisation multi-échelle du comportement du muscle squelettique.

Objectifs de la thèse

Le but de ce travail de thèse est de comprendre l'implication du gène *Klf10* sur la mécanique du muscle squelettique, ainsi que son implication aux différentes échelles de la fibre et du muscle complet, ainsi que sur la matrice extracellulaire. Pour atteindre cet objectif, notre travail se déroule en deux parties, basées sur l'étude bibliographique réalisée au chapitre précédent.

La caractérisation expérimentale du comportement du muscle sur plusieurs échelles (la fibre musculaire et le muscle complet) est réalisée sur des muscles soléaires (lents) et EDL (rapides) pour des génotypes sains et *Klf10* KO. Les tests d'étirement-relâchement et de relaxation en *in vitro* réalisés à l'échelle macroscopique permettent de compléter la caractérisation de l'échelle microscopique opérée sur des fibres isolées pour les mêmes conditions de muscle.

La modélisation numérique à différentes échelles des propriétés mécaniques passives du muscle squelettique sain et *Klf10* KO à partir des caractérisations expérimentales précédentes. Les récents modèles multi-échelle développés permettent de moyenniser le comportement des structures du muscle aux échelles inférieures. Dans notre cas, le muscle est vu comme un matériau composite renforcé de fibre, exprimant un comportement hyperélastique anisotrope, incompressible et non visqueux. La loi constitutive choisie incorpore ces différents éléments par le biais d'une partie fibre et d'une partie matrice extracellulaire, chacune avec une composante isotrope et une composante anisotrope. Le passage des échelles inférieures à l'échelle macroscopique est réalisé par une pondération des comportements microscopiques par la fraction volumique des fibres. Tandis que les paramètres mécaniques des fibres sont ajustés sur les résultats expérimentaux obtenus sur fibres isolées, les paramètres de la matrice sont ajustés sur les résultats obtenus expérimentalement sur muscles complets après que les paramètres des fibres soient fixés.

Ces deux parties sont réalisées sur quatre configurations : muscle soléaire sain et *Klf10* KO, muscle EDL sain et *Klf10* KO et permettent de déduire l'implication des différents microcomposants et plus particulièrement des fibres de collagène de la MEC sur le comportement global du muscle. Ce travail représente une base dans la modélisation multi-échelle des propriétés mécaniques du muscle squelettique.

II. Matériels et méthodes

Dans cette partie sont décrits les différentes étapes de ce travail de recherche dans la caractérisation et la modélisation des propriétés mécaniques du muscle. La première étape consiste en la description des animaux et leurs conditions d'élevage, utilisés dans cette étude pour la caractérisation des muscles soléaires lents et EDL rapides pour les deux génotypes WT et Klf10 KO. Les différents protocoles des tests de caractérisations employés aux différentes échelles microscopiques (fibres isolées) et macroscopiques (muscles complets) sont présentés ainsi que les dispositifs expérimentaux permettant d'effectuer ces tests mécaniques. La deuxième partie de ce chapitre présente la loi constitutive utilisée pour modéliser le comportement du muscle squelettique, la méthode d'acquisition de ses différents paramètres modèles, et son implémentation dans un logiciel de modélisation par éléments finis permettant de simuler numériquement le comportement mécanique du muscle squelettique.

II.1. Animaux

Nous utilisons des souris C57BL/6 de type sauvage (*Wild Type* ou WT ou contrôle) et Klf10 KO (*Knock Out* ou KO), c'est-à-dire avec une inhibition du gène Klf10, âgées de 3 mois et issues d'une reproduction hétérozygote. Ces souris proviennent du CDTA (Centre de Distribution, Typage et Archivage animal. Orléans, Loiret) qui s'occupe de la lignée des souris Klf10 KO.

Les animaux sont élevés dans une pièce à température contrôlée (22 ± 2 °C), avec un cycle jour/nuits de 12 h. Les animaux ont un accès *ad libitum* à l'eau et à la nourriture. L'anesthésie est réalisée via un évaporateur d'isoflurane (MiniHUB V2, TEM SEGA, Pessac, France) par inhalation de 3 mg.L^{-1} à $1,5 \text{ L.min}^{-1}$ lors de la dissection des muscles. Après la dissection, les souris sont euthanasiées par dislocation cervicale, conformément aux directives relatives au soin et à l'utilisation des animaux de laboratoire. Le protocole est approuvé par le ministère français de l'enseignement supérieur de la recherche et de l'innovation (numéro de permis : DUO-4776), ainsi que par le comité d'éthique (CREMEAP ; numéro de permis : APAFIS #8905-2021011109249708)

II.2. Caractérisation macroscopique (muscle)

II.2.1. Préparation des muscles et dispositif expérimental

Les muscles soléaires ($N_{WT} = 9$, $N_{KO} = 6$) et EDL ($N_{WT} = 9$, $N_{KO} = 8$) sont prélevés sur la patte postérieure gauche des animaux. Lors de la dissection, une attention particulière est portée pour que les muscles ne soient pas étirés afin de ne pas les endommager, et qu'aucun tissu résiduel autour du muscle ne soit présent. Pour isoler les muscles, un fil de suture Sofsilk™, 4-0, 1,5 Metric est noué autour des extrémités tendineuses proximale et distale, au plus proche du muscle. Les tendons sont ensuite coupés et retirés. Après la dissection, chaque muscle est immédiatement placé dans un bain, présenté en Figure. 34, contenant une solution physiologique (50 ml de bicarbonate de sodium, 10 ml de chlorure de calcium déshydraté, et 9,6 g.L⁻¹ de poudre tampon Krebs-Hanseleit). La solution est maintenue tout au long du test à température ambiante de 25 °C, à un pH physiologique de 7,3 et sous oxygénation (95% O₂ et 5% CO₂). Ces conditions servent à mimer au mieux l'environnement physiologique *in vivo* du muscle. Les extrémités proximale et distale du muscle sont respectivement connectées à un capteur de force (Lever musculaire bimode 300C-LR, Aurora Scientific, Ontario, Canada) et à un crochet. Deux électrodes plates en platine, reliées à un stimulateur externe réglé à 1A, sont placées de chaque côté du muscle. Le logiciel SI610A Dynamic muscle Control v5.420 (Aurora Scientific, Ontario, Canada) est utilisé pour le contrôle du déplacement du bras de levier pour l'étirement du muscle.

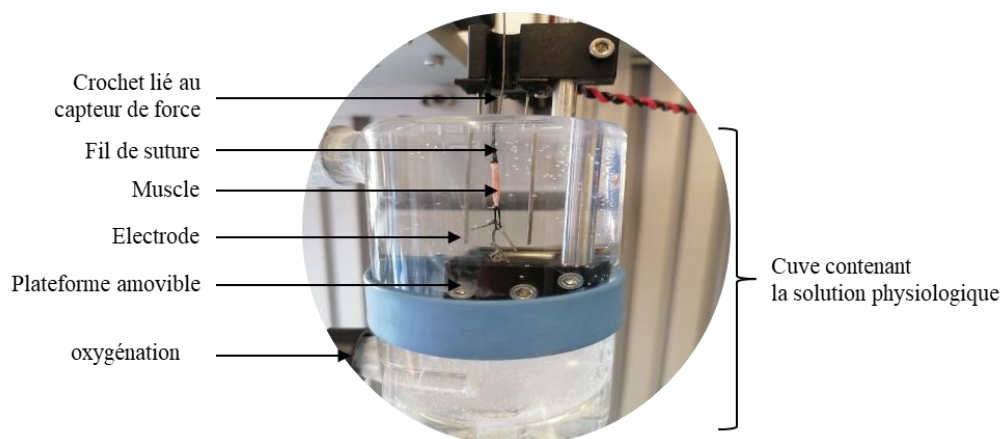


Figure. 34: Dispositif de tests mécaniques sur muscles isolés.

Avant d'effectuer les tests mécaniques passifs, chaque muscle est placé à sa longueur initiale d'accroche (L_i) puis à sa longueur optimale (L_o), c'est-à-dire à la longueur où il développe sa force isométrique maximale. Cette longueur est atteinte pour chaque muscle de la façon suivante : (1) dans un premier temps, le muscle est placé à sa longueur de repos (L_r) (aussi désignée par *slack length* dans la littérature L_s), correspondant à la longueur où le muscle développe une force stable de 10 mN (Canon *et al.*, 2008; Toscano *et al.*, 2010) en appliquant trois contractions téaniques et trois contractions instantanées de façon successive. Chaque stimulation est espacée de 30 secondes et est réalisée à une fréquence de 40 Hz sur une durée de 0,7 s pour les contractions téaniques, et 0,002 s pour les contractions instantanées. Entre chaque contraction, le muscle est légèrement étiré de manière à maintenir constant le niveau de force initiale de 10 mN. (2) Dans un deuxième temps, la longueur optimale L_o est obtenue en appliquant des stimulations instantanées successives, espacées de 10 s en étirant le muscle par incrément de 0,25 mm entre chaque stimulation, jusqu'à ce que le muscle développe sa force isométrique maximale lors d'une contraction instantanée (Barton *et al.*, 2019). Les étapes de ce protocole d'étirement sont schématisées en (Figure. 35).

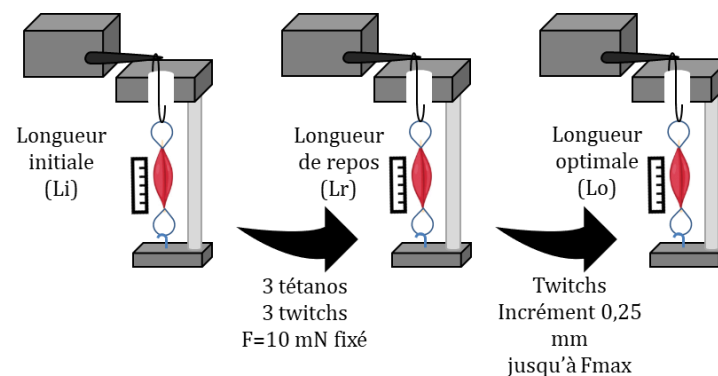


Figure. 35: Schéma de l'initialisation du muscle à sa longueur optimale (L_o).

II.2.2. Protocole de caractérisation passive : tests d'étirement-relâchement (rampe) et relaxation

Une fois le muscle à sa longueur L_o , un temps de repos de 5 minutes est appliqué. Le muscle est ensuite préconditionné, c'est-à-dire qu'il est soumis à deux tests d'étirement et de relâchement, ou *ramp stretch* (Kammoun *et al.*, 2016), avec 5 minutes de repos entre ces deux tests (Canon *et al.*, 2008). La diminution de la valeur de l'hystérésis est utilisée pour contrôler l'efficacité du préconditionnement. A la suite de ces deux répétitions, le muscle est laissé au

repos pendant 5 minutes, puis les muscles soléaires et EDL sont soumis à un test de rampe où les paramètres expérimentaux sont : un étirement de 25% par rapport à la longueur L_0 du muscle, à une vitesse lente ($0,167 \text{ mm.s}^{-1}$), pendant 15 s. L'étirement est suivi d'un relâchement à la même vitesse. La courbe de force-temps est ensuite tracée comme présenté en (Figure. 36), permettant la mesure de la force statique au maximum du pic d'étirement (F_{s_ramp}). La courbe de contrainte-déformation est ensuite générée pour mesurer le module d'élasticité en grande déformation (E) dans la partie linéaire des grandes déformations de la courbe, correspondant à une déformation comprise entre 60% et 80% de la déformation totale (Hollenstein *et al.*, 2006).

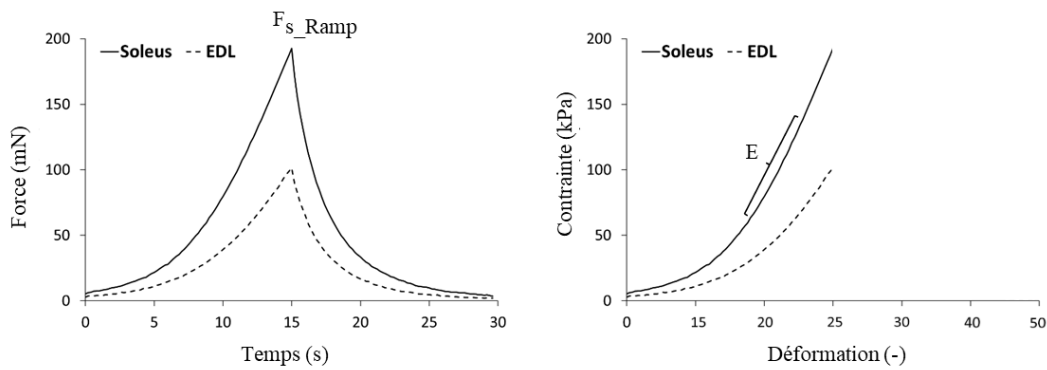


Figure. 36: Courbe de force en fonction du temps (gauche); contrainte en fonction de la déformation (droite) correspondant à un test de rampe à l'échelle macroscopique, pour les muscles soléaires (soleus) et EDL.

La contrainte statique σ_{s_ramp} est déterminée à partir de la normalisation de la force statique par rapport à la section transversale (Cross Section Area ou CSA) du muscle (Del Prete *et al.*, 2008)

$$CSA = \frac{m}{L_f \cdot 1,06} \quad (33)$$

où m (mg) représente la masse du muscle, L_f (mm) la longueur optimale des fibres du muscle relative à la longueur du muscle (0,71 pour le muscle soléaire et 0,44 pour le muscle EDL) et la valeur $1,06 \text{ kg.dm}^{-3}$ la masse volumique du muscle.

Après un temps de repos de 5 minutes, le muscle est soumis à un test de relaxation où les paramètres expérimentaux sont : un étirement de 25% par rapport à la longueur L_0 , une vitesse d'étirement rapide (50 mm.s^{-1}). Le muscle a ensuite été maintenu à ce niveau d'étirement pendant 250 s et relâché à sa longueur L_0 . La courbe force-déplacement (Figure. 37) a ensuite été représentée, permettant la mesure de la force dynamique à son pic d'étirement (F_{d_relax}) et de la force statique (F_{s_relax}) atteinte au plateau d'équilibre en fin de période de maintien des 250 s.

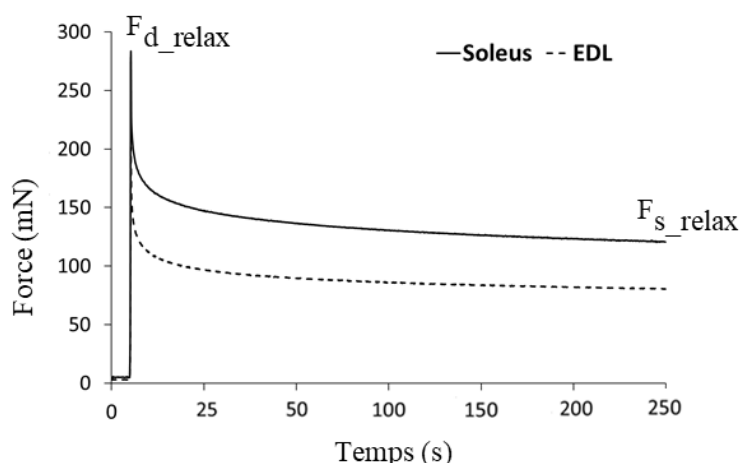


Figure. 37: Courbe de force en fonction du temps correspondant à un test de relaxation à l'échelle macroscopique, pour les muscles soléaires (soleus) et EDL

Les contraintes dynamique (σ_{d_relax}) et statique (σ_{s_relax}) ont été déterminées par normalisation des forces dynamique (F_{d_relax}) et statique (F_{s_relax}) par rapport à la CSA. Une fois les tests passifs terminés, les muscles ont été retirés du bain et pesés à l'aide d'une balance de laboratoire analytique (BP61S, SARTORIUS, Göttingen, Allemagne).

II.3. Caractérisation microscopique

II.3.1. Préparation des fibres musculaires et dispositif expérimental

Les fibres musculaires sont prélevées sur des muscles soléaires ($N_{WT} = 17$, $N_{KO} = 16$) et EDL ($N_{WT} = 16$, $N_{KO} = 15$) sur les pattes arrière gauches de 5 souris WT et 5 souris Klf10 KO. Les muscles ont été soumis à un protocole de pelage (dissolution des tissus conjonctifs) pour l'extraction des fibres, consistant en une incubation à 4°C dans une solution de relaxation (composée de 70 mM de propionate de potassium, 8 mM d'acétate de magnésium, 5 mM d'EGTA, 7 mM d'ATP, 6 mM d'imidazole, 10 mM de PMFS, 50 mg.L⁻¹ de trypsine et 4 mg.L⁻¹ de leupeptine) à pH 7,1 dans laquelle différents pourcentages de glycérol ont été ajoutés (0% de glycérol pendant 1h30, 12,5% de glycérol pendant 1h30, 25% de glycérol pendant la nuit complète, 50% de glycérol pendant 4h00) (Toursel *et al.*, 2002; West *et al.*, 2013; Kammoun *et al.*, 2016). Le glycérol a pour but de digérer les différents tissus conjonctifs de la MEC du muscle. Les échantillons musculaires ont ensuite été conservés dans une solution à 50% de glycérol et 50% de solution de relaxation à -20°C pendant 5 semaines maximum. Par la suite, à l'aide d'une loupe binoculaire (LeicaTM M80, Welzlar, Allemagne), les fibres musculaires

dites « pelées » ont été isolées et placées dans un petit bain (14 x 4 mm) rempli de la même solution de relaxation diluée à température contrôlée de 25°C, comme le montre la (Figure. 38).

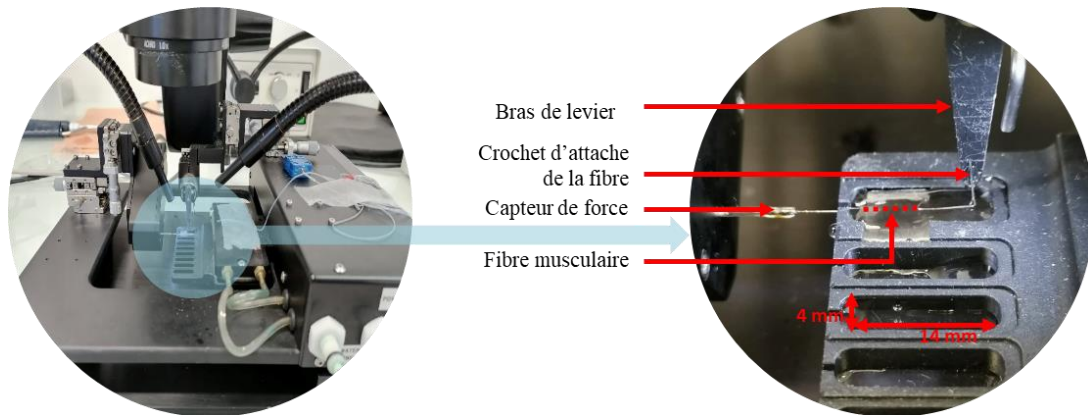


Figure. 38: Dispositif expérimental de tests mécaniques sur fibres isolées

II.3.2. Protocole de caractérisation passive : tests d'étirement-relâchement (rampe) et relaxation

Avant d'effectuer les tests mécaniques passifs, chaque fibre est étirée manuellement de façon à ce que ses sarcomères soient à une longueur de 2,6 μm . Cette longueur, appelée aussi longueur optimale L_0 de la fibre et correspondant à la longueur à laquelle les myofilaments sont considérés comme alignés, est mesuré à l'aide d'un microscope optique (LeicaTM DM IL LED, Wetzlar, Allemagne) avec un grossissement x20. Le diamètre moyen de la fibre est déterminé en moyennant plusieurs mesures sur toute la longueur de la fibre. Par la suite, chaque fibre a subi deux tests de préconditionnement, suivis de deux tests mécaniques passifs.

Une fois placée à sa longueur L_0 , la fibre musculaire est préconditionnée, c'est-à-dire qu'elle est soumise à deux tests d'étirement-relâchement (rampe) avec 5 minutes de repos entre ces deux tests. La diminution de la valeur de l'hystérésis est utilisée pour contrôler l'efficacité du préconditionnement. Les tests de préconditionnement ont été réalisés afin de limiter l'impact de l'hystérésis et de l'effet visqueux sur les myofibrilles (Rehorn *et al.*, 2014).

A la suite de ces deux répétitions, la fibre est laissée au repos pendant 5 minutes, puis les fibres de muscles soléaires et EDL sont soumises à un test d'étirement-relâchement (Kammoun *et al.*, 2016) où les paramètres expérimentaux sont : un étirement de 50% par rapport à la longueur L_0 de la fibre, une vitesse lente ($66 \mu\text{m.s}^{-1}$) pendant 15 s. L'étirement est suivi d'un relâchement à la même vitesse. La courbe de force-temps est ensuite obtenue, permettant la mesure de la force statique au maximum du pic d'étirement (F_{s_ramp}). La courbe de contrainte-déformation

(Figure. 39) est ensuite générée pour mesurer le module d'élasticité (E) dans la partie linéaire des grandes déformations de la courbe, correspondant à une déformation comprise entre 60% et 80% de la déformation totale (Hollenstein *et al.*, 2006).

La contrainte statique (σ_{s_ramp}) est déterminée à partir de la normalisation de la force statique par rapport à la CSA de la fibre.

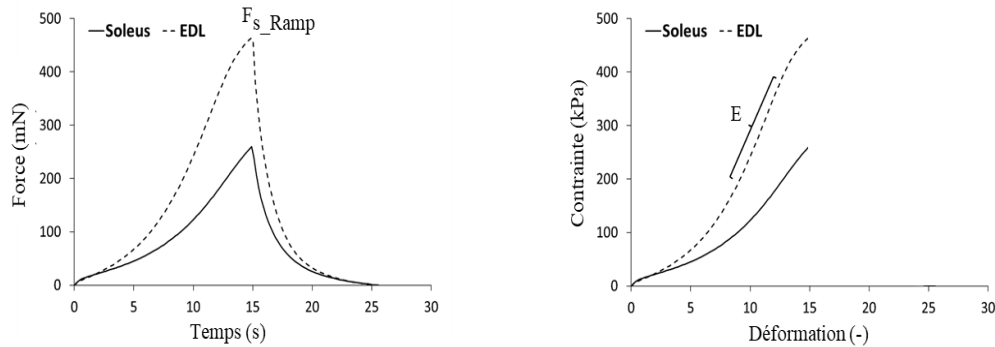


Figure. 39: Courbe de force en fonction du temps (gauche); contrainte en fonction de la déformation (droite) correspondant à un test de ramp à l'échelle microscopique, pour les fibres de muscles soléaire (soleus) et EDL.

Après un temps de repos de 5 minutes, la fibre est soumise à un test de relaxation où les paramètres expérimentaux sont : un étirement de 50% par rapport à la longueur L_0 de la fibre, une vitesse d'étirement rapide ($6,6 \text{ mm.s}^{-1}$). La fibre est ensuite maintenue à ce niveau d'étirement durant 60 s et relâchée à sa longueur L_0 . La courbe force-déplacement (Figure. 40) est ensuite obtenue, permettant la mesure de la force dynamique à son pic d'étirement (F_{d_relax}) ainsi que la force statique (F_{s_relax}) atteinte au plateau d'équilibre en fin de période de maintien de 60 s.

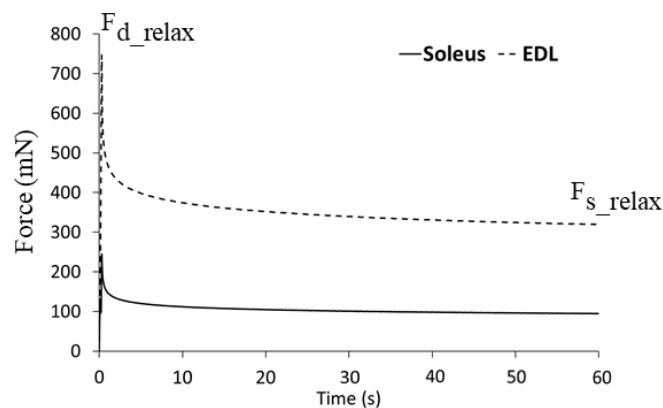


Figure. 40: Courbe de force en fonction du temps correspondant à un test de relaxation à l'échelle microscopique, pour les fibres de muscles soléaire (soleus) et EDL

Les contraintes dynamique (σ_{d_relax}) et statique (σ_{s_relax}) sont déterminées par normalisation des forces dynamique (F_{d_relax}) et statique (F_{s_relax}) par rapport à la CSA.

II.4. Analyses statistiques

Le logiciel SystatTM V11 (Systat Software Inc., San Jose, CA, Etats-Unis) est utilisé pour toutes les analyses statistiques. Des tests non paramétriques de Mann-Whitney ont été utilisés pour comparer les valeurs des paramètres mécaniques entre les échelles et aux mêmes échelles en fonction de la lignée génétique saine (souris CDTA vs souris Janvier Labs.), du génotype (WT vs Klf10 KO) et du type de muscle (EDL vs soléaire). Les résultats ont été considérés comme significatifs pour une p-value < 0,05 et les différents degrés de significativité seront représentés par : (***) : p-value<0.005, (**) : p-value<0.01, (*) : p-value<0.05, (NS) : p-value>0.05.

II.5. Loi de comportement mécanique multi-échelle

L'étude bibliographique précédemment reportée (Chapitre I) a permis d'avoir une vue d'ensemble des différentes approches de modélisation du tissu musculaire squelettique. Couplée avec sa structure multi-échelle et hiérarchisée, la modélisation multi-échelle est la plus à même de pouvoir reproduire le comportement mécanique du muscle, de l'échelle des fibres musculaires et de la MEC, à l'échelle du muscle complet. Le modèle utilisé doit pouvoir être identifié et validé à partir des expérimentations sur fibres isolées et muscles, réalisés lors de cette thèse et présentés en section II.2.3. Ce genre d'approche a été proposée par le passé (Spyrou *et al.*, 2019) et nous allons ici la développer afin de nous focaliser sur l'étude des fibres musculaires, de la MEC et du muscle complet, pour le gène Klf10 à l'étude. En 2022, (Liu *et al.*, 2022) développent un modèle multi-échelle, représentant le muscle squelettique comme un matériau hyperélastique anisotrope, quasi-incompressible et exclusivement passif. L'échelle microscopique est divisée en deux phases : une phase fibres musculaires et une phase MEC. A la différence des auteurs qui se sont focalisés sur les aspects numériques, dans notre cas les paramètres de ce modèle correspondent avec les expérimentations réalisées dans cette thèse, ainsi nous nous basons sur ce modèle dans le cadre de la modélisation du comportement mécanique du muscle squelettique dans ce projet de recherche pour l'étude du gène Klf10 et en maîtrisant les aspects tant expérimentaux que numériques.

La méthode d'homogénéisation utilisée par les auteurs pour le passage entre les échelles microscopique (fibres musculaires, MEC) et macroscopique (muscle) est néanmoins remplacée par une pondération des contraintes des phases fibres musculaires et MEC via leurs fractions volumiques globales respectives ϕ^f et ϕ^m . La densité d'énergie de déformation du muscle W est alors décomposée en une partie fibre W^f et une partie MEC W^m :

$$W = \phi^f W^f + \phi^m W^m \quad (34)$$

$$\text{où } \phi^f + \phi^m = 1$$

Ces deux expressions W^f et W^m sont détaillées dans la suite de cette section.

II.5.1. Modèle constitutif des fibres musculaires

Les fibres musculaires expriment un comportement hyperélastique et anisotrope, avec une orientation préférentielle selon l'axe principal (longitudinal) du muscle (vecteur unitaire $\mathbf{M}^f$) défini à partir de l'angle θ^f tel que $\mathbf{M}^f(\sin(\theta^f), \cos(\theta^f), 0)$ comme représenté en Figure. 41. La densité d'énergie de déformation des fibres W^f est subdivisée en une partie isotrope W_{iso}^f , une partie anisotrope W_{ani}^f et une partie volumique W_{vol}^f (Equation. 35), dépendantes respectivement du premier invariant du tenseur de Cauchy Green droit $\mathbf{C}$, des quatrième et cinquième invariants de $\mathbf{C}$ et du troisième invariant du tenseur gradient de déplacement $\mathbf{F}$.

$$W^f = W_{iso}^f(I_C) + W_{ani}^f(IV_C^f, V_C^f) + W_{vol}^f(J) \quad (35)$$

La composante isotrope des fibres musculaires est définie par une loi de comportement de type Néo-Hookéen (Equation. 36), comme définie en section I.4.2, et possède un unique paramètre modèle c_1^f :

$$W_{iso}^f = \frac{c_1^f}{2} (I_C^* - 3) \quad (36)$$

où :

$$I_C^* = J^{-2/3} I_C \quad (37)$$

La composante anisotrope des fibres musculaires est représentée par le terme d'énergie de déformation explicité en (Equation. 38). Elle possède un premier terme de forme exponentielle dépendant de IV_C^f et présente deux paramètres modèles c_2^f et k^f . Ce premier terme a par le passé été utilisé pour modéliser le comportement mécanique des parois d'artères (Holzapfel, *et al.*,

2000; Masson *et al.*, 2010). Un deuxième terme polynomial, proposé par (Horgan et Saccomandi, 2005), dépend des invariants IV_C^f et V_C^f :

$$W_{ani}^f = \frac{c_2^f}{k^f} \left\{ e^{k^f (IV_C^f - 1)^2 - 1} \right\} + c_3^f (V_C^f - 2IV_C^f + 1) \quad (38)$$

où :

$$\begin{aligned} IV_C^f &= \text{tr}[\mathbf{C} \cdot (\mathbf{M}^f \otimes \mathbf{M}^f)] = \mathbf{M}^f \cdot (\mathbf{C} \cdot \mathbf{M}^f) \\ V_C^f &= \text{tr}[\mathbf{C}^2 \cdot (\mathbf{M}^f \otimes \mathbf{M}^f)] = \mathbf{M}^f \cdot (\mathbf{C}^2 \cdot \mathbf{M}^f) \end{aligned} \quad (39)$$

avec $\mathbf{M}^f$ le vecteur unitaire représentant la direction préférentielle de déformation des fibres musculaires.

La composante volumique des fibres musculaires est exprimée dans sa forme générale compressible (Equation. 40) :

$$W_{vol}^f = \frac{K^f}{2} (J - 1)^2 \quad (40)$$

où K^f correspond au module d'élasticité isostatique des fibres musculaires.

Le second tenseur des contraintes de Piola-Kirchhoff $\mathbf{S}^f$ des fibres peut alors être exprimé par dérivation de la densité d'énergie de déformation W^f par rapport au tenseur $\mathbf{C}$ (Equation. 41) pour déterminer son expression théorique (Equation. 42) :

$$\mathbf{S}^f = 2 \frac{\partial W^f}{\partial \mathbf{C}} \quad (41)$$

$$\mathbf{S}^f = 2(W_1^f \mathbf{I} + W_3^f \text{III}_C \mathbf{C}^{-1} + W_4^f \mathbf{M} \otimes \mathbf{M} + W_5^f (\mathbf{M} \otimes \mathbf{C} \mathbf{M} + \mathbf{C} \mathbf{M} \otimes \mathbf{M})) \quad (42)$$

où :

$$W_1^f = \frac{c_1^f}{2} \quad (43)$$

$$W_3^f = K^f (J - 1) \quad (44)$$

$$W_4^f = c_2^f (IV_C^f - 1) e^{k^f (IV_C^f - 1)^2} - 2c_3^f \quad (45)$$

$$W_5^f = c_3^f \quad (46)$$

Ce sont ces expressions, (Equations. 43 à 46), qui seront utilisées en section II.6 et II.7 pour l'identification des paramètres de la fibre musculaire à partir des données expérimentales précédemment présentées en section II.3, puis leur implémentation dans un modèle par éléments finis.

II.5.2. Modèle constitutif de la MEC

La MEC est également considérée comme un matériau composite renforcé de fibres afin de modéliser l'influence des fibres de collagène. Son comportement est modélisé par une loi hyperélastique anisotrope, avec deux orientations préférentielles (vecteurs unitaires $\mathbf{M}_1^m$ et $\mathbf{M}_2^m$) liées à l'inclinaison des fibres de collagène $\theta_1^m = -55^\circ$ et $\theta_2^m = +55^\circ$ par rapport à l'axe des fibres musculaires telles que $\mathbf{M}_1^m(\sin(\theta_1^m), \cos(\theta_1^m), 0)$ et $\mathbf{M}_2^m(\sin(\theta_2^m), \cos(\theta_2^m), 0)$ (Purslow, 2010, 2020) (Figure. 41).

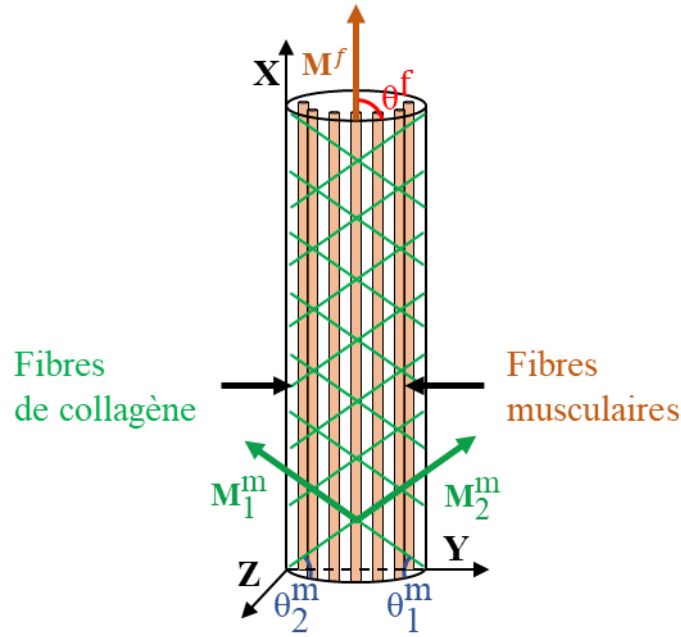


Figure. 41: Représentation schématique des fibres musculaires et des fibres de collagène de la MEC dans le muscle. (Adapté de (Liu et al.,2022)).

La densité d'énergie de déformation de la phase MEC proposée en (Equation. 47) se décompose en une partie isotrope W_{iso}^m , une partie anisotrope W_{ani}^m et une partie volumique W_{vol}^m , qui sont dépendantes respectivement du premier invariant du tenseur de Cauchy Green droit $\mathbf{C}$, des quatrième, cinquième, sixième et septième invariants du tenseur $\mathbf{C}$, et du troisième invariant du tenseur gradient de déplacement $\mathbf{F}$:

$$W^m = W_{vol}^m(J) + W_{iso}^m(I_C^m) + W_{ani}^m(IV_C^m, V_C^m, VI_C^m, VII_C^m) \quad (47)$$

La composante isotrope de la MEC est définie par une loi de comportement de type Néo-Hookéen (Equation. 48) comme définie en section I.4.2 et possède un unique paramètre modèle c_1^m :

$$W_{iso}^m = \frac{c_1^m}{2} (I_C^* - 3) \quad (48)$$

où :

$$I_C^* = J^{-2/3} I_C \quad (49)$$

La composante anisotrope de la MEC est représentée par la loi de comportement décrite en (Equation. 50). Elle présente un premier terme exponentiel dépendant de IV_C^m et VI_C^m et possède deux paramètres modèles c_2^m et k^m , ainsi qu'un deuxième terme polynomial dépendant des invariants IV_C^m , V_C^m , VI_C^m et VII_C^m avec un unique paramètre modèle c_3^m .

$$W_{ani}^m = \frac{c_2^m}{k^m} \left\{ [e^{k^m (IV_C^m - 1)^2 - 1}] + [e^{k^m (VI_C^m - 1)^2 - 1}] \right\} + c_3^m (V_C^m + VII_C^m - 2IV_C^m - 2VI_C^m + 2) \quad (50)$$

où :

$$\begin{aligned} IV_C^m &= \text{tr}[\mathbf{C} \cdot (\mathbf{M}_1^m \otimes \mathbf{M}_1^m)] = \mathbf{M}_1^m \cdot (\mathbf{C} \cdot \mathbf{M}_1^m) \\ V_C^m &= \text{tr}[\mathbf{C}^2 \cdot (\mathbf{M}_1^m \otimes \mathbf{M}_1^m)] = \mathbf{M}_1^m \cdot (\mathbf{C}^2 \cdot \mathbf{M}_1^m) \\ VI_C^m &= \text{tr}[\mathbf{C} \cdot (\mathbf{M}_2^m \otimes \mathbf{M}_2^m)] = \mathbf{M}_2^m \cdot (\mathbf{C} \cdot \mathbf{M}_2^m) \\ VII_C^m &= \text{tr}[\mathbf{C}^2 \cdot (\mathbf{M}_2^m \otimes \mathbf{M}_2^m)] = \mathbf{M}_2^m \cdot (\mathbf{C}^2 \cdot \mathbf{M}_2^m) \end{aligned} \quad (51)$$

avec $\mathbf{M}_1^m$ et $\mathbf{M}_2^m$ les vecteurs unitaires représentant les directions préférentielles de déformation des fibres de collagène de la MEC par rapport aux fibres musculaires.

La composante volumique de la MEC est modélisée par la même forme générale compressible que pour la fibre (Equation. 52) :

$$W_{vol}^m = \frac{K^m}{2} (J - 1)^2 \quad (52)$$

où K^m correspond au module d'élasticité isostatique de la MEC.

De la même façon que pour la phase fibre, le second tenseur des contraintes de Piola-Kirchhoff $\mathbf{S}^m$ sur la MEC est exprimé par dérivation de la densité d'énergie de déformation W^m par rapport au tenseur de déformation $\mathbf{C}$ (Equation. 53) pour déterminer son expression théorique (Equation. 54).

$$\mathbf{S}^m = 2 \frac{\partial W^m}{\partial \mathbf{C}} \quad (53)$$

$$\begin{aligned} \mathbf{S}^m &= 2(W_1^m \mathbf{I} + W_3^m III_C \mathbf{C}^{-1} + W_4^m \mathbf{M}_1^m \otimes \mathbf{M}_1^m + W_5^m (\mathbf{M}_1^m \otimes \mathbf{C} \mathbf{M}_1^m + \mathbf{C} \mathbf{M}_1^m \otimes \mathbf{M}_1^m) \\ &\quad + W_6^m \mathbf{M}_2^m \otimes \mathbf{M}_2^m + W_7^m (\mathbf{M}_2^m \otimes \mathbf{C} \mathbf{M}_2^m + \mathbf{C} \mathbf{M}_2^m \otimes \mathbf{M}_2^m)) \end{aligned} \quad (54)$$

où :

$$W_1^m = \frac{c_1^m}{2} \quad (55)$$

$$W_3^m = K^m(J-1) \quad (56)$$

$$W_4^m = c_2^m (IV_C^m - 1) e^{k^m (IV_C^m - 1)^2} - 2c_3^m \quad (57)$$

$$W_5^m = c_3^m \quad (58)$$

$$W_6^m = c_2^m (IV_C^m - 1) e^{k^m (IV_C^m - 1)^2} - 2c_3^m \quad (59)$$

$$W_7^m = c_3^m \quad (60)$$

Ce sont ces expressions (Equations. 55 à 60) qui seront utilisées en section II.6 et II.7, pour l'identification des paramètres de la MEC à partir des données expérimentales précédemment présentées en section II.2 puis son implémentation dans un modèle par éléments finis.

II.5.3. Lien multi-échelle de la fibre au muscle

Une pondération locale des contraintes des fibres musculaires et de la matrice extracellulaire est effectuée en fonction de leurs fractions volumiques. Il est admis dans la littérature que les fibres musculaires représentent en moyenne 90 à 99% du volume total du muscle squelettique (Kjær, 2004; Spyrou *et al.*, 2019). Cette fraction volumique peut varier selon le muscle considéré, mais aussi selon l'espèce, l'âge, l'activité physique ou l'état de santé des individus composant la population étudiée.

Le second tenseur des contraintes de Piola-Kirchhoff $\mathbf{S}$ est exprimé à l'échelle du muscle selon l'(Equation. 61) en fonction des contraintes $\mathbf{S}^f$ et $\mathbf{S}^m$, respectivement des phases liées aux fibres et à la MEC définies en équations (Equation. 42) et (Equation. 54):

$$\mathbf{S} = \phi^f \mathbf{S}^f + \phi^m \mathbf{S}^m \quad (61)$$

où :

$$\phi^f + \phi^m = 1$$

II.6. Identification des paramètres

Afin de modéliser numériquement le comportement mécanique du muscle, les paramètres du modèle sont identifiés à partir des données expérimentales obtenues suite aux expérimentations présentées en section II.2 pour modéliser quatre muscles :

- (1) muscle soléaire de génotype WT ;
- (2) muscle soléaire de génotype Klf10 KO ;
- (3) muscle EDL de génotype WT ;
- (4) muscle EDL de génotype Klf10 KO.

Les données expérimentales utilisées pour l'identification des paramètres du modèle sont celles acquises lors des expérimentations sur fibres isolées et muscles complets sur les souris femelles de génotypes WT (N=9) et Klf10 KO (N=8) âgées de 3 mois, précédemment présentées au section II.1. Lors de l'identification, les paramètres de fractions volumiques, d'orientations préférentielles des fibres de collagène mais aussi d'incompressibilité sont initialisées, avant ajustements ultérieurs, aux mêmes valeurs extraites de la littérature pour les quatre conditions de muscle.

Les paramètres modèles de la partie fibre (c_1^f , c_2^f , c_3^f et k^f) sont tout d'abord identifiés pour les quatre types de muscles à partir des courbes expérimentales obtenues lors des tests de traction uniaxiale à l'échelle de la fibre présentés en section II.3. Les paramètres sont identifiés à l'aide de la méthode des moindres carrés non-linéaire et un algorithme à région de confiance (*trust-region algorithm*) depuis l'application Curve Fitter du logiciel Matlab 2022b (Mathworks, Natick, MA, Etats-Unis). Lors de l'identification des paramètres, les fibres musculaires sont considérées comme incompressibles avec une orientation préférentielle selon l'axe longitudinal (X sur la Figure. 41), soit un angle θ^f de 90° , avec une absence de MEC ($\phi^f = 1$). La modification minimale des coefficients pour les jacobiens de différences finies est fixée à la valeur 10^{-8} et la modification maximale des coefficients pour les jacobiens de différences finies est fixée à la valeur 0,1. Les valeurs de tolérance des conditions d'arrêt pour le modèle et les paramètres du modèle sont fixées à 10^{-6} . Les paramètres c_1^f , c_2^f , c_3^f et k^f sont supposés positifs pour notre modèle fibre. La fiabilité de chaque identification de paramètres est estimée à partir du coefficient de détermination R^2 .

Les paramètres modèles de la partie MEC (c_1^m , c_2^m , c_3^m et k^m) sont ensuite identifiés pour les quatre types de muscles sur les courbes expérimentales obtenues lors des tests de traction uniaxiale à l'échelle du muscle présentés en section II.2. Toutefois, l'identification des paramètres de la MEC pose un problème autrement plus complexe que dans le cas des fibres musculaires dans la mesure où, à notre connaissance, il n'existe pas de méthode expérimentale établie et validée pour la caractérisation mécanique de la MEC. Comme nous avons pu le voir précédemment, la MEC n'a à ce titre pas pu être testée expérimentalement par nos soins. Nous avons donc choisi une approche indirecte consistant à, dans un premier temps, identifier la partie fibre (paragraphe précédent) puis de fixer ces paramètres pour procéder à l'identification des paramètres liés à la MEC à partir des données expérimentales obtenues sur muscle complet (fibres + MEC) obtenues expérimentalement. Comme pour la partie fibre, les paramètres de la

MEC sont identifiés à l'aide de la méthode des moindres carrés non-linéaire et d'un algorithme à région de confiance (*trust-region algorithm*) avec les mêmes valeurs de paramètres d'ajustement que pour la partie fibre. Lors de l'identification des paramètres, la MEC est considérée comme incompressible avec deux orientations préférentielles θ_1^m de -55° et θ_2^m de $+55^\circ$ par rapport à l'orientation des fibres musculaires (Purslow, 2010, 2020). Les valeurs de fractions volumiques ϕ^f et ϕ^m sont initialisées à des valeurs respectives de 0,9 et 0,1 (Spyrou *et al.*, 2019; Liu *et al.*, 2021). La robustesse de chaque identification est estimée à partir du coefficient de détermination R^2 .

Les paramètres identifiés sont ensuite implémentés dans un logiciel éléments finis pour la simulation numérique du comportement des fibres musculaires et du muscle complet dont les géométries, chargements, et conditions aux limites sont décrits ci-après.

Une étude paramétrique comparant comportements expérimentaux et simulations numériques est ensuite réalisée pour l'ajustement des paramètres physiologiques du muscle, à savoir les angles d'orientations préférentielles (les fractions volumiques et les valeurs d'incompressibilité) pour les parties fibres musculaires et MEC, afin que les résultats des simulations numériques soient les plus fidèles possibles à nos courbes expérimentales. Les valeurs ajustées de ces paramètres physiologiques sont ensuite comparées aux valeurs reportées dans la littérature. Ce n'est qu'à l'issue de cette analyse, également décrite ci-après, que les paramètres du modèle sont définitivement fixés pour les quatre catégories de muscles considérées.

II.7. Simulations numériques

La plate-forme de simulation mécanique par éléments finis *Salome Meca* (EDF, Paris, France) (Delmas et Assire, 2015; Drouet, 2017) utilisant le solveur mécanique libre (*GNU General Public License, version 3*) de simulation numérique en mécanique des structures *Code Aster* 14.4.0 (EDF, Paris, France) (CodeAster, 2019) est utilisée pour simuler numériquement le comportement mécanique des fibres musculaires puis du muscle squelettique entier. Ces modélisations numériques, dont les différentes étapes sont décrites par la suite, ont pour but de reproduire les tests expérimentaux de traction sur fibres isolées et sur muscles entiers décrits en section II.3. Les différentes étapes de la simulation numérique sont résumées en (Figure. 42).

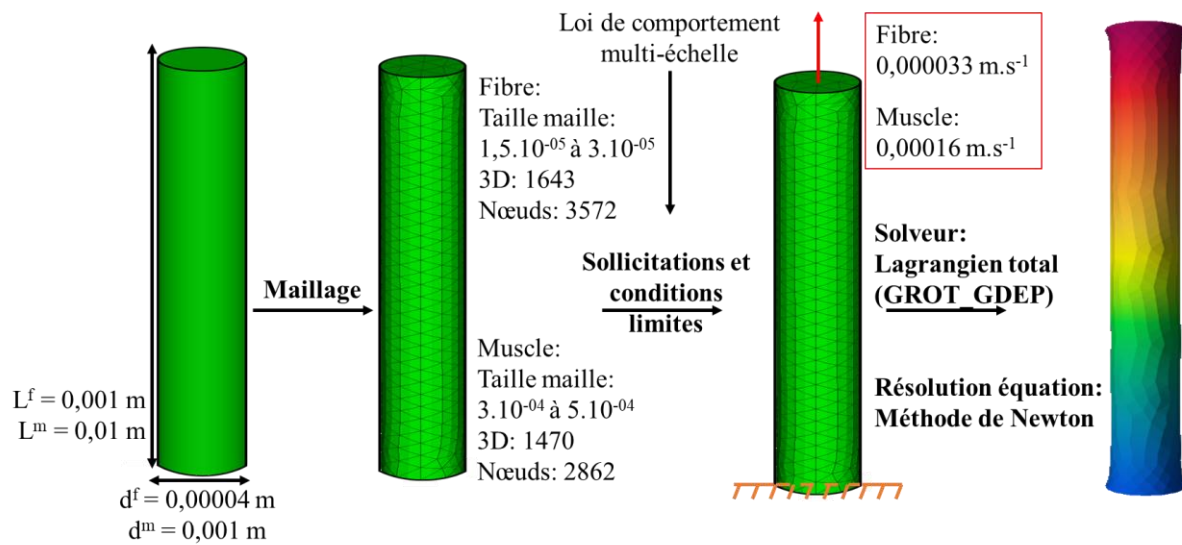


Figure. 42: Schéma des étapes de modélisation numérique par éléments finis.

La géométrie, bien qu'envisagée par la suite plus réaliste à partir de segmentations d'images IRM 7T des muscles EDL et soléaire de souris, est ici par un cylindre de longueur $L^m = 10 \text{ mm}$ et de diamètre $d^m = 1 \text{ mm}$ pour représenter le muscle entier. Ces dimensions sont du même ordre de grandeur que celles des muscles testés expérimentalement. De la même façon, la géométrie simplifiée utilisée pour les fibres musculaires est un cylindre de longueur $L^f = 1 \text{ mm}$ et de diamètre $d^f = 40 \mu\text{m}$. Ces dimensions sont du même ordre de grandeur que celles des fibres isolées testées expérimentalement.

Le maillage d'un muscle entier est réalisé via le générateur de maillage NETGEN (CERBSim GmbH, Vienne, Autriche) (Schöberl, 1997). Les éléments du maillage optimisé sont des tétraèdres de dimensions caractéristiques comprises entre 300 nm et 500 nm pour un total de 1470 éléments et 2862 nœuds.

Le maillage d'une fibre isolée est obtenu de façon similaire au muscle précédemment présentée, avec des éléments de dimensions caractéristiques comprises entre 15 nm et 30 nm pour un total de 1643 éléments et 3572 nœuds.

La loi constitutive multi-échelle hyperélastique et anisotrope définie précédemment (Equation. 35 à Equation 61) est implémentée dans une bibliothèque spécifique sous le logiciel MFront (CEA, Paris, France) qui est un générateur de code s'appuyant sur la bibliothèque

TFEL-4.0.0 (Helfer *et al.*, 2015). Le second tenseur de Piola-Kirchhoff $\mathbf{S}$ est exprimé en sortie de simulations. Les paramètres mécaniques des lois de comportement et issus des tests expérimentaux sont présentés en Tableaux. 9 et 10 dans la suite de ce manuscrit en section III.6. En plus de ces paramètres modèle obtenus par ajustement, les modules d'élasticité isostatique pour la partie fibres musculaires K^f et la partie MEC K^m sont fixés respectivement à 200 MPa et 10 MPa de façon à garantir leurs incompressibilités, dans la limite de tolérance de simulation du logiciel (Aritan *et al.*, 2009). Les orientations préférentielles des fibres musculaires θ^f et de la MEC θ_1^m et θ_2^m sont fixées respectivement à 90° , -55° et $+55^\circ$.

La fraction volumique de fibres ϕ^f est fixée à 1 lors des simulations de fibres isolées, et à 0,9 pour les simulations de muscles complets (Spyrou *et al.*, 2019; Liu *et al.*, 2021).

Lors de l'étude paramétrique, les paramètres de fractions volumiques, d'angles d'orientations préférentielles, et d'incompressibilités, pour les fibres musculaires et MEC sont testés individuellement sur les plages de données reportées après et dans le Tableau. 2 :

- **La fraction volumique de la partie fibre** est testée pour ϕ^f comprise entre 0,90 et 0,99 par pas de 0,01.
- **Le paramètre d'incompressibilité de la partie fibre** est testé pour des valeurs $K^f = 0,025$ MPa, 0,05 MPa 0,1 MPa, 0,2 MPa, 0,5 MPa, 25 MPa, 50 MPa, 100 MPa, 200 MPa, 500 MPa.
- **Le paramètre d'incompressibilité de la partie MEC** est testé pour des valeurs $K^m = 0,025$ MPa, 0,05 MPa 0,1 MPa, 0,2 MPa, 0,5 MPa, 25 MPa, 50 MPa, 100 MPa, 200 MPa, 500 MPa.
- **L'angle d'orientation préférentielle de la partie fibre** est testé pour θ^f compris entre 90° et 100° par pas de 1° .
- **L'angle d'orientation préférentielle de la partie MEC** est testé pour θ_1^m et θ_2^m compris entre $\pm 50^\circ$ à $\pm 60^\circ$ par pas de 1° .

Tableau 2: Variation des paramètres de fractions volumiques, angles d'orientations préférentiels et d'incompressibilité pour les fibres musculaires et la MEC

ϕ^f (-)	θ^f ($^\circ$)	K^f (MPa)	ϕ^m (-)	θ_1^m et θ_2^m ($^\circ$)	K^m (MPa)
0,90 à 0,99	90 à 100	0,025 à 500	0,1 à 0,01	± 50 à ± 60	0,025 à 500

Les sollicitations et conditions aux limites sont définies de façon à reproduire les tests mécaniques réalisés expérimentalement sur fibres musculaires isolées et muscles complets. Ainsi, pour les simulations sur fibres isolées ou sur muscles entiers, une extrémité du cylindre

est encastrée tandis que l'autre extrémité est soumise à un déplacement similaire à celui imposé expérimentalement, soit :

- **Pour l'étirement des modèles de fibres isolées :** jusqu'à 50% de déformation (soit 0,5 mm) en 15 s (soit un taux de déformation de $0,033 \text{ s}^{-1}$).
- **Pour l'étirement des modèles de muscles complets :** jusqu'à 25% de déformation (soit 2,5 mm) en 15 s (soit un taux de déformation de $0,017 \text{ s}^{-1}$).

Un schéma de discrétisation de type Lagrangien total (GROT_GDEP) est utilisé comme solveur non-linéaire et la méthode de Newton est utilisée pour la résolution des équations non-linéaires. Les contraintes de Piola_Kirchhoff **S** selon l'axe principale d'élongation sont extraites des simulations pour être comparées avec les données expérimentales lors des tests de traction sur fibres isolées et muscles complets.

III. Résultats

Les résultats de ce travail de recherches sont séparés en deux parties distinctes. Dans un premier temps nous nous attachons à observer les différences de propriétés mécaniques obtenues lors des expérimentations sur fibres isolées et muscles complets entre les muscles soléaires et EDL sains. Dans un second temps, nous présentons les propriétés mécaniques obtenues lors de la caractérisation des muscles soléaires sains et Klf10 KO aux échelles macroscopique (muscle complet) et microscopique (fibre isolée). De la même manière, nous présentons les propriétés mécaniques obtenues lors de la caractérisation des muscles EDL sains et Klf10 KO aux échelles macroscopique et microscopique. Dans un troisième temps sont présentés les résultats obtenus par simulations numériques des fibres et du muscle pour les quatre conditions musculaires EDL et soléaires, sains et Klf10 KO. Pour finir, nous présentons les résultats de l'étude numérique paramétrique réalisée sur les paramètres physiologiques de fractions volumiques, d'angles relatifs aux orientations préférentielles des fibres musculaires et de collagène présent dans la MEC, et de compressibilité du modèle.

III.1. Propriétés mécaniques des muscles lents et rapides sains

Cette section s'attache à comparer les résultats expérimentaux obtenus entre muscles lents et rapides sains, d'une part, à l'échelle du muscle entier (échelle macroscopique) et, d'autre part, à l'échelle de la fibre isolée (échelle microscopique). Lors de nos expérimentations, la comparaison entre les propriétés mécaniques des muscles de souris WT provenant du CDTA avec les propriétés mécaniques de muscle de souris WT provenant d'une autre lignée génétique ont montré des différences d'ordre de grandeur non négligeables, mettant en avant l'importance de la lignée génétique lors d'expérimentation sur modèle murin. Ainsi dans le cadre de cette thèse, seuls les résultats obtenus à partir des souris WT et Klf10 KO provenant de la même lignée génétique (CDTA) sont utilisés pour la comparaison des propriétés mécaniques entre types de muscles (soléaire vs EDL), et entre les génotypes (WT vs Klf10 KO).

Propriétés mécaniques à l'échelle macroscopique

Les résultats sont reportés en Tableau. 3.

Lors du *test d'étirement-relâchement*, la contrainte statique moyenne est significativement plus élevée pour le muscle soléaire ($\sigma_{s_ramp} = 256,8 \pm 8,10$ kPa) que pour le muscle EDL ($\sigma_{s_ramp} = 193,1 \pm 14,70$ kPa). Une différence significative est également observable pour le module d'élasticité tangent en grandes déformations, dont la valeur moyenne est plus élevée pour le muscle soléaire ($E = 1,52 \pm 0,06$ MPa) que pour le muscle EDL ($E = 1,16 \pm 0,10$ MPa). On observe les mêmes tendances pour les *tests de relaxation* où la valeur moyenne de la contrainte dynamique est significativement plus élevée pour le muscle soléaire ($\sigma_{d_relax} = 368,3 \pm 10,50$ kPa) que pour le muscle EDL ($\sigma_{d_relax} = 295,4 \pm 18,20$ kPa). De même, la contrainte statique est significativement plus élevée pour le muscle soléaire ($\sigma_{s_relax} = 146,8 \pm 4,20$ kPa) que pour le muscle EDL ($\sigma_{s_relax} = 110,3 \pm 7,00$ kPa).

On observe donc des différences significatives entre les propriétés d'élasticité des muscles soléaire lent et EDL rapide à l'échelle macroscopique pour une même lignée génétique saine (WT) (Figure. 43).

Tableau 3: Valeurs des données expérimentales des tests de rampe et relaxation à l'échelle macroscopique pour les muscles soléaire et EDL. La p-value correspond à la comparaison, pour les mêmes paramètres, entre les muscles soléaires et EDL à partir d'un test de Mann-Whitney.

	σ_{s_ramp} (kPa)	E (MPa)	σ_{d_relax} (kPa)	σ_{s_relax} (kPa)
Soléaire (N = 11)	$256,8 \pm 8,10$	$1,52 \pm 0,06$	$368,3 \pm 10,50$	$146,8 \pm 4,20$
EDL (N = 9)	$193,1 \pm 14,70$	$1,16 \pm 0,10$	$295,4 \pm 18,20$	$110,3 \pm 7,00$
p-value	0,030	0,040	0,040	0,04

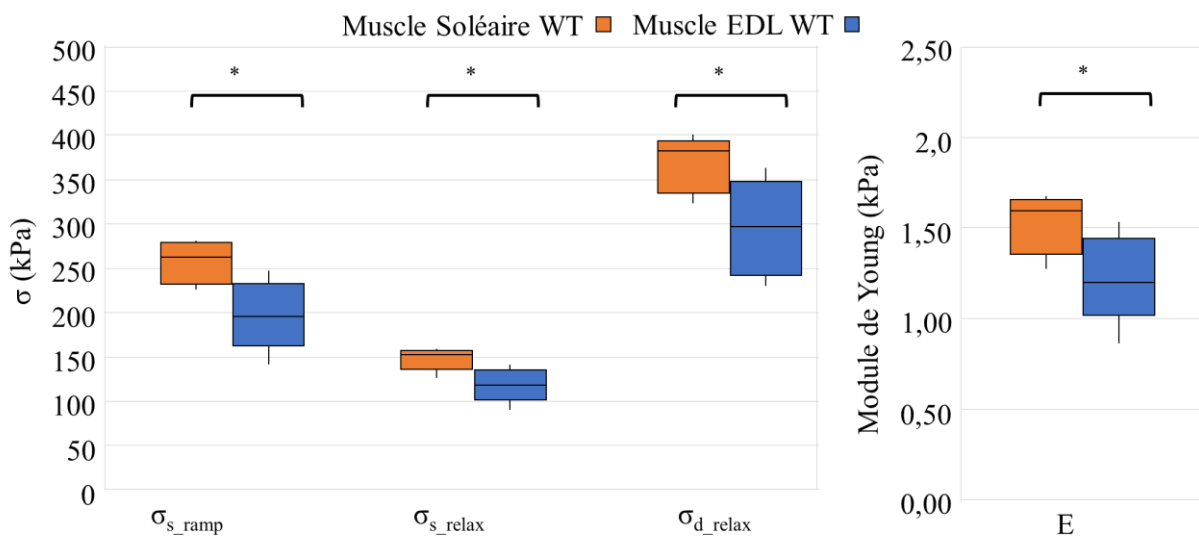


Figure. 43: Boxplot des propriétés mécaniques entre les muscles soléaires (orange) et EDL (bleu) WT à l'échelle macroscopique pour des paramètres des tests de rampe et de relaxation. *: $p < 0,05$.

Propriétés mécaniques à l'échelle microscopique

Les résultats sont reportés en Tableau. 4.

Lors du *test d'étirement-relâchement*, la contrainte statique moyenne ne montre pas de différence significative entre les fibres des muscles soléaires ($\sigma_{s_ramp} = 212,6 \pm 20,40$ kPa) et celles des muscles EDL ($\sigma_{s_ramp} = 286,7 \pm 34,00$ kPa). Le même constat s'impose pour le module d'élasticité tangent en grandes déformations, dont la valeur moyenne est de ($E = 0,60 \pm 0,06$ MPa) pour les fibres du muscle soléaire et de ($E = 0,86 \pm 0,13$ MPa) pour les fibres de muscle EDL. Malgré cette absence de différence significative, les propriétés mécaniques des fibres des muscles soléaires sont systématiquement inférieures à celles des fibres des muscles EDL.

On observe les mêmes tendances pour les paramètres du *test de relaxation* où la valeur moyenne de la contrainte dynamique ne présente pas de différence significative entre les fibres musculaires soléaires ($\sigma_{d_relax} = 305,6 \pm 26,10$ kPa) et les fibres musculaires EDL ($\sigma_{d_relax} = 396,9 \pm 47,00$ kPa). De même, la contrainte statique ne présente pas de différence significative ($\sigma_{s_relax} = 108,9 \pm 11,00$ kPa pour les fibres musculaires soléaires et $\sigma_{s_relax} = 147,5 \pm 19,90$ kPa pour les fibres musculaires EDL).

Ainsi, aucune différence significative n'est observée entre les propriétés des fibres de muscles soléaires lents et EDL rapides à l'échelle microscopique. Toutefois, malgré cette absence de différence significative, les propriétés mécaniques observées pour les fibres des muscles soléaires sont systématiquement inférieures à celles relevées pour les fibres des muscles EDL.

Tableau 4: Valeurs des données expérimentales des tests de rampe et de relaxation à l'échelle microscopique, pour les fibres de muscles soléaire et EDL. La p-value correspond à la comparaison pour les mêmes paramètres entre les fibres de muscles soléaire et ED d'un test de Mann-Whitney.

	σ_{s_ramp} (kPa)	E (MPa)	σ_{d_relax} (kPa)	σ_{s_relax} (kPa)
Soléaire (N = 17)	212,6 ± 20,40	0,6 ± 0,06	305,6 ± 26,10	108,9 ± 11,00
EDL (N = 16)	286,7 ± 34,00	0,86 ± 0,13	396,9 ± 47,10	147,5 ± 19,90
P-value	0,130	0,264	0,264	0,195

Alors que l'échelle macroscopique permet d'observer des différences significatives entre les muscles soléaire (lent et oxydatif) et les muscles EDL (rapide et glycolytique), ces différences ne sont pas observables à l'échelle microscopique, présentant même des tendances (non significatives) inverses. Ces résultats seront pris en compte dans la modélisation des muscles et fibres spécifiques aux muscles soléaires et EDL.

Propriétés mécaniques entre les échelles micro- et macroscopiques

Le module tangent en grandes déformations issu du *test de rampe* est significativement plus faible à l'échelle microscopique ($E = 0,60 \pm 0,06$ MPa) qu'à l'échelle macroscopique ($E = 1,21 \pm 0,10$) pour le muscle soléaire, soit une différence d'environ 0,6 MPa, et significativement plus élevé à l'échelle microscopique ($E = 0,86 \pm 0,13$ MPa) qu'à l'échelle macroscopique ($E = 0,52 \pm 0,06$ MPa) pour le muscle EDL, avec une différence d'environ 0,35 MPa. Les contraintes statiques pour le test de rampe σ_{s_ramp} , et les contraintes statique σ_{s_relax} et dynamique σ_{d_relax} du *test de relaxation* sont similaires entre les échelles macroscopique et microscopique pour le muscle soléaire, mais augmentent significativement entre les échelles macroscopique et microscopique du muscle EDL. Là encore, ces résultats seront pris en compte dans la modélisation des muscles et des fibres spécifiques aux muscles soléaire et EDL.

III.2. Propriétés mécaniques des muscles soléaires WT et Klf10 KO

Les résultats sont ici reportés pour les tests d'étirement-relâchement et de rampe aux échelles macroscopique et microscopique entre les muscles soléaires (muscles lents) extraits des souris WT et Klf10 KO afin d'identifier l'influence sur les propriétés mécaniques de l'expression de Klf10 aux deux échelles considérées.

A l'échelle macroscopique, les résultats répertoriés en Tableau. 5 pour le muscle soléaire montrent que, lors des *tests d'étirement-relâchement*, la contrainte statique moyenne tout comme le module d'élasticité tangent en grandes déformations ne montrent pas de différences significatives entre les muscles WT et Klf10 KO, avec des valeurs toutefois systématiquement plus faibles pour ces derniers ($\sigma_{s_ramp} = 256,8 \pm 8,10$ kPa et $E = 1,52 \pm 0,06$ MPa contre $\sigma_{s_ramp} = 249,7 \pm 14,70$ kPa et $E = 1,52 \pm 0,10$ MPa pour les muscles WT et Klf10 KO)

De même, pour les *tests de relaxation*, aucune différence significative mais une légère tendance à des valeurs plus élevées est observée entre le muscle soléaire WT ($\sigma_{d_relax} = 368,3 \pm 10,50$ kPa et $\sigma_{s_relax} = 146,8 \pm 4,20$ kPa) et Klf10 KO ($\sigma_{d_relax} = 361,0 \pm 19,10$ kPa et $\sigma_{s_relax} = 140,0 \pm 7,30$ kPa).

Quel que soit le test, on n'observe donc pas de différence significative entre les propriétés d'élasticité des muscles soléaires WT et Klf10 KO à l'échelle macroscopique (Figure. 44), ce qui devra être pris en compte lors de la modélisation numérique multiéchelle du muscle.

Tableau 5: Valeurs des paramètres expérimentaux des tests de rampe et relaxation à l'échelle macroscopique, pour les muscles soléaire Klf10 KO et contrôles WT. La p-value correspond à la comparaison pour les mêmes paramètres entre les muscles soléaires Klf10 KO et contrôles WT d'un test de Mann-Whitney.

	σ_{s_ramp} (kPa)	E (MPa)	σ_{d_relax} (kPa)	σ_{s_relax} (kPa)
Soléaire WT (N = 11)	256,8 ± 8,10	1,52 ± 0,06	368,3 ± 10,50	146,8 ± 4,20
Soléaire KO (N = 6)	249,7 ± 14,70	1,52 ± 0,10	361,0 ± 19,10	140,0 ± 7,30
P-value	0,773	0,847	0,700	1

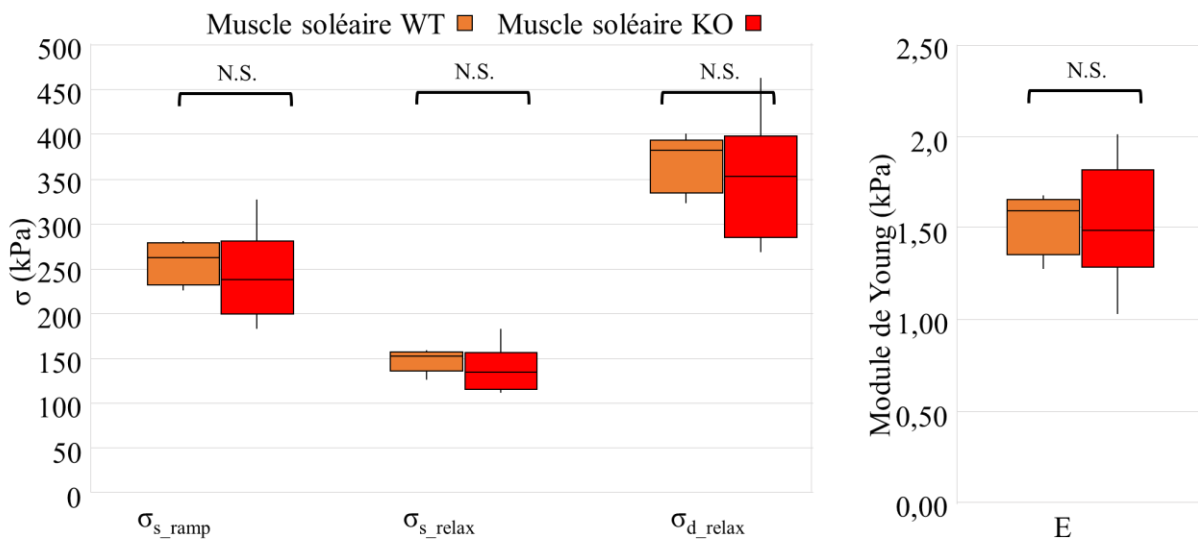


Figure. 44: Boxplot des propriétés mécaniques entre les génotypes WT (orange) et Klf10 KO (rouge) à l'échelle macroscopique pour les muscles soléaires à partir des tests de rampe et de relaxation. NS: non significatif.

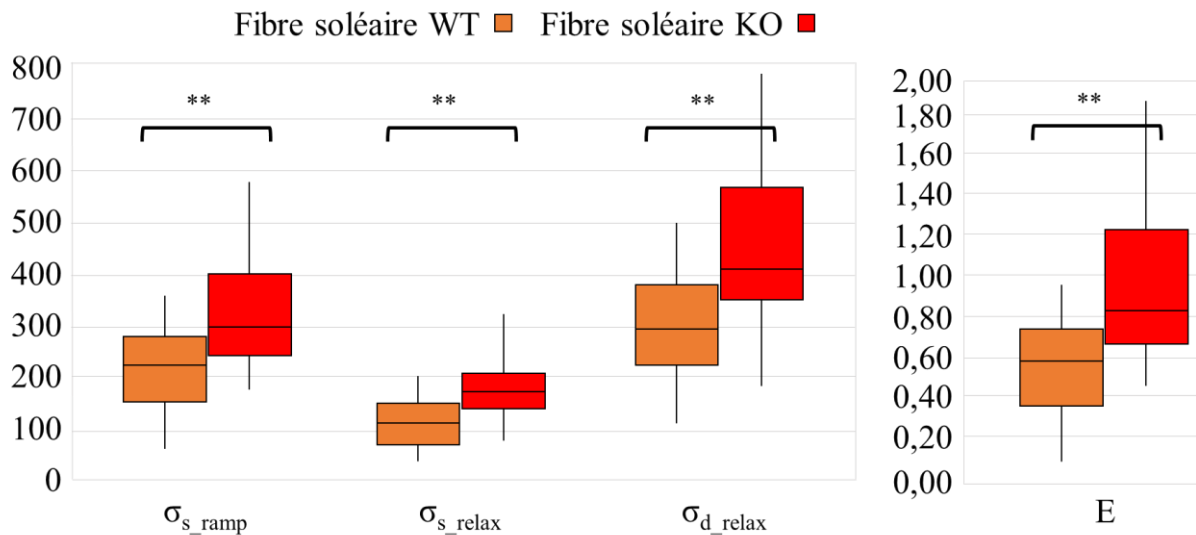
A l'échelle microscopique, les résultats répertoriés en Tableau. 6 montrent que lors des *tests d'étirement-relâchement*, la contrainte statique moyenne est significativement plus faible pour les fibres de muscle WT ($\sigma_{s_ramp} = 212,6 \pm 20,40$ kPa) que pour les fibres de muscle Klf10 KO ($\sigma_{s_ramp} = 321,3 \pm 28,00$ kPa). Une différence significative est également observable pour le module d'élasticité tangent en grandes déformations, dont la valeur moyenne est plus faible pour les fibres de muscles WT ($E = 0,60 \pm 0,06$ MPa) que pour les fibres de muscle Klf10 KO ($E = 0,97 \pm 0,10$ MPa).

On observe les mêmes tendances pour les paramètres des *tests de relaxation* où la valeur moyenne de la contrainte dynamique est significativement plus faible pour les fibres musculaires WT ($\sigma_{d_relax} = 305,6 \pm 26,10$ kPa) que pour les fibres musculaires Klf10 KO ($\sigma_{d_relax} = 444,7 \pm 40,20$ kPa). De même, la contrainte statique est significativement plus faible pour les fibres musculaires WT ($\sigma_{s_relax} = 108,9 \pm 11,00$ kPa) que pour les fibres musculaires Klf10 KO ($\sigma_{s_relax} = 174,4 \pm 15,70$ kPa).

A la différence de l'échelle macroscopique, à l'échelle des fibres musculaires, nous observons donc des différences significatives entre les propriétés mécaniques des muscles soléaires lents WT et Klf10 KO (Figure. 45).

Tableau 6: Valeurs des paramètres expérimentaux des tests de rampe et de relaxation à l'échelle microscopique, pour les fibres de muscles soléaires Klf10 KO et contrôles WT. La p-value correspond à la comparaison pour les mêmes paramètres entre les fibres de muscles soléaires Klf10 KO et contrôles WT d'un test de Mann-Whitney.

	σ_{s_ramp} (kPa)	E (MPa)	σ_{d_relax} (kPa)	σ_{s_relax} (kPa)
Soléaire WT (N = 17)	212,6 ± 20,40	0,60 ± 0,06	305,6 ± 26,10	108,9 ± 11,00
Soléaire KO (N = 16)	321,3 ± 28,00	0,97 ± 0,10	444,7 ± 40,20	174,4 ± 15,70
P-value	0,008	0,040	0,009	0,002



III.3. Propriétés mécaniques des muscles EDL WT et Klf10 KO

Les résultats sont ici reportés pour les tests d'étirement-relâchement et de rampe aux échelles macroscopique et microscopique entre les muscles EDL (muscles rapides) extraits des souris WT et Klf10 KO afin d'identifier l'influence sur les propriétés mécaniques de l'expression de Klf10 aux deux échelles considérées.

A l'échelle macroscopique, les résultats répertoriés en Tableau. 7 montrent que lors des tests d'étirement-relâchement, les contraintes statiques moyenne et module d'élasticité tangent en grandes déformations ne présentent pas de différence significative, avec néanmoins des valeurs

légèrement plus élevées pour les muscles WT ($\sigma_{s_ramp} = 193,1 \pm 14,70$ kPa et $E = 1,19 \pm 0,10$ MPa) que Klf10 KO ($\sigma_{s_ramp} = 171,0 \pm 13,90$ kPa et $E = 1,01 \pm 0,08$ MPa).

Il en va de même pour les valeurs moyennes des contraintes dynamiques et statiques des *tests de relaxation* entre les muscles EDL WT ($\sigma_{d_relax} = 295,4 \pm 18,2$ kPa, $\sigma_{s_relax} = 110,3 \pm 7,0$ kPa) que pour les muscles EDL Klf10 KO ($\sigma_{d_relax} = 269,2 \pm 17,2$ kPa, $\sigma_{s_relax} = 96,7 \pm 7,3$ kPa).

Aucune différence significative n'est de fait observé entre les propriétés mécaniques des muscles entiers EDL WT et Klf10 KO à l'échelle macroscopique (Figure. 46).

Tableau 7: Valeurs des paramètres expérimentaux des tests de rampe et relaxation à l'échelle macroscopique, pour les muscles EDL Klf10 KO et contrôles WT. La p-value correspond à la comparaison pour les mêmes paramètres entre les muscles EDL Klf10 KO et contrôles WT d'un test de Mann-Whitney.

Paramètres	σ_{s_ramp} (kPa)	E (MPa)	σ_{d_relax} (kPa)	σ_{s_relax} (kPa)
EDL WT (N = 9)	$193,1 \pm 14,70$	$1,16 \pm 0,10$	$295,4 \pm 18,20$	$110,3 \pm 7,00$
EDL KO (N = 8)	$171,0 \pm 13,90$	$1,01 \pm 0,08$	$269,2 \pm 17,20$	$96,7 \pm 7,30$
P-value	0,328	0,328	0,328	0,248

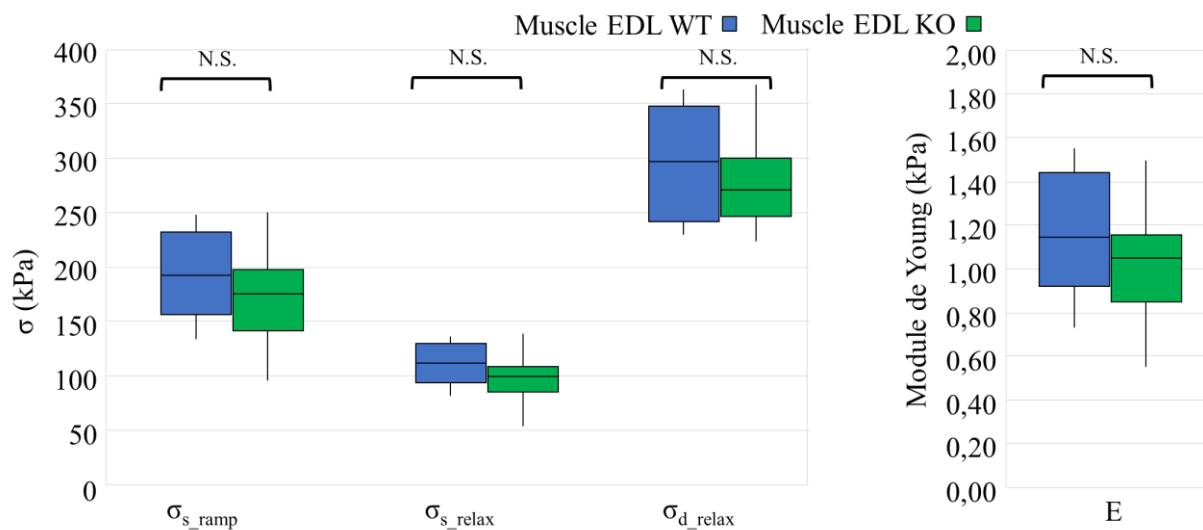


Figure. 46: Boxplot des propriétés mécaniques pour les génotypes WT (bleu) et Klf10 KO (vert) à l'échelle macroscopique pour le muscle EDL (paramètres expérimentaux des tests de rampe et de relaxation). NS: non significatif.

A l'échelle microscopique, les résultats répertoriés en Tableau. 8 montrent que, lors des *tests d'étirement-relâchement*, la contrainte statique moyenne est significativement plus élevée pour les fibres de muscle WT ($\sigma_{s_ramp} = 286,7 \pm 34,00$ kPa) que pour les fibres de muscle Klf10 KO ($\sigma_{s_ramp} = 154,3 \pm 10,80$ kPa). Une différence significative est également observable pour le module d'élasticité tangent en grandes déformations, dont la valeur moyenne est plus élevée

pour les fibres de muscle WT ($E = 0,86 \pm 0,13$ MPa) que pour les fibres de muscle Klf10 KO ($E = 0,45 \pm 0,04$ MPa).

On observe les mêmes tendances de résultats pour les paramètres des *tests de relaxation* où la valeur moyenne de la contrainte dynamique est significativement plus élevée pour les fibres musculaires WT ($\sigma_{d_relax} = 396,9 \pm 47,10$ kPa) que pour les fibres musculaires Klf10 KO ($\sigma_{d_relax} = 219,0 \pm 15,40$ kPa). De même, la contrainte statique est significativement plus élevée pour les fibres musculaires WT ($\sigma_{s_relax} = 147,8 \pm 19,90$ kPa) que pour les fibres musculaires Klf10 KO ($\sigma_{s_relax} = 81,2 \pm 5,80$ kPa).

A la différence de l'échelle macroscopique et de la même façon que nous l'avions constaté pour les muscles soléaires lents, nous observons donc des différences significatives à l'échelle des fibres musculaires entre les propriétés mécaniques des muscles EDL rapides WT et Klf10 KO (Figure. 47). Ce constat fondamental devra être pris en compte dans la modélisation multi-échelle de chacun des muscles soléaires et EDL et laisse à penser à une influence majeure de la partie complémentaires aux fibres musculaires à l'échelle microscopique, à savoir la MEC, sur la mécanique musculaire macroscopique influencée par le gène Klf10. Ces aspects seront pris en compte mais également discutés dans la suite de ce manuscrit.

Tableau 8: Valeurs des paramètres expérimentaux des tests de rampe et de relaxation à l'échelle microscopique pour les fibres de muscles EDL Klf10 KO et contrôles WT. La p-value correspond à la comparaison pour les mêmes paramètres entre les fibres des muscles EDL Klf10 KO et contrôles WT d'un test de Mann-Whitney.

	σ_{s_ramp} (kPa)	E (MPa)	σ_{d_relax} (kPa)	σ_{s_relax} (kPa)
EDL WT (N = 16)	286,7 ± 34,00	0,86 ± 0,13	396,9 ± 47,10	147,8 ± 19,90
EDL KO (N = 15)	154,3 ± 10,8	0,45 ± 0,04	219,0 ± 15,4	81,2 ± 5,80
P-value	0,001	0,004	0,002	0,011

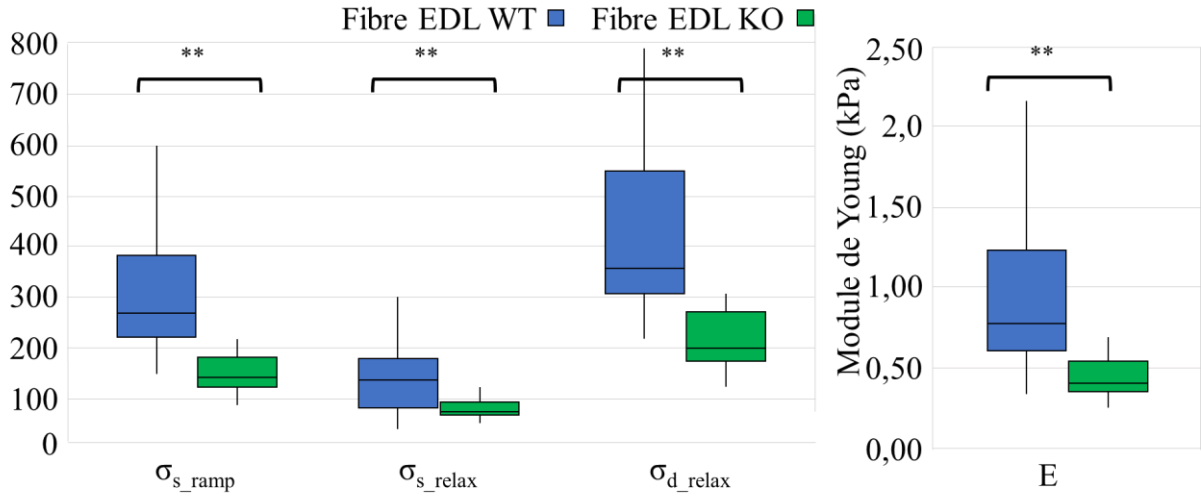


Figure. 47: Boxplot des propriétés mécaniques entre les génotypes WT (bleu) et KLF10 KO (vert) à l'échelle microscopique pour le muscle EDL issues des tests de rampe et de relaxation. **: $p < 0,01$.

III.4. Simulations numériques à l'échelle microscopique de fibres isolées

Cette section vise à reporter les résultats des identifications de paramètres et simulations numériques pour les muscles lents et rapides, que ce soit dans le cas WT ou Klf10 KO, à partir des mesures expérimentales et observations reportées ci-avant. L'identification et les simulations sont effectuées en deux temps : au niveau des fibres isolées (échelle microscopique) puis au niveau du muscle entier (échelle macroscopique, incluant de fait l'influence de la MEC et permettant l'identification de ses propriétés mécaniques).

Identification des paramètres mécaniques de la fibre

Les paramètres du modèle, identifiés sur les données expérimentales précédemment décrites en section III.2. et III.3., sont reportés dans le Tableau. 9 pour la partie mécanique fibre (c_1^f , c_2^f , c_3^f et k^f) mais également physiologiques avec les paramètres d'angles θ_f , de fraction volumique ϕ_f auxquels s'ajoute le module d'élasticité isostatique K_f . Cette identification est réalisée quatre fois, en fonction du type de muscle (soléaires vs EDL) et du génotype (WT vs Klf10 KO).

Tableau 9: Paramètres identifiés et implémentés pour les quatre types de fibres musculaires : soléaire WT, soléaire Klf10 KO, EDL WT et EDL Klf10 KO.

Fibres	c_1^f (kPa)	c_2^f (kPa)	c_3^f (kPa)	k^f (-)	θ^f (°)	ϕ^f (-)	K^f (MPa)
Fibre Sol_WT	30.03	15	3,527	0,3	90	1	500
Fibre Sol_KO	55	23,97	1	0,405	90	1	500
Fibre EDL_WT	54,5	18,22	2	0,4005	90	1	500
Fibre EDL_KO	33,44	8,801	1	0,4315	90	1	500

La comparaison entre les données expérimentales et les courbes contrainte-déformation des quatre lois identifiées pour les fibres (Figure. 48) montre une bonne adéquation, avec des coefficients R^2 systématiquement supérieurs à 0,99 ($R^2 = 0,997$ pour les fibres soléaires WT, $R^2 = 0,995$ pour les fibres soléaires Klf10 KO, $R^2 = 0,994$ pour les fibres EDL WT, $R^2 = 0,996$ pour les fibres EDL Klf10 KO).

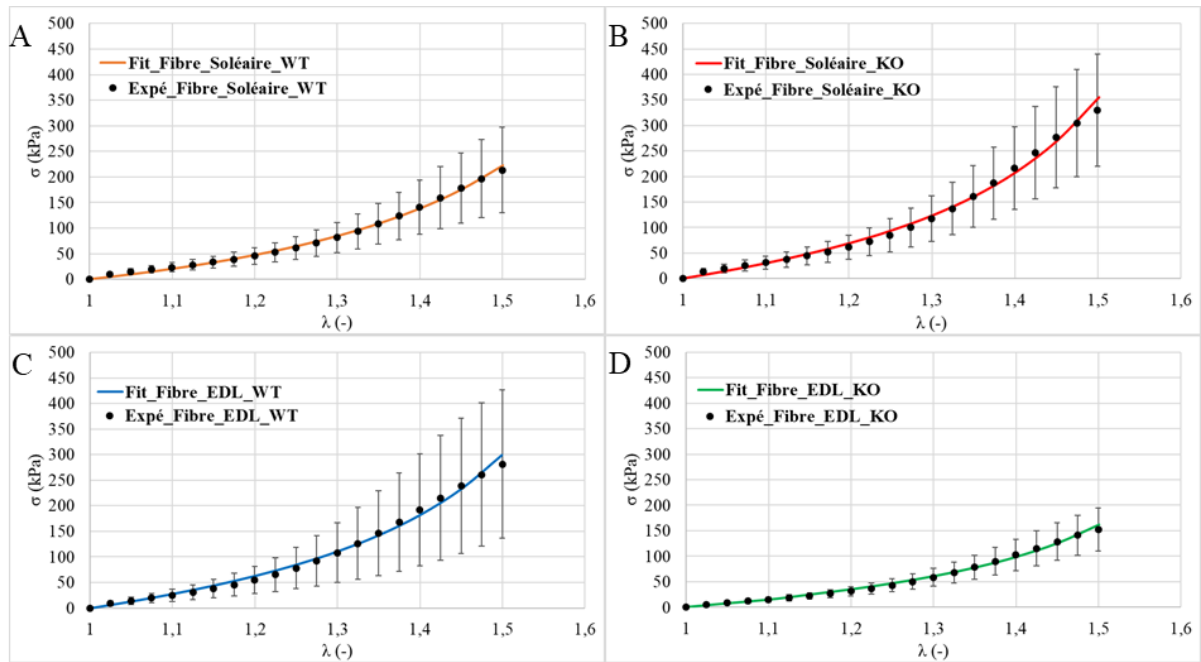


Figure. 48: Comparaison entre les courbes contrainte-déformation identifiées et expérimentales (section II.5) sur fibres isolées. A: soléaire WT, $R^2 = 0,997$; B: soléaire Klf10 KO, $R^2 = 0,995$; C: EDL WT, $R^2 = 0,994$; D: EDL Klf10 KO, $R^2 = 0,996$.

On peut noter que, pour les quatre types de fibre, les valeurs de contraintes obtenues expérimentalement entre 15 et 30% d'élongation, et entre 45 et 50% sont systématiquement légèrement surestimées, tandis qu'entre 35 et 40% d'élongation elles sont à l'inverse systématiquement légèrement sous estimées. On remarque cependant que les contraintes obtenues par identification restent largement dans l'intervalle des écart-types pour les quatre types de fibres musculaires.

Simulations numériques du comportement des fibres musculaires

Les courbes présentées en Figure. 49 sont obtenues après implémentation des paramètres des quatre modèles de fibres musculaires isolées, répertoriés en Tableau. 9 et implémentés dans le modèle cylindrique sous CodeAster. La comparaison entre les données expérimentales et numériques montre de très bonnes similitudes, avec des valeurs de R^2 systématiquement supérieures à 0,99 ($R^2 = 0,996$ pour les fibres soléaires WT ; $R^2 = 0,994$ pour les fibres soléaires Klf10 KO ; $R^2 = 0,994$ pour les fibres EDL WT ; $R^2 = 0,993$ pour les fibres EDL Klf10 KO). On peut noter que, pour les quatre types de fibre, les courbes de contraintes simulées suivent les mêmes tendances que celles obtenues expérimentalement, avec des contraintes légèrement surestimées entre 10 et 30% d'élongation, et légèrement sous estimées en très grandes déformations entre 45 et 50% d'élongation.

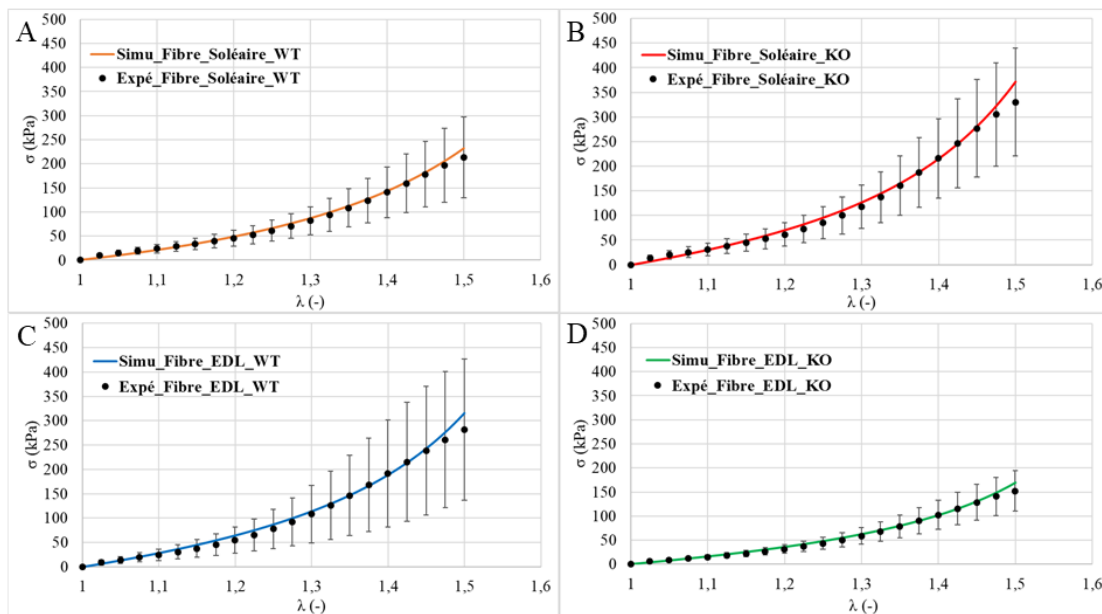


Figure. 49: Courbes de comparaison entre les courbes de simulations numériques avec les données expérimentales sur fibres isolées. A: soléaire WT, $R^2 = 0,996$; B: soléaire Klf10 KO, $R^2 = 0,994$; C: EDL WT, $R^2 = 0,994$; D: EDL Klf10 KO, $R^2 = 0,993$.

III.5. Simulations numériques multi-échelles du muscle squelettique

Identification des paramètres mécaniques multi-échelle des muscles entiers

Les paramètres du modèle pour l'intégralité du muscle, donc plus spécifiquement pour la partie MEC (c_1^m , c_2^m , c_3^m et k^m) décrits précédemment en section II.6, les paramètres d'angle θ^m , de fraction volumique ϕ^m , de module d'élasticité isostatique K^m et les paramètres déjà identifiés et fixés des fibres sont répertoriés pour les muscles soléaires WT, soléaire Klf10 KO, EDL WT et EDL Klf10 KO en Tableau. 10.

Tableau 10: Paramètres identifiés et implémentés des parties fibres et MEC du modèle, pour les quatre types de muscles : soléaire WT, soléaire Klf10 KO, EDL WT, EDL Klf10 KO.

Fibres	c_1^f (kPa)	c_2^f (kPa)	c_3^f (kPa)	k^f (-)	θ^f (°)	ϕ^f (-)	K^f (MPa)
Fibre Sol_WT	30.03	15	3,527	0,3	90	0,9	500
Fibre Sol_KO	55	23,97	1	0,405	90	0,9	500
Fibre EDL_WT	54,5	18,22	2	0,4005	90	0,9	500
Fibre EDL_KO	33,44	8,801	1	0,4315	90	0,9	500
Matrice	c_1^m (kPa)	c_2^m (kPa)	c_3^m (kPa)	k^m (-)	$\theta_{1,2}^m$ (°)	ϕ^m (-)	K^m (MPa)
Matrice Sol_WT	324,4	387,5	1	15	± 55	0,1	500
Matrice Sol_KO	121,1	296,3	2	17	± 55	0,1	500
Matrice EDL_WT	13.32	134,1	1	22	± 55	0,1	500
Matrice EDL_KO	113,2	223,4	1	16	± 55	0,1	500

La comparaison entre les données expérimentales et les courbes de la loi identifiée avec parties fibres musculaires et MEC (Figure. 50) montre de bonnes similitudes avec des valeurs de coefficient R^2 systématiquement supérieures à 0,95 ($R^2 = 0,982$ pour les muscles soléaires WT, $R^2 = 0,980$ pour les muscles soléaires Klf10 KO, $R^2 = 0,974$ pour les muscles EDL WT et $R^2 = 0,982$ pour les muscles EDL KO).

On peut noter que si le comportement en grandes déformations (supérieur à 15% d'élongation) est bien ajusté, la contrainte des lois identifiées est légèrement surestimée en petites déformations (inférieure à 15% d'élongation) par rapport aux données expérimentales. Les courbes des contraintes obtenues par identification restent cependant dans les intervalles d'écart-types des données expérimentales pour les quatre types de muscles en grandes déformations.

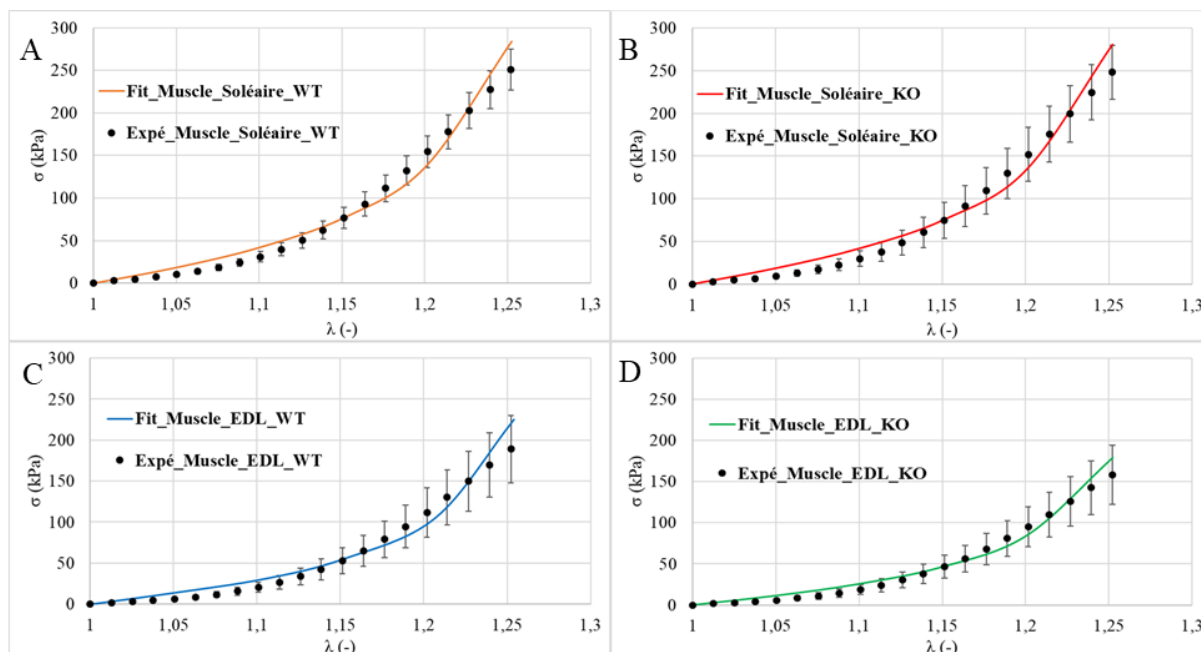


Figure. 50: Courbes de comparaison entre les courbes d'identification des paramètres de la loi de comportement (section II.5) avec les données expérimentales sur muscles complets (section II.2). A: soléaire WT, $R^2 = 0,982$; B: soléaire Klf10 KO, $R^2 = 0,980$; C: EDL WT, $R^2 = 0,974$; D: EDL Klf10 KO, $R^2 = 0,982$.

Simulations numériques multi-échelle du comportement des muscles entiers

Les comparaisons des courbes contrainte-déformation avec les données expérimentales et les courbes obtenues par simulation numérique (Figure. 51) des muscles présentent de bonnes corrélations avec des R^2 systématiquement supérieurs à 0,95 ($R^2 = 0,988$ pour les muscles soléaires WT, $R^2 = 0,980$ pour les muscles soléaires Klf10 KO, $R^2 = 0,982$ pour les muscles EDL WT, $R^2 = 0,985$ pour les muscles EDL Klf10 KO). Pour les quatre types de muscles, les contraintes simulées sont légèrement surestimées par rapport aux courbes expérimentales en petites déformations (inférieures à 15% d'élongation) et sous estimées en grandes déformations (supérieures à 15% d'élongation). La section suivante vise à tester l'importance des paramètres physiologiques du modèle lors de la simulation numérique du comportement mécanique pour les quatre types de muscle et à les ajuster afin de réduire ces écarts numériques / expérimentaux constatés.

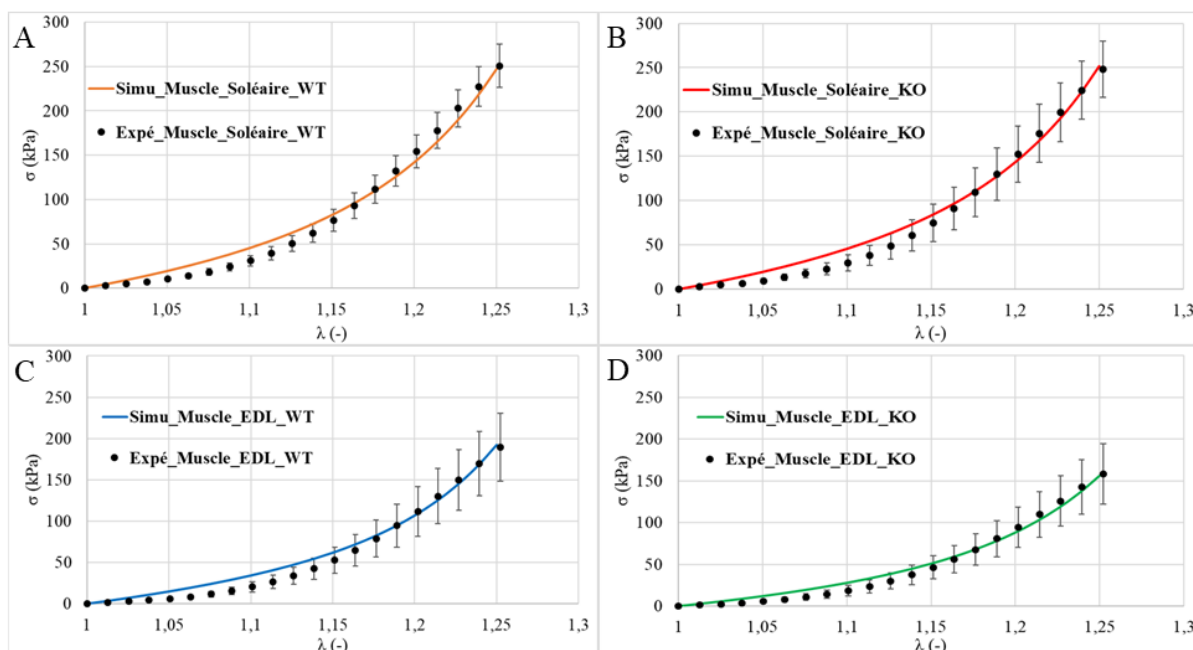


Figure. 51: Courbes de contraintes déformations issues des simulations numériques, et comparaison avec les données expérimentales sur muscles isolés. A: soléaire WT, $R^2 = 0,988$; B: soléaire Klf10 KO, $R^2 = 0,980$; C: EDL WT, $R^2 = 0,982$; D: EDL Klf10 KO, $R^2 = 0,985$.

III.6. Influence des paramètres physiologiques sur les simulations numériques multi-échelles

L'objectif de cette section est de mettre en place une étude paramétrique afin de tester l'influence des paramètres physiologiques du modèle. Il s'agira alors d'ajuster ces paramètres en fonction de la réponse du modèle numérique afin d'optimiser sa réponse, sans modification des propriétés mécaniques précédemment identifiées pour les éléments fibres musculaires et MEC. Il s'agit ensuite de vérifier et de commenter les valeurs ajustées des paramètres physiologiques du modèle en regard de la littérature.

Les **paramètres relatifs aux orientations préférentielles des fibres de collagène de la MEC** (angles θ_1 et θ_2) sont testés sur des plages de valeurs allant respectivement de 50° à 60° et -60° à -50° . Une augmentation de la valeur de l'angle préférentiel des fibres de collagène dans la MEC (Figure. 52) entraîne une augmentation des valeurs de contraintes obtenues pour les simulations numériques pour les quatre types de muscles, avec une augmentation moyenne de près de 280% pour 10° de variation d'angle. Ce paramètre a une très forte influence et doit être ajusté avec soin par rapport aux données expérimentales. La réponse numérique la plus proche pour l'ensemble des muscles est obtenue lorsque le paramètre θ^m est fixé à 55° , soit sa valeur initiale lors de l'ajustement des paramètres du modèle décrit en section II.6.

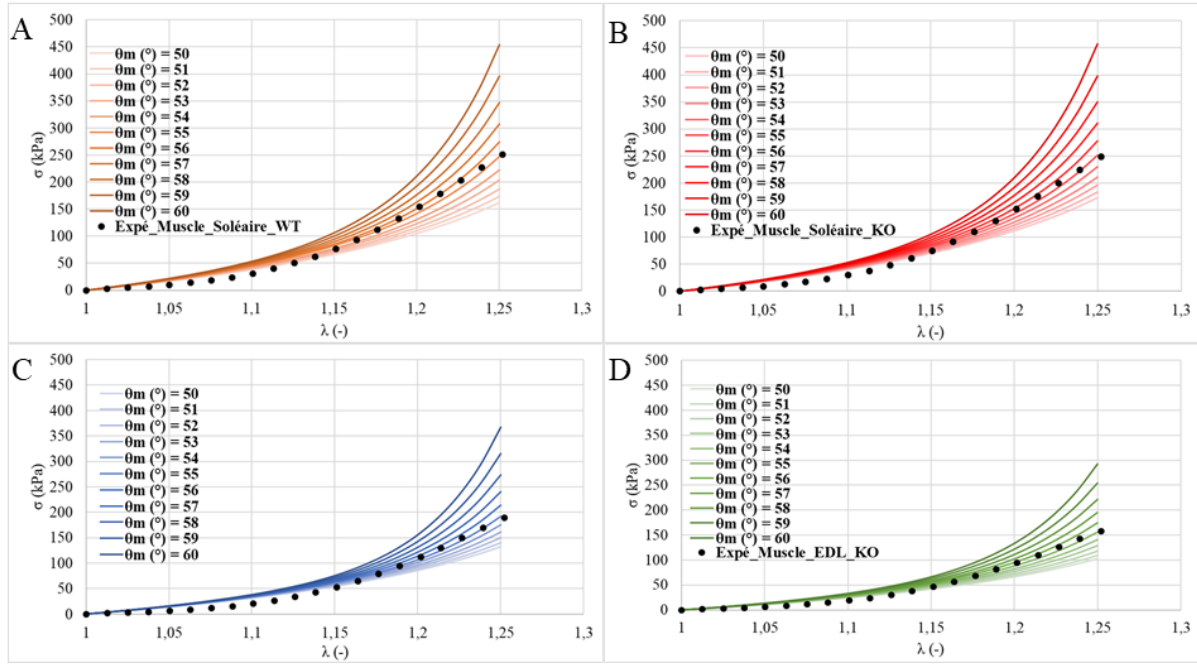


Figure. 52: Analyse de l'influence du paramètre d'angle préférentiel des fibres de collagène de la MEC (θ_m) pour des valeurs allant de $\pm 50^\circ$ à $\pm 60^\circ$, sur les résultats de simulation numérique du comportement du muscle. A : soléaire WT ; B : soléaire Klf10 KO ; C : EDL WT ; D : EDL Klf10 KO.

Concernant le paramètre d'angle des fibres musculaires θ^f testé entre 90° et 100° , (Figure. 53), il n'entraîne pas de variation de la contrainte de simulation numérique dans la plage de valeurs testées, à la différence des fibres de collagène de la MEC. Ainsi les valeurs finales de ce paramètre sont conservées à 90° afin de garder l'orientation longitudinale des fibres musculaires par rapport à celle du muscle. Cela tend en outre à confirmer que, si l'alignement expérimental lors des tests en traction n'avait pas été exactement réalisé et qu'une faible erreur sur l'angle avait subsisté, cela n'aurait été que de peu d'effet sur les résultats expérimentaux et numériques ici discutés.

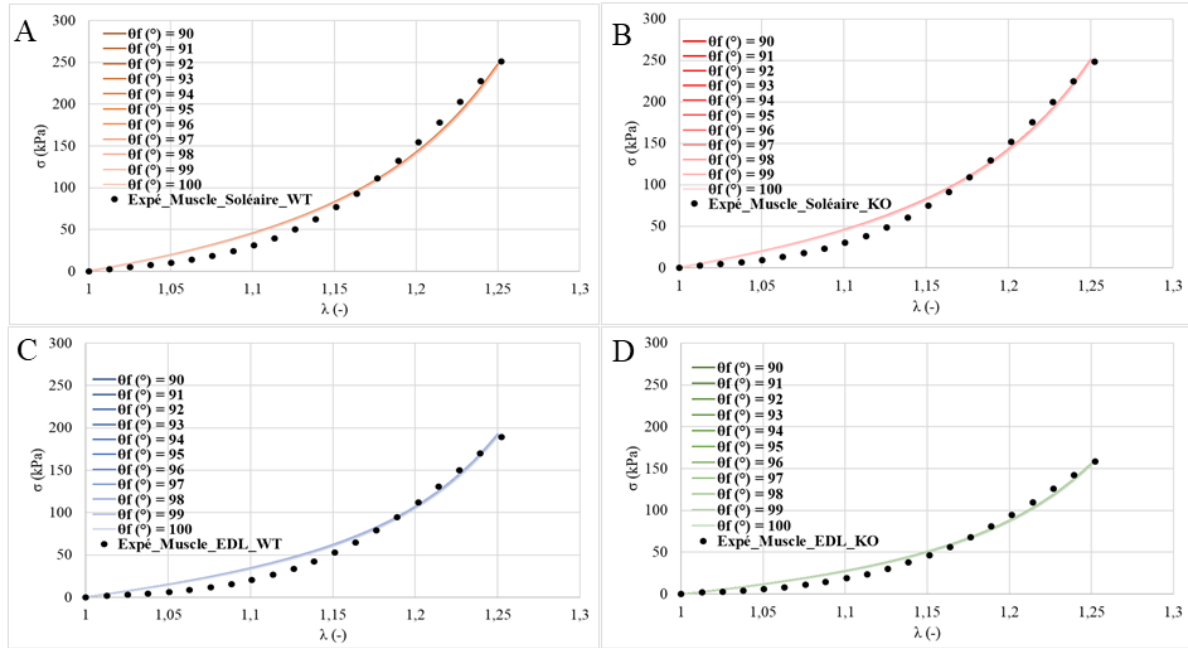


Figure. 53: Analyse de l'influence du paramètre d'angle préférentiel des fibres musculaires (θ_f) pour des valeurs allant de 0° à 100° , sur les résultats de simulation numérique du comportement du muscle. A : soléaire WT ; B : soléaire Klf10 KO ; C : EDL WT ; D : EDL Klf10 KO.

La **fraction volumique de fibres ϕ^f** est testée entre 90% et 99%. Les contraintes obtenues simulées montrent une diminution lorsque la fraction volumique des fibres (Figure. 54) augmente et que celle de la MEC diminue, avec une diminution moyenne de près de 50% pour 0,1 de variation. Ceci illustre parfaitement l'importance de fixer ce paramètre avec soin, ayant une forte influence sur la réponse mécanique du muscle. Compte tenu du fait que la fraction volumique de fibre dans un muscle est connue pour être comprise entre 0,90 et 0,99 (Kjaer, 2004; Spyrou *et al.*, 2019) et que la contrainte de simulation diminue à mesure que la fraction volumique augmente, la valeur retenue pour ce paramètre est de 0,90 pour les quatre types de muscles afin de correspondre au mieux à nos résultats expérimentaux.

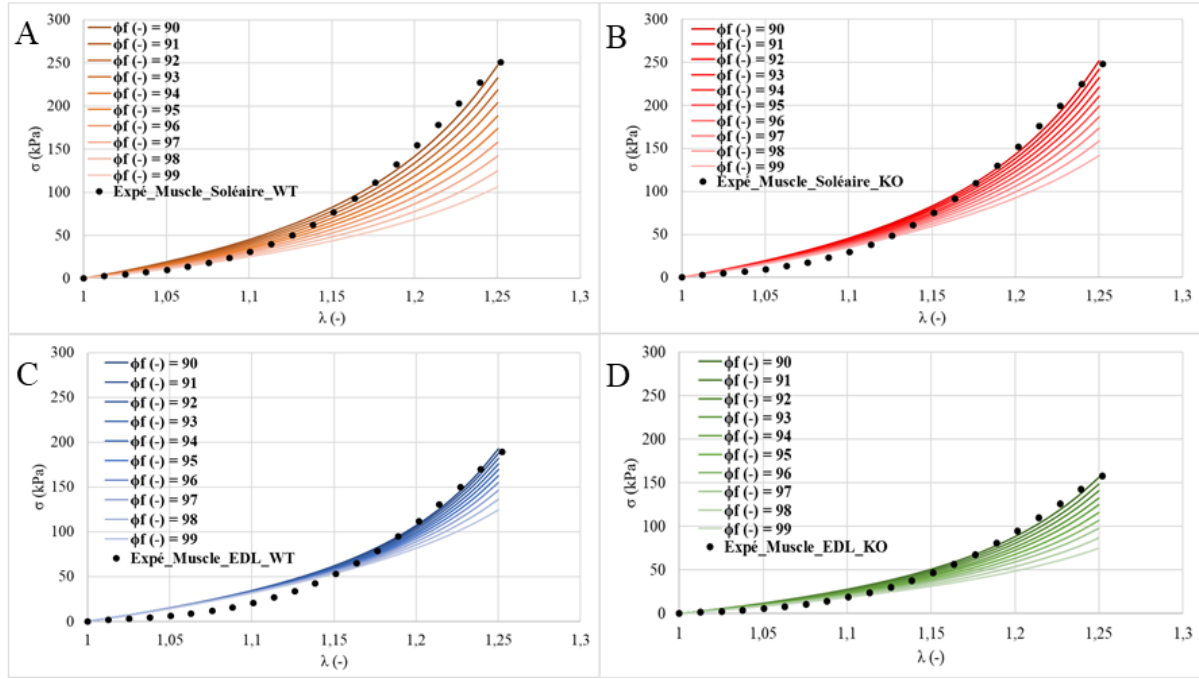


Figure. 54: Analyse de l'influence du paramètre de fraction volumiques des fibres ϕ_f et de la MEC ϕ_m pour des valeurs allant de 0,9 à 0,99 pour les fibres et 0,1 à 0,01 pour la MEC, sur les résultats de simulations numériques du comportement du muscle. A : soléaire WT ; B : soléaire Klif10 KO ; C : EDL WT ; D : EDL Klif10 KO.

Les **modules d'élasticité isostatique pour la fibre K^f et pour la MEC K^m** sont testés sur des plages de données allant de 50 kPa à 500 MPa. Leur variation n'entraîne pas de variation de la contrainte de simulation numérique dans la plage de valeurs testées (Figure. 55). Ceci est attendu compte-tenu des ordres de grandeur de K^f et K^m bien supérieurs à ceux des paramètres élastiques du modèle. Ceci confirme bien l'incompressibilité supposée du muscle squelettique. Les valeurs finales pour ces paramètres sont ainsi fixées à 500 MPa pour la partie fibre et pour la partie MEC afin de s'approcher le plus possible de l'incompressibilité des muscles lors des simulations numériques, dans les limites acceptables par le code de simulations éléments finis.

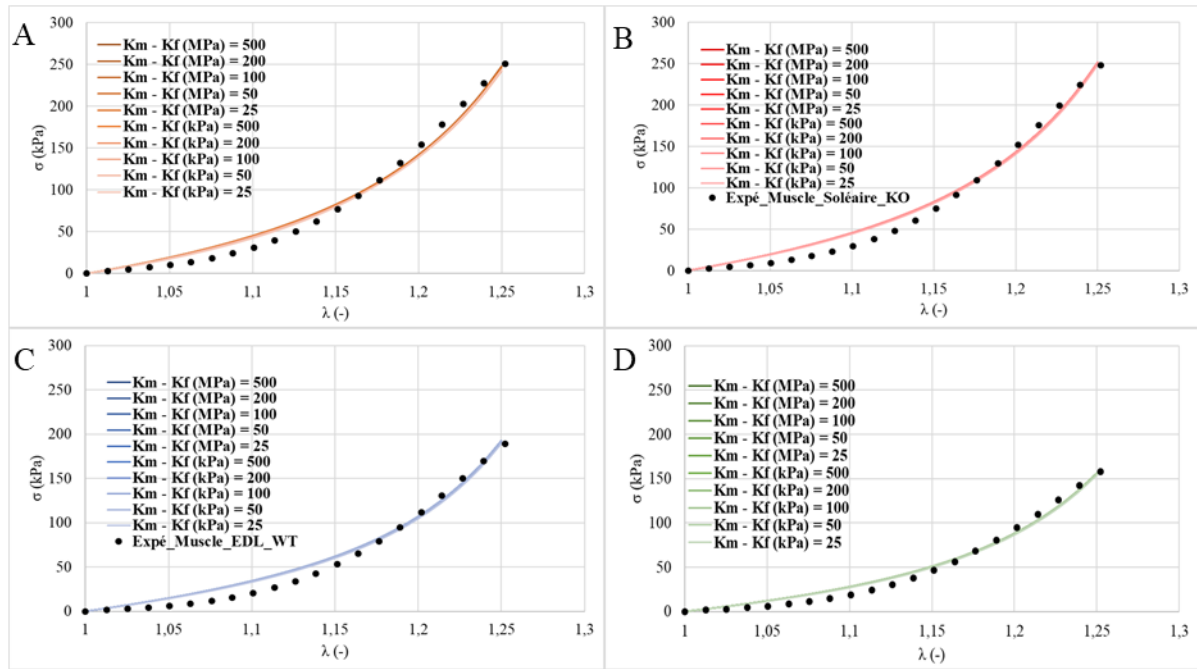


Figure. 55: Analyse de l'influence du paramètre d'incompressibilité des fibres Kf et de la MEC Km pour des valeurs allant de 25 kPa à 500 MPa pour les fibres et 25 kPa à 500 MPa pour la MEC, sur les résultats de simulations numériques du comportement du muscle. A : soléaire WT ; B : soléaire Klf10 KO ; C : EDL WT ; D : EDL Klf10 KO.

Au vu des résultats obtenus lors de cette étude paramétrique, les paramètres physiologiques des parties fibres musculaires et MEC sont conservés à leur valeur initialisée lors de l'identification des paramètres mécaniques du modèle. Cet ensemble de paramètres permettent d'obtenir de bonnes corrélations entre les simulations numériques et les données expérimentales obtenues, aussi bien à l'échelle microscopique de la fibre, qu'à l'échelle macroscopique du muscle entier.

IV. Discussions et perspectives

La modélisation par éléments finis est un moyen efficace de décrire le comportement mécanique du muscle à travers ses différentes échelles (Wheatley *et al.*, 2016; Wheatley *et al.*, 2017; Healey *et al.*, 2017). Ce type de modélisation se base sur une loi constitutive intégrant des paramètres multi-échelle (comportement mécanique des échelles inférieures, architectures microscopique et macroscopique, présence de fibres lentes et rapides, *etc.*) (May-Newman et McCulloch, 1998; Röhrle *et al.*, 2012; Spyrou *et al.*, 2017, 2019). Le comportement macroscopique du muscle est ainsi prédit par des méthodes de changement d'échelles complexes permettant de rendre compte de l'interaction entre les composants. Cependant, le lien entre les propriétés mécaniques aux échelles de la fibre/MEC et du muscle reste encore peu exploré. La principale raison de ce constat est le manque de données expérimentales anatomiques, morphologiques et fonctionnelles aux différentes échelles du muscle spécifiquement acquises et adaptées pour le développement et la validation de ce type de modèle multi-échelle. L'établissement de ce lien entre caractérisations expérimentales spécifiques aux différentes échelles et modélisation numérique multi-échelle est crucial non seulement pour l'étude du fonctionnement d'un muscle sain, mais plus encore dans le cas d'une pathologie ou d'un dysfonctionnement impactant différentes échelles de l'organe, comme pour le cas de l'influence du gène *Klf10*. Plus encore, cette démarche originale mise en œuvre lors de mon travail de thèse est tout à fait pertinente et exportable pour l'étude d'un grand nombre d'organes et de pathologies associées.

Dans l'objectif du développement de notre modèle multi-échelle, nous avons tout d'abord cherché à caractériser biomécaniquement différentes échelles du muscle squelettique, ainsi qu'explorer comment ces propriétés mécaniques peuvent traduire des phénomènes physiologiques sur des muscles sains, lents ou rapides, de souris issues de lignées génétiques maîtrisées.

Lors de la caractérisation mécanique des muscles complets, les premiers résultats ont montré des différences de propriétés mécaniques entre muscles similaires de souris saines mais de lignées génétiques et provenances différentes. C'est-à-dire que les propriétés mécaniques des muscles soléaires WT (ou de muscle EDL WT) en provenance de la lignée *Klf10* élevée au CDTA et en provenance d'une lignée directement achetée à la compagnie "Janvier Labs" avaient le même comportement mécanique avec des ordres de grandeurs différents, dénotant

des fonctionnements similaires mais des performances différentes. Ces résultats, à notre connaissance inédits à ce jour, montrent l'importance d'utiliser une seule et même lignée génétique pour l'étude de génotypes différents, comme dans notre cas la lignée provenant du CDTA tant pour les souris WT et les souris Klf10 KO. Cette observation est fondamentale car, si elle n'est pas prise en compte, elle est susceptible de remettre en cause une large partie des résultats obtenus.

Forts de cette garantie, les résultats des expérimentations sur des muscles Klf10 KO ont permis d'observer spécifiquement l'impact de ce gène sur les propriétés mécaniques du muscle squelettique en fonction de son type (lent ou rapide). Les résultats n'ont montré aucun effet du gène Klf10 à l'échelle macroscopique, et ce quel que soit le type de muscle. A l'inverse, un impact très significatif sur les propriétés mécaniques est observé à l'échelle microscopique au niveau des fibres musculaires isolées. Ce résultat est fondamental, car il dénote que des mécanismes complémentaires que l'on pourrait qualifier de « compensatoires » sont mis en œuvre à l'échelle microscopique (et potentiellement aux échelles inférieures), donc tout particulièrement au niveau de la MEC. C'est cette observation majeure, jamais évoquée d'un point de vue mécanique, qui est à l'origine de la démarche de modélisation numérique ici mise en œuvre afin de caractériser la MEC dont les propriétés fonctionnelles restent inabordables d'un point de vue mécanique.

En complément des résultats expérimentaux présentés dans le cadre de cette thèse aux échelles macroscopiques et microscopiques, l'étude d'une troisième échelle inférieure et submicroscopique du muscle, représentée par la myofibrille, est réalisée et en cours de publication en collaboration avec une équipe canadienne (*Human Performance Lab, Faculty of Kinesiology, University of Calgary, Canada*) pour mieux comprendre le mécanisme du gène Klf10 à l'origine des modifications du comportement mécanique aux différentes échelles. Les résultats en traction ont montré des comportements mécaniques similaires entre les myofibrilles extraites de fibres Klf10 KO et WT, prélevées sur des muscles soléaires et EDL. Puisque la principale provenance des propriétés mécaniques passives de la myofibrille provient de la protéine géante composant le filament de titine, une analyse complémentaire sur les poids moléculaires des isoformes de titine présentes dans les muscles contrôles et Klf10 KO est réalisée. Les résultats ont montré qu'il n'y avait pas de différences d'isoforme de titine entre les myofilaments Klf10 KO et WT (Pouletaut *et al.*, 2021). Ces résultats permettent de conclure que les modifications des propriétés passives observées à l'échelle de la fibre ne proviennent pas des structures à l'intérieur des sarcomères. De ce fait, les modifications de la force passive observées à l'échelle du muscle et de la fibre chez les souris Klf10 KO ne sont pas causées par

les structures composant les sarcomères, mais bien par des structures extra sarcomériques, comme la MEC, principalement composée de collagène.

Ces aspects vont ainsi dans le même sens que nos observations sur l'importance de l'investigation de la MEC pour l'étude de l'impact du gène *Klf10*. Ceci rejoint également des observations présentes dans la littérature, comme notamment la perte d'expression de *Klf10* entraînant une modification du réseau de collagène dans le tissu tendineux (Gumez *et al.*, 2010; Doucet *et al.*, 2011) ou le fait que la MEC a un effet important sur les propriétés mécaniques passives du muscle (Rowe *et al.*, 2010).

Concernant les caractérisations expérimentales des muscles soléaires et EDL contrôles, nous avons constaté des différences de propriétés mécaniques entre les échelles microscopiques et macroscopiques pour chaque muscle, probablement dues à leurs compositions différentes en collagène matriciel. Une des prochaines étapes intéressantes pour améliorer notre compréhension des comportements mécaniques du muscle serait de quantifier la teneur en hydroxyproline (Brashear *et al.*, 2021) (marqueur de la présence de collagène) et l'architecture des fibres de collagène dans la MEC à l'aide de techniques d'imagerie par microscopie (Gillies *et al.*, 2017; Sanden *et al.*, 2021). Cela permettrait d'identifier d'éventuelles variations et, auquel cas, de les corrélérer aux propriétés mécaniques passives. La caractérisation d'une autre échelle, celle des fascicules (échelle mésoscopique), serait également intéressante à étudier, cependant aucune technique n'a encore été établie et validée à ce jour (Meyer et Lieber, 2011). Comme les fascicules musculaires, composés de fibres musculaires, sont eux aussi entourés de pérимыsium, il est probable que ces tissus conjonctifs contribuent aux propriétés mécaniques du muscle entier. Précédemment il a été démontré que la perte de l'expression du gène *Klf10* entraînait une modification du réseau de collagène (Gumez *et al.*, 2010; Doucet *et al.*, 2011). Dans ce manuscrit, l'échelle macroscopique est caractérisée par des essais mécaniques *in vitro*. Récemment, des techniques d'imagerie non invasives telles que les méthodes d'élastographie (Kammoun *et al.*, 2019) permettent de caractériser les propriétés mécaniques du muscle en condition *in vivo* ; l'élastographie ultrasonore par ondes de cisaillement réalisée sur des souris *Klf10* KO a permis de mesurer les propriétés mécaniques passives d'un groupe de muscles (Ternifi *et al.*, 2019 ; Kammoun *et al.*, 2019). Les résultats de cette étude ont révélé des propriétés mécaniques passives similaires entre les muscles des pattes postérieures de souris contrôles et *Klf10* KO, malgré le fait que des différences significatives aient été identifiées avec des techniques *in vitro*. Les techniques d'imagerie non invasives restent des outils prometteurs dans l'évaluation des propriétés mécaniques à l'échelle macroscopique, mais ne permettent pas encore à l'heure actuelle une caractérisation mécanique aux différentes échelles du muscle.

Dans le cadre de ce travail, une modélisation multi-échelle du comportement mécanique du muscle squelettique est développée et identifiée à partir des tests mécaniques expérimentaux réalisés spécifiquement aux différentes échelles : macroscopique pour le muscle, et microscopique pour les fibres musculaires. Le muscle est considéré ici comme un matériau passif, n'exprimant pas de comportement contractile actif comme décrit en section II.5. Ceci constitue une des premières limites à ce modèle. Ce choix est fait afin de nous appuyer sur nos propres données expérimentales exclusivement passives aux différentes échelles. L'acquisition de ces paramètres sur muscles soléaires et EDL d'animaux WT et Klf10 KO a permis d'utiliser notre modèle sur différents types de muscles, lents et rapides, aussi bien en modèle sain (WT) que modèle pathologique (Klf10 KO), à partir de géométries simplifiées pour modéliser numériquement le muscle de façon multi-échelle. Le muscle est considéré comme un matériau composite renforcé de fibres et incompressible, dissociant la MEC, composée de fibre de collagène, des fibres musculaires. Les paramètres physiologiques structuraux, tels que les fractions volumiques et les orientations préférentielles des différentes fibres musculaires et fibres collagéniques sont pris en compte pour l'expression des comportements anisotropes aux différentes échelles. L'acquisition des paramètres de la partie fibre à partir des tests expérimentaux sur fibres isolées, puis des paramètres de la MEC à partir des tests expérimentaux sur muscles isolés ont permis de pallier à la difficulté de tester expérimentalement la MEC, et non seulement d'émettre des hypothèses sur son importance dans le comportement mécanique du muscle et dans l'expression de Klf10, mais également de déterminer les paramètres physiologiques impactés aux différentes échelles comme détaillé par la suite.

Les simulations à l'échelle des fibres ont montré de bonnes concordances avec les données expérimentales, et ce pour les quatre types de fibres (soléaire et EDL, WT et Klf10 KO) étudiés, nous permettant d'aller plus loin dans la modélisation du muscle.

L'analyse de l'influence des paramètres physiologiques du muscle (fractions volumiques, orientations préférentielles et incompressibilité) ont montré que les angles d'inclinaison des fibres de collagène θ_1 et θ_2 de la MEC est le facteur ayant le plus d'impact sur le comportement mécanique global du muscle. La contrainte numérique enregistrée augmente à mesure que la valeur de l'angle augmente. De même, l'étude de la fraction volumique des fibres musculaires a montré une diminution de la contrainte numérique à mesure que la valeur de la fraction volumique augmente. Ces résultats ont permis d'ajuster les comportements numériques par rapport aux résultats expérimentaux et d'obtenir des comportements numériques très similaires

aux données expérimentales pour l'ensemble des muscles. Avec ces nouvelles valeurs, les simulations ont montré de bonnes similitudes avec les données expérimentales pour les muscles soléaires Klf10 KO ($R^2 = 0,9373$) et EDL WT ($R^2 = 0,9204$) et légèrement moindres pour les muscles soléaires WT ($R^2 = 0,7079$) et EDL Klf10 KO ($R^2 = 0,8435$). On retrouve les mêmes tendances qu'à l'échelle microscopique, à savoir une contrainte de simulation légèrement surestimée en petites déformations ($<15\%$ d'élongation) et légèrement sous-estimées en grandes déformations ($>15\%$ d'élongation).

Dans le cadre de cette thèse, à l'instar d'autres modèles proposés dans la littérature (Lamsfuss et Bargmann, 2021), le modèle n'est testé qu'en conditions de traction uniaxiale sans prise en compte ni extrapolation du comportement en cisaillement. Pour ce faire, d'autres méthodes sont nécessaires, comme par exemple l'homogénéisation. L'avantage de cette approche serait de prendre en compte des géométries réalistes et basées sur des imageries multiphysiques pour la mise en place de volumes élémentaires représentatifs, ainsi que de permettre la modélisation sur plus d'échelles que les deux proposées ici.

Plusieurs perspectives sont envisageables au travail de couplage expérimentations/modélisation multi-échelle mené dans le cadre de cette thèse.

Des études ont montré que la vitesse de déformation à laquelle est soumis le muscle impactait ses propriétés mécaniques, exprimant un comportement viscoélastique (Myers *et al.*, 1995, 1998). De nombreux modèles de la littérature représentent le muscle comme un matériau viscoélastique (Hedenstierna et Halldin, 2008) ou encore visco-hyperélastique (Lu *et al.*, 2010). Cependant, il n'existe à notre connaissance aucun modèle multi-échelle intégrant une composante visqueuse dans le comportement musculaire, ce qui reste une piste d'amélioration du modèle.

D'autre part, l'étude de la MEC permettrait d'obtenir plus de paramètres morphologiques et fonctionnels, plus particulièrement des fibres de collagène qui la composent. Leur intégration dans notre modèle multi-échelle permettrait, comme c'est le cas pour le modèle de Bleiler (Bleiler *et al.*, 2019) avec une prise en compte de l'architecture du collagène, d'inclure une nouvelle échelle, en séparant le comportement des fibres de collagène de celui de la matrice de protéoglycane qui les englobe.

En plus de son comportement passif, le muscle squelettique exprime un comportement actif de par sa fonction contractile non prise en compte dans notre modèle. De nombreux modèles dans la littérature proposent une composante active dans le comportement électromécanique des fibres musculaires (Heidlauf et Röhrle, 2013; Spyrou *et al.*, 2017; Spyrou *et al.*, 2019; Zhang

et al., 2020). Les expérimentations en cours sur la caractérisation du comportement actif du muscle permettraient l'identification puis l'intégration d'une composante biophysique du muscle pour sa modélisation mécanique en contraction.

La principale piste d'amélioration réside dans le développement d'une méthode d'homogénéisation pour le passage entre les différentes échelles prises en compte, comme certains auteurs ont pu le proposer récemment (May-Newman et McCulloch, 1998; Röhrle *et al.*, 2012; Spyrou *et al.*, 2017; Spyrou *et al.*, 2019). En ce sens, l'approximation de Voigt a récemment montré des résultats prometteurs pour la modélisation du muscle squelettique multi-échelles (Spyrou *et al.*, 2017; Bleiler *et al.*, 2019) et représenterait une étape intéressante avant l'intégration d'une méthode d'homogénéisation plus complexe comme celle développée par López Jiménez (López Jiménez, 2014) utilisée en 2019 pour l'étude multi-échelle du muscle (Spyrou *et al.*, 2019). L'avantage de mettre en place une approche par homogénéisation à partir des expérimentations ici décrites serait de prendre en compte des géométries réalistes et basées sur des imageries multiphysiques pour la mise en place de volumes élémentaires représentatifs. Une démarche d'homogénéisation permettrait également la modélisation sur plus d'échelles que les deux proposées ici. Les études réalisées à l'échelle submicroscopique des myofilaments permettraient l'intégration de leurs propriétés mécaniques dans le modèle afin de modéliser le muscle sur trois échelles : macroscopique (muscle), microscopique (fibres et MEC) et submicroscopique (myofilaments), de même, l'intégration numérique de l'échelle des fascicules musculaires reste envisageable, à l'instar du modèle de Virgilio *et al.*, (Virgilio *et al.*, 2015) et pourrait apporter une véritable information complémentaire, à la fois sur la compréhension de la mécanique musculaire, mais également sur l'implication du gène Klf10.

Conclusions

Nous venons de le voir, notre travail représente la première étape d'études expérimentales et numériques ambitieuses qui permettront de répondre aux questions concernant les impacts des propriétés mécaniques aux échelles microscopique et submicroscopique sur le comportement macroscopique globale du muscle. Ces études permettront de définir dans quelle mesure il est possible de lier ses différents niveaux de comportement pour prédire le comportement mécanique du muscle, qu'il s'agisse du muscle sain ou atteint de la déficience du gène Klf10. Cette étude fournit des données de référence à la littérature musculaire multi-échelle, pour deux types de muscles provenant du même modèle animal sain et pathologique.

Les os et les tendons ont montré une capacité d'adaptation de leurs propriétés mécaniques lorsque les muscles changeaient de fonction, notamment dans les cas de désarticulation, de vieillissement ou d'un arrêt de l'activité physique. Une telle adaptation a également lieu aux différents niveaux structurels du muscle comme le montrent les données présentées ici, permettant de mieux comprendre les effets du gène Klf10, ainsi que les mécanismes (soit les interactions et l'influence) par lesquels ces adaptations sont initiées. Ces connaissances peuvent être utilisées dans les modèles par éléments finis intégrant une loi de comportement multi-échelles des muscles pour des cas de muscles sain, ou pathologiques. En outre, nous avons proposé une démarche originale alliant caractérisations expérimentales mécaniques spécifiques à différentes échelles et modélisation numérique mécanique multi-échelle. Cette dernière a laissé entrevoir tout son potentiel pour la modélisation du muscle squelettique et l'étude de pathologies pouvant lui être associées, mais peut tout aussi bien être adaptée à un grand nombre d'organes et de pathologies.

Bibliographie personnelle

- Tatarenko, Y., Pouletaut, P., Chatelin, S., Bensamoun, S.F. (2022). Passive and active mechanical tests at different scales of the skeletal muscle: a literature review. *State of the Art in Bioengineering, ISTE OpenScience, IOS Press*, 2 (1). <hal-03676721>
- Pouletaut, P., Tatarenko, Y., Joumaa, V., Hawse, J.R., Herzog, W., Chatelin, S., Bensamoun, S.F. (submitted). Multiscale mechanical characterization of rodent skeletal muscle. Submitted in: *Innovation and Research in BioMedical Engineering*
- Tatarenko, Y., Li, M., Pouletaut, P., Kammoun, M., Hawse, J.R., Joumaa, V., Herzog, W., Chatelin, S., Bensamoun, S.F. (submitted). Multiscale analysis of Klf10's impact on the passive mechanical properties of murine skeletal muscle, Submitted in: *Journal of the Mechanical Behavior of BioMaterials*
- Tatarenko, Y., Pouletaut, P., Subramaniam, M., Josse, A., Cocquerez, T., Hawse, J., Chatelin, S., Bensamoun, S.F. (2022) Impact of Klf10 deletion in muscle fibers elasticity in as a function of ageing, *World Congress of Biomechanics*, 10-14 juillet 2022, Taipei, Taiwan.
- Pouletaut, P., Tatarenko, Y., Li, M., Joumaa, V., Chakouch, M., Hawse, J.R., Herzog, W., Chatelin, S., Bensamoun, S.F. (2022). Characterization of the passive mechanics at three different structural levels of the muscle. *Rencontres du GDR MECABIO Santé 2022, GDR Mécabio Santé (1ères journées), GDR Réparer l'Humain*, 30 novembre-02 décembre 2022, Paris, France.

Bibliographie

- Agoras, M., Lopez-Pamies, O. and Ponte Castañeda, P. (2009) ‘A general hyperelastic model for incompressible fiber-reinforced elastomers’, *Journal of the Mechanics and Physics of Solids*, 57(2), pp. 268–286.
- Alcazar, J. *et al.* (2019) ‘On the Shape of the Force-Velocity Relationship in Skeletal Muscles: The Linear, the Hyperbolic, and the Double-Hyperbolic’, *Frontiers in Physiology*, 10.
- Anderson, J., Li, Z. and Goubel, F. (2001) ‘Passive stiffness is increased in soleus muscle of desmin knockout mouse’, *Muscle & nerve*, 24(8), pp. 1090–1092.
- Anderson, J., Li, Z. and Goubel, F. (2002) ‘Models of skeletal muscle to explain the increase in passive stiffness in desmin knockout muscle’, *Journal of biomechanics*, 35(10), pp. 1315–1324.
- Aritan, S., Oyadiji, S.O. and Bartlett, R.M. (2009) ‘The in vivo mechanical properties of muscular bulk tissue’, in *2009 Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society*, pp. 5259–5262.
- Asparuhova, M.B., Gelman, L. and Chiquet, M. (2009) ‘Role of the actin cytoskeleton in tuning cellular responses to external mechanical stress’, *Scandinavian journal of medicine & science in sports*, 19(4), pp. 490–499.
- Atay, S.M. *et al.* (2008) ‘Measurement of the dynamic shear modulus of mouse brain tissue in vivo by magnetic resonance elastography’, *Journal of biomechanical engineering*, 130(2), p. 021013.
- Augusto, V., Padovani, C.R. and Campos, G.E.R. (2004) ‘Skeletal muscle fiber types in C57BL6J mice’, *Journal of Morphological Sciences*, 21(2), p. 0.
- Baltgalvis, K.A. *et al.* (2011) ‘Transgenic overexpression of γ -cytoplasmic actin protects against eccentric contraction-induced force loss in mdx mice’, *Skeletal muscle*, 1(1), p. 32.
- Barbarino, G.G. *et al.* (2009) ‘Development and Validation of a Three-Dimensional Finite Element Model of the Face’, *Journal of Biomechanical Engineering*, 131(4).
- Barton, Elisabeth R *et al.* (2005) ‘Systemic administration of L-arginine benefits mdx skeletal muscle function’, *Muscle & nerve*, 32(6), pp. 751–760.
- Barton, E.R. and others (2019) ‘Measuring isometric force of isolated mouse muscles in vitro’, *TREAT-NMD [Preprint]*, (v-3.0).

- Beldie, L. *et al.* (2010) ‘Finite element modelling of maxillofacial surgery and facial expressions—a preliminary study’, *The International Journal of Medical Robotics and Computer Assisted Surgery*, 6.
- Bensamoun, S. *et al.* (2006) ‘Macroscopic-microscopic characterization of the passive mechanical properties in rat soleus muscle’, *Journal of biomechanics*, 39(3), pp. 568–578.
- Bensamoun, S.F. *et al.* (2007) ‘Thigh muscle stiffness assessed with magnetic resonance elastography in hyperthyroid patients before and after medical treatment’, *Journal of Magnetic Resonance Imaging*, 26(3), pp. 708–713.
- Bensamoun, S.F. *et al.* (2015) ‘Elastic properties of skeletal muscle and subcutaneous tissues in Duchenne muscular dystrophy by magnetic resonance elastography (MRE): A feasibility study’, *IRBM*. Elsevier Masson SAS, pp. 4–9.
- Bigot, M. *et al.* (2018) ‘Magnetic Resonance Elastography of Rodent Brain’, *Frontiers in neurology*, 9, p. 1010.
- Blanchoin, L. *et al.* (2014) ‘Actin dynamics, architecture, and mechanics in cell motility’, *Physiological reviews*, 94(1), pp. 235–263. Available at:
- Bleiler, C., Castañeda, P.P. and Röhrle, O. (2019) ‘A microstructurally-based , multi-scale , continuum-mechanical model of skeletal muscle tissue Preprint’, in *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*.
- Blemker, S.S., Pinsky, P.M. and Delp, S.L. (2005) ‘A 3D model of muscle reveals the causes of nonuniform strains in the biceps brachii’, *Journal of Biomechanics*, 38(4), pp. 657–665.
- Bloemink, M.J. and Geeves, M.A. (2011) ‘Shaking the myosin family tree: biochemical kinetics defines four types of myosin motor’, *Seminars in cell & developmental biology*, 22(9), pp. 961–967.
- Blok, L.J. *et al.* (1995) *Characterization of an Early Growth Response Gene, Which Encodes a Zinc Finger Transcription Factor, Potentially Involved in Cell Cycle Regulation*.
- Böl, M. and Reese, S. (2008) ‘Micromechanical modelling of skeletal muscles based on the finite element method’, *Computer methods in biomechanics and biomedical engineering*, 11(5), pp. 489–504.
- Böl, M., Stark, H. and Schilling, N. (2011) ‘On a phenomenological model for fatigue effects in skeletal muscles’, *Journal of Theoretical Biology*, 281(1), pp. 122–132.
- Brashear, S.E. *et al.* (2021) ‘Passive stiffness of fibrotic skeletal muscle in mdx mice relates to collagen architecture’, *Journal of Physiology*, 599(3), pp. 943–962.

- Brynnel, A. *et al.* (2018) ‘Downsizing the molecular spring of the giant protein titin reveals that skeletal muscle titin determines passive stiffness and drives longitudinal hypertrophy’, *eLife*, 7, p. e40532.
- Büchler, P. *et al.* (2002) ‘A finite element model of the shoulder: application to the comparison of normal and osteoarthritic joints’, *Clinical Biomechanics*, 17(9), pp. 630–639.
- Buck, D., Smith, John E, *et al.* (2014) ‘Removal of immunoglobulin-like domains from titin’s spring segment alters titin splicing in mouse skeletal muscle and causes myopathy’, *The Journal of general physiology*, 143(2), pp. 215–230.
- Burkholder, T J and Lieber, R.L. (2001) ‘Sarcomere length operating range of vertebrate muscles during movement’, *The Journal of experimental biology*, 204(Pt 9), pp. 1529–1536.
- Call, Jarrod A. and Lowe, D.A. (2016) ‘Eccentric contraction-induced muscle injury: Reproducible, quantitative, physiological models to impair skeletal muscle’s capacity to generate force’, in *Methods in Molecular Biology*. Humana Press Inc., pp. 3–18.
- Calvo, B. *et al.* (2010) ‘Passive nonlinear elastic behaviour of skeletal muscle: Experimental results and model formulation’, *Journal of Biomechanics*, 43(2), pp. 318–325.
- Canon, F. (2016) ‘Physiologie des système intégrés, les principes et fonctions. https://ressources.unisciel.fr/physiologie/co/Physiologie_web.html’.
- Canon, F., Gamet, D. and Perot, C. (2008) ‘Passive stiffness of rat soleus muscle from weaning to senescence’, *Computer Methods in Biomechanics and Biomedical Engineering*, 11(sup001), pp. 49–50.
- Capogrosso, R.F. *et al.* (2017) ‘Contractile efficiency of dystrophic mdx mouse muscle: in vivo and ex vivo assessment of adaptation to exercise of functional end points’, *Journal of applied physiology (Bethesda, Md. : 1985)*, 122(4), pp. 828–843.
- Chakouch, M. (2015) *Viscoelastic properties of in vivo thigh muscle and in vivo phantom using magnetic resonance elastography (MRE)*. Université de Technologie de Compiègne.
- Charles, J.P. *et al.* (2016) ‘Musculoskeletal Geometry, Muscle Architecture and Functional Specialisations of the Mouse Hindlimb’, *PloS one*, 11(4), p. e0147669.
- Charrier, E.E. *et al.* (2018) ‘The desmin network is a determinant of the cytoplasmic stiffness of myoblasts’, *Biology of the cell*, 110(4), pp. 77–90.
- code Aster (2019) ‘code Aster, Structures and thermomechanics analysis for studies and research, 2019, <https://www.code-aster.org/spip.php?rubrique2> . Accessed 26-Feb-2019.’
- Cosgrove, D. *et al.* (2013) ‘EFSUMB Guidelies and Recommendations on the Clinical Use of Ultrasound Elastography. Part 2: Clinical Applications’, *Ultraschall in Med*, 34, pp. 238–253.

- Csapo, R., Gumpenberger, M. and Wessner, B. (2020) ‘Skeletal Muscle Extracellular Matrix - What Do We Know About Its Composition, Regulation, and Physiological Roles? A Narrative Review’, *Frontiers in physiology*, 11, p. 253.
- Dao, T.T. and Tho, M.-C.H.B. (2018) ‘A Systematic Review of Continuum Modeling of Skeletal Muscles: Current Trends, Limitations, and Recommendations’, *Applied Bionics and Biomechanics*. Edited by E. Peña, 2018, p. 7631818.
- D’Aulignac, D. *et al.* (2005) ‘A shell finite element model of the pelvic floor muscles’, *Computer Methods in Biomechanics and Biomedical Engineering*, 8(5), pp. 339–347.
- Debernard, L. *et al.* (2011a) ‘Analysis of thigh muscle stiffness from childhood to adulthood using magnetic resonance elastography (MRE) technique’, *Clinical Biomechanics*, 26(8), pp. 836–840.
- Debernard, L. *et al.* (2011b) ‘Characterization of muscle architecture in children and adults using magnetic resonance elastography and ultrasound techniques’, *Journal of Biomechanics*, 44(3), pp. 397–401.
- DeBotton, G., Hariton, I. and Socolsky, E.A. (2006) ‘Neo-Hookean fiber-reinforced composites in finite elasticity’, *Journal of the Mechanics and Physics of Solids*, 54(3), pp. 533–559. Available at:
- Delmas, J. and Assire, A. (2015) ‘Salome-Meca: une plate-forme au service de la simulation mécanique’, in *10e colloque national en calcul des structures*, p. Clé-USB.
- Demiray, H. (1972) ‘A note on the elasticity of soft biological tissues’, *Journal of Biomechanics*, 5(3), pp. 309–311.
- Demiray, H. *et al.* (1988) ‘A stress-strain relation for a rat abdominal aorta’, *Journal of Biomechanics*, 21(5), pp. 369–374.
- D’Hulst, G., Soro-Arnaiz, I., Masschelein, E., Veys, K., Fitzgerald, G., Smeuninx, B., Kim, S., Deldicque, L., Blaauw, B., Carmeliet, P., Breen, L., Koivunen, P., Zhao, S.-M., *et al.* (2020) ‘PHD1 controls muscle mTORC1 in a hydroxylation-independent manner by stabilizing leucyl tRNA synthetase’, *Nature communications*, 11(1), p. 174.
- Doucet, J. *et al.* (2011) ‘Modeling the lateral organization of collagen molecules in fibrils using the paracrystal concept’, *Journal of Structural Biology*, 173(2), pp. 197–201.
- Drouet, G. (2017) ‘Salome-Meca: une plate-forme au service de la simulation mécanique’, *13e colloque national en calcul des structures*, 2017

- Ehret, A.E., Böl, M. and Itskov, M. (2011) 'A continuum constitutive model for the active behaviour of skeletal muscle', *Journal of the Mechanics and Physics of Solids*, 59(3), pp. 625–636.
- Ettema, G.J.C. and Meijer, K. (2000) 'Muscle contraction history: modified Hill versus an exponential decay model', *Biological Cybernetics*, 83(6), pp. 491–500.
- Evans, S.L. (2009) 'On the implementation of a wrinkling, hyperelastic membrane model for skin and other materials', *Computer Methods in Biomechanics and Biomedical Engineering*, 12, pp. 319–332.
- Everwien, H. *et al.* (2020) 'Magnetic resonance elastography quantification of the solid-to-fluid transition of liver tissue due to decellularization', *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*, 104.
- Feng, H.-Z., Chen, M., Weinstein, L.S. and Jin, J.-P (2011) 'Improved fatigue resistance in Gs-deficient and aging mouse skeletal muscles due to adaptive increases in slow fibers', *J Appl Physiol*, 111, pp. 834–843.
- Feng, H.-Z., Chen, M., Weinstein, L.S. and Jin, J-P (2011) 'Improved fatigue resistance in Gs α -deficient and aging mouse skeletal muscles due to adaptive increases in slow fibers', *Journal of applied physiology (Bethesda, Md. : 1985)*, 111(3), pp. 834–843.
- Feng, H.-Z. *et al.* (2016) 'Slow recovery of the impaired fatigue resistance in postunloading mouse soleus muscle corresponding to decreased mitochondrial function and a compensatory increase in type I slow fibers', *Am J Physiol Cell Physiol*, 310, pp. 27–40.
- Fung, Y.C. and Cowin, S. (1994) 'Biomechanics: Mechanical Properties of Living Tissues, 2nd ed.', *Journal of Applied Mechanics*, 61, p. 1007.
- Gennisson, J.-L. *et al.* (2010) 'Viscoelastic and Anisotropic Mechanical Properties of in vivo Muscle Tissue Assessed by Supersonic Shear Imaging', *Ultrasound in Medicine & Biology*, 36(5), pp. 789–801.
- Ghaemi, H., Behdinan, K. and Spence, A.D. (2009) 'In vitro technique in estimation of passive mechanical properties of bovine heart: Part II. Constitutive relation and finite element analysis', *Medical Engineering & Physics*, 31(1), pp. 83–91.
- Gillett, C. (2021) 'Using compositional explanations to understand compositional levels: An integrative account', *Levels of Organization in the Biological Sciences*, p. 233.
- Gillies, A.R. *et al.* (2017) 'High resolution three-dimensional reconstruction of fibrotic skeletal muscle extracellular matrix', *Journal of Physiology*, 595(4), pp. 1159–1171.

- Gillies, A.R. and Lieber, R.L. (2011) 'Structure and function of the skeletal muscle extracellular matrix', *Muscle & nerve*, 44(3), pp. 318–331.
- Gordon, T. and Stein, R.B. (1988) 'Comparison of force and stiffness in normal and dystrophic mouse muscles', *Muscle & nerve*, 11(8), pp. 819–827.
- Goriely, A., Budday, S. and Kuhl, E. (2015) 'Chapter Two - Neuromechanics: From Neurons to Brain', in S.P.A. Bordas and D.S. Balint (eds) *Advances in Applied Mechanics*. Elsevier, pp. 79–139.
- Granssee, H.M., Mantilla, C.B. and Sieck, G.C. (2012) 'Respiratory muscle plasticity', *Comprehensive Physiology*, 2(2), p. 1441.
- Green, M.A. *et al.* (2013) 'Measuring anisotropic muscle stiffness properties using elastography', *NMR in Biomedicine*, 26.
- Greising, S.M. *et al.* (2015) 'Analysis of muscle fiber clustering in the diaphragm muscle of sarcopenic mice', *Muscle & nerve*, 52(1), pp. 76–82.
- Gomez, L. *et al.* (2010) 'First published April 8', *J Appl Physiol*, 108, pp. 1706–1710.
- Hakim, Chady H and Duan, D. (2012) 'Gender differences in contractile and passive properties of mdx extensor digitorum longus muscle', *Muscle & nerve*, 45(2), pp. 250–256.
- Hakim, Chady H, Grange, R.W. and Duan, D. (2011) 'The passive mechanical properties of the extensor digitorum longus muscle are compromised in 2- to 20-mo-old mdx mice', *Journal of applied physiology (Bethesda, Md. : 1985)*, 110(6), pp. 1656–1663.
- Hakim, Chady H, Wasala, N.B. and Duan, D. (2013) 'Evaluation of muscle function of the extensor digitorum longus muscle ex vivo and tibialis anterior muscle in situ in mice', *Journal of visualized experiments : JoVE*, (72), p. 50183.
- Hawse, J.R. *et al.* (2011) 'TIEG1/KLF10 modulates Runx2 expression and activity in osteoblasts', *PloS one*, 6(4), p. e19429.
- Head, S.I., Greenaway, B. and Chan, S. (2011) 'Incubating isolated mouse EDL muscles with creatine improves force production and twitch kinetics in fatigue due to reduction in ionic strength', *PloS one*, 6(8), p. e22742.
- Hedenstierna, S. and Halldin, P. (2008) 'How Does a Three-Dimensional Continuum Muscle Model Affect the Kinematics and Muscle Strains of a Finite Element Neck Model Compared to a Discrete Muscle Model in Rear-End, Frontal, and Lateral Impacts', *Spine*, 33(8).
- Heidlauf, T. and Röhrle, O. (2013) 'Modeling the chemoelectromechanical behavior of skeletal muscle using the parallel open-source software library openCMISS', *Computational and Mathematical Methods in Medicine*, 2013.

- Helfer, T. *et al.* (2015) ‘Introducing the open-source mfront code generator: Application to mechanical behaviours and material knowledge management within the PLEIADES fuel element modelling platform’, *Computers & Mathematics with Applications*, 70(5), pp. 994–1023.
- Hernández, B. *et al.* (2011) ‘Mechanical and histological characterization of the abdominal muscle. A previous step to modelling hernia surgery’, *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*, 4(3), pp. 392–404.
- Herzog, W. *et al.* (2008) ‘Mysteries of muscle contraction’, *Journal of applied biomechanics*, 24(1), pp. 1–13.
- Herzog, W. (2014) ‘The role of titin in eccentric muscle contraction’, *The Journal of experimental biology*, 217(Pt 16), pp. 2825–2833.
- Hessel, A.L. *et al.* (2019) ‘Optimal length, calcium sensitivity and twitch characteristics of skeletal muscles from mdm mice with a deletion in N2A titin’, *The Journal of experimental biology*, 222(Pt 12), p.
- He, X., Taneja, K., Chen, J.-S., *et al.* (2022) ‘Multiscale modeling of passive material influences on deformation and force output of skeletal muscles’, *International journal for numerical methods in biomedical engineering*, 38(4), p. e3571.
- He, X., Taneja, K., Chen, J.S., *et al.* (2022) ‘Multiscale modeling of passive material influences on deformation and force output of skeletal muscles’, *International Journal for Numerical Methods in Biomedical Engineering*, 38(4).
- Hill, A. V (1922) ‘The mechanism of muscular contraction’, *Physiological Reviews*, 2(2), pp. 310–341.
- Hill, A. V (1951) ‘The mechanics of voluntary muscle’, *The Lancet*, 258(6691), pp. 947–951.
- Hody, S. *et al.* (2019) ‘Eccentric Muscle Contractions: Risks and Benefits’, *Frontiers in physiology*, 10, p. 536.
- Hollenstein, M. *et al.* (2006) ‘Mechanical characterization of the liver capsule and parenchyma’, in *Biomedical Simulation: Third International Symposium, ISBMS 2006, Zurich, Switzerland, July 10-11, 2006. Proceedings 3*, pp. 150–158.
- Holmes, M.H. and Mow, V.C. (1990) ‘The nonlinear characteristics of soft gels and hydrated connective tissues in ultrafiltration’, *Journal of Biomechanics*, 23(11), pp. 1145–1156.
- Holzappel, G.A., Gasser, T.C. and Ogden, R.W. (2000) ‘A New Constitutive Framework for Arterial Wall Mechanics and a Comparative Study of Material Models’, *Journal of elasticity and the physical science of solids*, 61(1), pp. 1–48.

- Hopkins, Philip M (2006) ‘Skeletal muscle physiology’, *Continuing Education in Anaesthesia, Critical Care & Pain*, 6(1), pp. 1–6..
- Horgan, C.O. and Saccomandi, G. (2005) ‘A new constitutive theory for fiber-reinforced incompressible nonlinearly elastic solids’, *Journal of the Mechanics and Physics of Solids*, 53(9), pp. 1985–2015..
- Humphrey, J.D., Strumpf, R.K. and Yin, F.C.P. (1990) ‘Determination of a Constitutive Relation for Passive Myocardium: I. A New Functional Form’, *Journal of Biomechanical Engineering*, 112(3), pp. 333–339.
- Humphrey, J.D. and Yin, F.C.P. (1987) ‘On Constitutive Relations and Finite Deformations of Passive Cardiac Tissue: I. A Pseudostrain-Energy Function’, *Journal of Biomechanical Engineering*, 109(4), pp. 298–304.
- Huxley A. F. and Niedergerke R. (1954) ‘Structural Changes in Muscle During Contraction: Interference Microscopy of Living Muscle Fibres’, *Nature*, 173(4412), pp. 971–973.
- Jacobs, R.A. *et al.* (2013) ‘The C57Bl/6 mouse serves as a suitable model of human skeletal muscle mitochondrial function’, *Experimental physiology*, 98(4), pp. 908–921.
- James, R.S., Wilson, R.S. and Askew, G.N. (2004) ‘Effects of caffeine on mouse skeletal muscle power output during recovery from fatigue’, *Journal of Applied Physiology*, 96(2), pp. 545–552.
- Johansson T., Meier P. and Blickhan R. (2000) ‘A Finite-Element Model for the Mechanical Analysis of Skeletal Muscles’, *Journal of Theoretical Biology*, 206(1), pp. 131–149.
- Kaliske, M. (1999) *A formulation of elasticity and viscoelasticity for fibre reinforced material at small and finite strains*.
- Kammoun, M., Pouletaut, P., Canon, F., Subramaniam, M., Hawse, John R., *et al.* (2016) ‘Impact of TIEG1 deletion on the passive mechanical properties of fast and slow twitch skeletal muscles in female mice’, *PLoS ONE*, 11(10).
- Kammoun, M. *et al.* (2017) ‘Impact of TIEG1 on the structural properties of fast- and slow-twitch skeletal muscle’, *Muscle and Nerve*, 55(3), pp. 410–416.
- Kammoun, M., Ternifi, R., Dupres, V., Pouletaut, P., Mème, S., Mème, W., Szeremeta, F., Landoulsi, J., Constans, J.-M., Lafont, F., Subramaniam, M., Hawse, John R, *et al.* (2019) ‘Development of a novel multiphysical approach for the characterization of mechanical properties of musculotendinous tissues’, *Scientific reports*, 9(1), p. 7733.
- Kammoun, M. *et al.* (2020) ‘Novel role of Tieg1 in muscle metabolism and mitochondrial oxidative capacities’, *Acta Physiologica*, 228(3).

- Kammoun, M., Pouletaut, P., Morandat, S., Subramaniam, M., Hawse, John R, *et al.* (2021) ‘Krüppel-like factor 10 regulates the contractile properties of skeletal muscle fibers in mice’, *Muscle & nerve*, 64(6), pp. 765–769.
- Kastler, B. *et al.* (2011) ‘Chapitre 5 - Contraste en T1, T2 et densité protonique’, in B. Kastler and D. Vetter (eds) *Comprendre L’IRM (Septième Édition)*. Paris: Elsevier Masson, pp. 37–66.
- Kho, A.T. *et al.* (2006) ‘Transcriptome-scale similarities between mouse and human skeletal muscles with normal and myopathic phenotypes’, *BMC musculoskeletal disorders*, 7, p. 23.
- Kiss, B. *et al.* (2018) ‘Nebulin stiffens the thin filament and augments cross-bridge interaction in skeletal muscle’, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 115(41), pp. 10369–10374.
- Kjaer, M. (2004) ‘Role of extracellular matrix in adaptation of tendon and skeletal muscle to mechanical loading’, *Physiological reviews*, 84(2), pp. 649–698.
- Kontogianni-Konstantopoulos, A. *et al.* (2009) ‘Muscle giants: molecular scaffolds in sarcomerogenesis’, *Physiological reviews*, 89(4), pp. 1217–1267.
- Koutakis, P. *et al.* (2015) ‘Abnormal accumulation of desmin in gastrocnemius myofibers of patients with peripheral artery disease: associations with altered myofiber morphology and density, mitochondrial dysfunction and impaired limb function’, *The journal of histochemistry and cytochemistry : official journal of the Histochemistry Society*, 63(4), pp. 256–269.
- Kvedaras, M., Minderis, P. and Ratkevičius, A. (2020) ‘Effects of Single 48 H Fasting on Soleus Muscle Mass and Contractile Properties in Old and Young Mice’, *Baltic Journal of Sport and Health Sciences*, 1(116).
- Lamsfuss, J. and Bargmann, S. (2021a) ‘Skeletal muscle: Modeling the mechanical behavior by taking the hierarchical microstructure into account’, *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*, 122.
- Van Leeuwen, J.L. (1991) ‘Optimum power output and structural design of sarcomeres’, *Journal of Theoretical Biology*, 149(2), pp. 229–256.
- Van Leeuwen, J.L. and Kier W. M. (1997) ‘Functional design of tentacles in squid : Linking sarcomere ultrastructure to gross morphological dynamics’, *Philosophical Transactions of the Royal Society B*, 352, pp. 551–571.
- Van Leeuwen J. L. and Spoor C. W. (1992) ‘Modelling mechanically stable muscle architectures’, *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 336(1277), pp. 275–292.

- Lee, W., Won, B.H. and Cho, S.W. (2017) 'Finite element modeling for predicting the contact pressure between a foam mattress and the human body in a supine position', *Computer methods in biomechanics and biomedical engineering*, 20(1), pp. 104–117.
- Leichsenring, K. *et al.* (2021) 'Age-dependent mechanical and microstructural properties of the rabbit soleus muscle', *Acta biomaterialia*, 134, pp. 453–465.
- Limbirt, G. and Middleton, J. (2004) 'A transversely isotropic viscohyperelastic material: Application to the modeling of biological soft connective tissues', *International Journal of Solids and Structures*, 41(15), pp. 4237–4260.
- Lin, D.H. and Yin, F.C.-P. (1998) 'A multiaxial constitutive law for mammalian left ventricular myocardium in steady-state barium contracture or tetanus.', *Journal of biomechanical engineering*, 120 4, pp. 504–17.
- Lindstedt, S. and Nishikawa, K. (2017) 'Huxleys' Missing Filament: Form and Function of Titin in Vertebrate Striated Muscle', *Annual review of physiology*, 79, pp. 145–166.
- Linke, W.A. (2000) 'Stretching molecular springs: elasticity of titin filaments in vertebrate striated muscle', *Histology and histopathology*, 15(3), pp. 799–811.
- Linke, W.A. (2018) 'Titin Gene and Protein Functions in Passive and Active Muscle', *Annual review of physiology*, 80, pp. 389–411.
- Liu, F., Wang, M. and Ma, Y. (2022) 'Multiscale modeling of skeletal muscle to explore its passive mechanical properties and experiments verification', *Mathematical biosciences and engineering : MBE*, 19(2), pp. 1251–1279.
- Liu, M., Yue, Y., Harper, Scott Q, *et al.* (2005) 'Adeno-associated virus-mediated microdystrophin expression protects young mdx muscle from contraction-induced injury', *Molecular therapy : the journal of the American Society of Gene Therapy*, 11(2), pp. 245–256.
- Van Loocke, M., Lyons, C.G. and Simms, C.K. (2006) 'A validated model of passive muscle in compression', *Journal of Biomechanics*, 39(16), pp. 2999–3009.
- Van Loocke, M., Lyons, C.G. and Simms, C.K. (2008) 'Viscoelastic properties of passive skeletal muscle in compression: Stress-relaxation behaviour and constitutive modelling', *Journal of Biomechanics*, 41(7), pp. 1555–1566.
- López Jiménez, F. (2014) 'Modeling of soft composites under three-dimensional loading', *Composites Part B: Engineering*, 59, pp. 173–180.
- Lopez-Pamies, O. and Idiart, M.I. (2010) 'Fiber-reinforced hyperelastic solids: A realizable homogenization constitutive theory', *Journal of Engineering Mathematics*, 68(1), pp. 57–83.

- Lu, Y.T. *et al.* (2010) ‘A visco-hyperelastic model for skeletal muscle tissue under high strain rates’, *Journal of Biomechanics*, 43(13), pp. 2629–2632.
- MacDougall, K.B. *et al.* (2020) ‘Force–frequency relationship during fatiguing contractions of rat medial gastrocnemius muscle’, *Scientific Reports*, 10(1), p. 11575.
- Martin, P.T., Xu, R., Rodino-Klapac, L.R., Oglesbay, E., Camboni, M., Montgomery, C.L., Shontz, K., Chicoine, L.G., Clark, K.R., *et al.* (2009) ‘Overexpression of Galgt2 in skeletal muscle prevents injury resulting from eccentric contractions in both mdx and wild-type mice’, *American journal of physiology. Cell physiology*, 296(3), pp. C476–88.
- Martins-Bach, A.B. *et al.* (2021) ‘Non-invasive assessment of skeletal muscle fibrosis in mice using nuclear magnetic resonance imaging and ultrasound shear wave elastography’, *Scientific Reports*, 11(1).
- Martins, J.A.C. *et al.* (1998) ‘A numerical model of passive and active behavior of skeletal muscles’, *Computer Methods in Applied Mechanics and Engineering*, 151(3), pp. 419–433.
- Masson, I., Fassot, C. and Zidi, M. (2010) ‘Finite dynamic deformations of a hyperelastic, anisotropic, incompressible and prestressed tube. Applications to in vivo arteries’, *European Journal of Mechanics - A/Solids*, 29(4), pp. 523–529.
- May-Newman, K. and McCulloch, A.D. (1998) ‘Homogenization modeling for the mechanics of perfused myocardium’, *Progress in Biophysics and Molecular Biology*, 69(2), pp. 463–481.
- Mazza, E. *et al.* (2005) ‘Nonlinear elastic-viscoplastic constitutive equations for aging facial tissues’, *Biomechanics and Modeling in Mechanobiology*, 4(2), pp. 178–189.
- Mazza, E. *et al.* (2006) ‘Simulation of the Aging Face’, *Journal of Biomechanical Engineering*, 129(4), pp. 619–623.
- Meyer, G.A. and Lieber, R.L. (2011) ‘Elucidation of extracellular matrix mechanics from muscle fibers and fiber bundles’, *Journal of Biomechanics*, 44(4), pp. 771–773.
- Mitchell, Andrew S *et al.* (2015) ‘Functional, morphological, and apoptotic alterations in skeletal muscle of ARC deficient mice’, *Apoptosis : an international journal on programmed cell death*, 20(3), pp. 310–326.
- Mooney, M. (1940) ‘A Theory of Large Elastic Deformation’, *Journal of Applied Physics*, 11(9), pp. 582–592.
- Moran, Amy L., Warren, G.L. and Lowe, D.A. (2005) ‘Soleus and EDL muscle contractility across the lifespan of female C57BL/6 mice’, *Experimental Gerontology*, 40(12), pp. 966–975.
- Murphy, J.G. (2013) ‘Transversely isotropic biological, soft tissue must be modelled using both anisotropic invariants’, *European Journal of Mechanics - A/Solids*, 42, pp. 90–96.

- Murphy, S. and Ohlendieck, K. (2016) ‘The Extracellular Matrix Complexome from Skeletal Muscle’, *Composition and function of the extracellular matrix in the human body*. p. 69.
- Muthupillai, R. *et al.* (1995) ‘Muthupillai et al. 1995’, *Science*, 269(5232), pp. 1854–1857.
- Myers, B.S. *et al.* (1995) ‘On the Structural and Material Properties of Mammalian Skeletal Muscle and Its Relevance to Human Cervical Impact Dynamics’, *SAE Transactions*, 104, pp. 3095–3105.
- Myers, B.S. *et al.* (1998) ‘The Influence of Strain Rate on the Passive and Stimulated Engineering Stress–Large Strain Behavior of the Rabbit Tibialis Anterior Muscle’, *Journal of Biomechanical Engineering*, 120(1), pp. 126–132.
- Nelissen, J.L. *et al.* (2017) ‘A MRI-compatible combined mechanical loading and mr elastography setup to study deformation-induced skeletal muscle damage in rats’, *PLoS ONE*, 12(1).
- Nelissen, J.L. *et al.* (2019) ‘Magnetic resonance elastography of skeletal muscle deep tissue injury’, *NMR in Biomedicine*, 32(6).
- Nierenberger, M. (2013) *Mécanique multiéchelles des parois vasculaires : expérimentation, imagerie, modélisation*. Strasbourg.
- Ogden R. W. (1972) ‘Large deformation isotropic elasticity – on the correlation of theory and experiment for incompressible rubberlike solids’, *Proceedings of the Royal Society of London. A. Mathematical and Physical Sciences*, 326(1567), pp. 565–584.
- Olthoff, J.T. *et al.* (2018) ‘Loss of peroxiredoxin-2 exacerbates eccentric contraction-induced force loss in dystrophin-deficient muscle’, *Nature communications*, 9(1), p. 5104.
- Oomens, C.W.J., van Vlijven, M. and Peters, G.W.M. (2017) ‘Chapter 16 - Skin Mechanics’, in Y. Payan and J. Ohayon (eds) *Biomechanics of Living Organs*. Oxford: Academic Press, pp. 347–357.
- Ortenblad, N., Sjøgaard, G. and Madsen, K. (2000) ‘Impaired sarcoplasmic reticulum Ca(2+) release rate after fatiguing stimulation in rat skeletal muscle’, *Journal of applied physiology (Bethesda, Md. : 1985)*, 89(1), pp. 210–217.
- Paetsch, C. and Dorfmann, A. (2013) ‘Non-linear modeling of active biohybrid materials’, *International Journal of Non-Linear Mechanics*, 56, pp. 105–114.
- Paetsch, C., Trimmer, B.A. and Dorfmann, A. (2012) ‘A constitutive model for active–passive transition of muscle fibers’, *International Journal of Non-Linear Mechanics*, 47(2), pp. 377–387.

- Pette, D. and Staron, R.S. (1997) 'Mammalian skeletal muscle fiber type transitions', *International review of cytology*, 170, pp. 143–223.
- Pette, D. and Staron, R.S. (2000) 'Myosin isoforms, muscle fiber types, and transitions', *Microscopy research and technique*, 50(6), pp. 500–509.
- Pouletaut, Philippe *et al.* (2021) 'Loss of KLF10 expression does not affect the passive properties of single myofibrils', *Computer Methods in Biomechanics and Biomedical Engineering*.
- Powers, K. *et al.* (2017) 'Titin force enhancement following active stretch of skinned skeletal muscle fibres', *The Journal of experimental biology*, 220(Pt 17), pp. 3110–3118.
- Prado, L.G. *et al.* (2005) 'Isoform diversity of giant proteins in relation to passive and active contractile properties of rabbit skeletal muscles', *The Journal of general physiology*, 126(5), pp. 461–480.
- Del Prete, Z., Musarò, A. and Rizzuto, E. (2008a) 'Measuring mechanical properties, including isotonic fatigue, of fast and slow MLC/mIgf-1 transgenic skeletal muscle', *Annals of biomedical engineering*, 36(7), pp. 1281–1290.
- Purslow, P.P. (2010) 'Muscle fascia and force transmission', *Journal of Bodywork and Movement Therapies*, 14(4), pp. 411–417.
- Purslow, P.P. (2020) 'The Structure and Role of Intramuscular Connective Tissue in Muscle Function', *Frontiers in physiology*, 11, p. 495.
- Qin, Eric C *et al.* (2014) 'In vivo anisotropic mechanical properties of dystrophic skeletal muscles measured by anisotropic MR elastographic imaging: the mdx mouse model of muscular dystrophy', *Radiology*, 273(3), pp. 726–735.
- Rassier, D.E., MacIntosh, B.R. and Herzog, W. (1999) 'Length dependence of active force production in skeletal muscle.', *Journal of applied physiology*, 86 5, pp. 1445–57.
- Rehorn, M.R., Schroer, A.K. and Blemker, S.S. (2014) 'The passive properties of muscle fibers are velocity dependent', *Journal of Biomechanics*, 47(3), pp. 687–693.
- Riso, E.-M., Kaasik, P. and Seene, T. (2016) 'Remodelling of Skeletal Muscle Extracellular Matrix: Effect of Unloading and Reloading', *Composition and function of the extracellular matrix in the human body*, p. 45.
- Rivlin R.S. (1948) 'Large elastic deformations of isotropic materials IV. further developments of the general theory', *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series A, Mathematical and Physical Sciences*, 241(835), pp. 379–397.

- Robbins, D.W. *et al.* (2010) ‘The effects of load and training pattern on acute neuromuscular responses in the upper body’, *Journal of strength and conditioning research*, 24(11), pp. 2996–3007.
- Roca-Cusachs, P. *et al.* (2013) ‘Integrin-dependent force transmission to the extracellular matrix by α -actinin triggers adhesion maturation’, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 110(15), pp. E1361-70.
- Röhrle, O. (2010) ‘Simulating the Electro-Mechanical Behavior of Skeletal Muscles’, *Computing in Science & Engineering*, 12(6), pp. 48–58.
- Röhrle, O., Davidson, J.B. and Pullan, A.J. (2008) ‘Bridging Scales: A Three-Dimensional Electromechanical Finite Element Model of Skeletal Muscle’, *SIAM J. Sci. Comput.*, 30, pp. 2882–2904.
- Röhrle, O, Davidson, J.B. and Pullan, A.J. (2012) ‘A physiologically based, multi-scale model of skeletal muscle structure and function’, *Frontiers in physiology*, 3, p. 358.
- Röhrle, O. and Pullan, A.J. (2007) ‘Three-dimensional finite element modelling of muscle forces during mastication’, *Journal of Biomechanics*, 40(15), pp. 3363–3372.
- Rowe, J. Chen, Q. Domire, Z. J. McCullough, M. B. Sieck, G. Zhan, W. An, K. (2010) ‘Effect of collagen digestion on the passive elastic properties of diaphragm muscle in rat’, *Medical Engineering and Physics*, 32(1), pp. 90–94.
- Rubin, M.B. (2016) ‘A viscoplastic model for the active component in cardiac muscle’, *Biomechanics and Modeling in Mechanobiology*, 15(4), pp. 965–982.
- Sanden, K.W. Böcker, U. Ofstad, R. Pedersen M.E. Host, V. Afseth, N.K. Ronning, S.B. Pleshko, N. (2021) ‘Characterization of collagen structure in normal, wooden breast and spaghetti meat chicken fillets by ftir microspectroscopy and histology’, *Foods*, 10(3).
- Schiaffino, S. and Reggiani, C. (2011) ‘Fiber types in mammalian skeletal muscles’, *Physiological reviews*, 91(4), pp. 1447–1531.
- Schmid, L. Klotz, T. Siebert, T. Röhrle, O. (2019) ‘Characterization of Electromechanical Delay Based on a Biophysical Multi-Scale Skeletal Muscle Model’, *Frontiers in Physiology*, 10.
- Schöberl, J. (1997) ‘NETGEN An advancing front 2D/3D-mesh generator based on abstract rules’, *Computing and Visualization in Science*, 1, pp. 41–52.
- Sitparan, P.K. Pagel, C.N. Pinniger, G.J. Yoo, H.J. Mackie, E.J. Bakker, A.J. (2014) ‘Contractile properties of slow and fast skeletal muscles from protease activated receptor-1 null mice’, *Muscle and Nerve*, 50(6), pp. 991–998.

- Smith, L.R. and Barton, E.R. (2014) ‘Collagen content does not alter the passive mechanical properties of fibrotic skeletal muscle in mdx mice.’, *American journal of physiology. Cell physiology*, 306 10, pp. C889-98.
- Sonnemann, K.J. Heun-Johnson, H. Turner, A.J. Baltgalvis, K.A. Lowe, D.A. Ervasti, J.M. (2009) ‘Functional substitution by TAT-utrophin in dystrophin-deficient mice’, *PLoS medicine*, 6(5), p. e1000083.
- Spangenburg, E.E. and Booth, F.W. (2003) ‘Molecular regulation of individual skeletal muscle fibre types’, *Acta physiologica Scandinavica*, 178(4), pp. 413–424.
- Spencer, A.J.M. (1984) ‘Constitutive Theory for Strongly Anisotropic Solids’, in A.J.M. Spencer (ed.) *Continuum Theory of the Mechanics of Fibre-Reinforced Composites*. Vienna: Springer Vienna, pp. 1–32.
- Spyrou, L. A., Agoras, M. and Danas, K. (2017) ‘A homogenization model of the Voigt type for skeletal muscle’, *Journal of Theoretical Biology*, 414, pp. 50–61.
- Spyrou, L.A. and Aravas, N. (2011) ‘Muscle and Tendon Tissues: Constitutive Modeling and Computational Issues’, *Journal of Applied Mechanics*, 78(4).
- Spyrou, L A, Brisard, S. and Danas, K. (2019) ‘Multiscale modeling of skeletal muscle tissues based on analytical and numerical homogenization’, *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*, 92, pp. 97–117.
- Stein, R.B. and Gordon, T. (1986) ‘Nonlinear stiffness--force relationships in whole mammalian skeletal muscles’, *Canadian journal of physiology and pharmacology*, 64(9), pp. 1236–1244.
- Stojanovic, B. Kojic, M. Rosic, M. Tsui, C.P. Tang, C. (2007) ‘An extension of Hill’s three-component model to include different fibre types in finite element modelling of muscle’, *International Journal for Numerical Methods in Engineering*, 71.
- Subramaniam, M. Harris, S.A. Oursler, M.J. Rasmussen, K. Riggs, B.L. Spelsberg, T.C. (1995) *Identification of a novel TGF- β -regulated gene encoding a putative zinc finger protein in human osteoblasts*, *Nucleic Acids Research*.
- Subramaniam, M. Gorny, G. Johnsen, S.A. Monroe, D.G. Evans, G.L. Fraser, D.G. Rickard, D.J. Rasmussen, K. van Deursen, J.M.A. Turner, R.T. Oursler, M.J. Spelsberg, T.C. (2005) ‘TIEG1 Null Mouse-Derived Osteoblasts Are Defective in Mineralization and in Support of Osteoclast Differentiation In Vitro’, *Molecular and Cellular Biology*, 25(3), pp. 1191–1199.

- Takaza, M. Moerman, K.M. Glindre, J. Lyons, G. Simms, C.K. (2013) ‘The anisotropic mechanical behaviour of passive skeletal muscle tissue subjected to large tensile strain’, *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*, 17, pp. 209–220.
- Tang, D. Yang, C. Kobayashi, S. Zheng, J. Woordard, P.K. Teng, Z. Billiar, K. Bach, R. Ku, D.N. (2009) ‘3D MRI-Based Anisotropic FSI Models With Cyclic Bending for Human Coronary Atherosclerotic Plaque Mechanical Analysis’, *Journal of Biomechanical Engineering*, 131(6).
- Tarpey, M.D. Amorese, A.J. Balestrieri, N.P. Ryan, T.E. Schmidt, C.A. McClung, J.M. Spangenburg, E.E. (2018) ‘Characterization and utilization of the flexor digitorum brevis for assessing skeletal muscle function’, *Skeletal Muscle*, 8(1).
- Tatarenko, Y., Pouletaut, P., Subramaniam, M., *et al.* (2022) ‘Impact of Klf10 deletion in muscle fibers elasticity as a function of ageing’, in *World Congress of Biomechanics*.
- Tatarenko, Y., Pouletaut, P., Chatelin, S. and F. Bensamoun, S. (2022) ‘Passive and active mechanical tests at different scales of the skeletal muscle: a literature review’, *State of the Art in Bioengineering*, 2(1).
- Ternifi, R. *et al.* (2019) ‘Ultrasound image processing to estimate the structural and functional properties of mouse skeletal muscle’, *Biomedical Signal Processing and Control*, 56.
- Thomas R Jenkyn *et al.* (2002) ‘Finite element model of intramuscular pressure during isometric contraction of skeletal muscle’, *Physics in Medicine & Biology*, 47(22), p. 4043.
- Tirrell, T.F. *et al.* (2012) ‘Human skeletal muscle biochemical diversity’, *The Journal of experimental biology*, 215(Pt 15), pp. 2551–2559.
- Toscano, A.E., Ferraz, Karla Mônica, *et al.* (2010) ‘Passive stiffness of rat skeletal muscle undernourished during fetal development’, *Clinics*, 65(12), pp. 1363–1369.
- Toursel, T. *et al.* (2002) ‘Passive tension of rat skeletal soleus muscle fibers: effects of unloading conditions’, *J Appl Physiol*, 92, pp. 1465–1472.
- Virgilio, Kelley M. *et al.* (2015) ‘Multiscale models of skeletal muscle reveal the complex effects of muscular dystrophy on tissue mechanics and damage susceptibility’, *Interface Focus*, 5(2).
- Volokh, K.Y. and Vorp, D.A. (2008) ‘A model of growth and rupture of abdominal aortic aneurysm’, *Journal of Biomechanics*, 41(5), pp. 1015–1021.
- Wang, Y. *et al.* (2013) ‘Finite element analysis of the deformation of deep veins in the lower limb under external compression’, *Medical Engineering & Physics*, 35(4), pp. 515–523.

- Wan, J.J. *et al.* (2017) ‘Muscle fatigue: General understanding and treatment’, *Experimental and Molecular Medicine*. Nature Publishing Group.
- Westerblad, H., Bruton, J.D. and Katz, A. (2010) ‘Skeletal muscle: energy metabolism, fiber types, fatigue and adaptability’, *Experimental cell research*, 316(18), pp. 3093–3099.
- West, T.G. *et al.* (2013) ‘Power output of skinned skeletal muscle fibres from the cheetah (*Acinonyx jubatus*)’, *Journal of Experimental Biology*, 216(15), pp. 2974–2982.
- Wheatley, B.B. *et al.* (2016) ‘Skeletal muscle tensile strain dependence: Hyperviscoelastic nonlinearity’, *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*, 53, pp. 445–454.
- Wheatley, Benjamin B. *et al.* (2017) ‘A case for poroelasticity in skeletal muscle finite element analysis: experiment and modeling’, *Computer Methods in Biomechanics and Biomedical Engineering*, 20(6), pp. 598–601.
- Wheatley, Benjamin Brandt *et al.* (2017) Dissertation finite element analysis of skeletal muscle: a validated approach to modeling muscle force and intramuscular pressure.
- Wu, T., Hung, A. and Mithraratne, K. (2014) ‘Generating Facial Expressions Using an Anatomically Accurate Biomechanical Model’, *IEEE Transactions on Visualization and Computer Graphics*, 20(11), pp. 1519–1529.
- Yang, Z. *et al.* (2016) ‘3D finite element modeling of pelvic organ prolapse’, *Computer Methods in Biomechanics and Biomedical Engineering*, 19, pp. 1772–1784.
- Yin, M. *et al.* (2007) ‘Quantitative assessment of hepatic fibrosis in an animal model with magnetic resonance elastography’, *Magnetic Resonance in Medicine*, 58(2), pp. 346–353.
- Zajac, F.E. (1989) ‘Muscle and tendon: properties, models, scaling, and application to biomechanics and motor control’, *Critical reviews in biomedical engineering*, 17(4), p. 359—411.
- Zhang, S.-J. *et al.* (2006) ‘Limited oxygen diffusion accelerates fatigue development in mouse skeletal muscle’, *The Journal of physiology*, 572(Pt 2), pp. 551–559.
- Zhang, Y., Chen, J.-S., *et al.* (2020) ‘Microstructural analysis of skeletal muscle force generation during aging’, *International journal for numerical methods in biomedical engineering*, 36(1), p. e3295.
- Zhu, B. *et al.* (2017) ‘Combined Magnetic Resonance Elastography and Collagen Molecular Magnetic Resonance Imaging Accurately Stage Liver Fibrosis in a Rat Model’, *Hepatology*, 65(3), pp. 1015–1025.

Bibliographie – Yoann Tatarenko, manuscrit de thèse, UTC, 2023.

Zhurov, A.I. *et al.* (2007) ‘A constitutive model for the periodontal ligament as a compressible transversely isotropic visco-hyperelastic tissue’, *Computer Methods in Biomechanics and Biomedical Engineering*, 10, pp. 223–235.