



HAL
open science

Modèle de tenségrité viscoélastique pour l'étude de la réponse dynamique des cellules adhérentes

Patrick Cañadas

► **To cite this version:**

Patrick Cañadas. Modèle de tenségrité viscoélastique pour l'étude de la réponse dynamique des cellules adhérentes. Autre. Université Paris XII Val de Marne, 2003. Français. NNT: . tel-00003235

HAL Id: tel-00003235

<https://theses.hal.science/tel-00003235>

Submitted on 6 Aug 2003

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

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

**UNIVERSITE PARIS XII – VAL-DE-MARNE
U.F.R. SCIENCES ET TECHNOLOGIE**

N° attribué par la bibliothèque
|_|_|_|_|_|_|_|_|

THESE DE DOCTORAT

pour l'obtention du grade de

DOCTEUR DE L'UNIVERSITE PARIS XII – VAL-DE-MARNE

Discipline : MECANIQUE/BIOMECHANIQUE

présentée et soutenue publiquement par

Patrick CAÑADAS

le 20 mai 2003

Titre :

**MODELE DE TENSEGRITE VISCOELASTIQUE
POUR L'ETUDE DE LA REPONSE DYNAMIQUE DES
CELLULES ADHERENTES**

Devant le jury composé de :

Jacques OHAYON	rapporteur	Professeur à l'Université de Savoie
Jean-François STOLTZ	rapporteur	Professeur à l'Université Henry Poincaré
Didier BELLET		Professeur à l'INP de Toulouse
Daniel NAVAJAS		Professeur à l'Universitat de Barcelona

Directeurs de thèse :

Sylvie WENDLING-MANSUY	Maître de Conférences à l'Université Paris XII
Daniel ISABEY	Directeur de Recherche CNRS à l'INSERM U492

Table des matières

Introduction générale	page 1
Partie A : Les modèles du comportement mécanique de la cellule adhérente dans son microenvironnement – Etat de l’art	page 7
I – Description de la cellule adhérente dans son microenvironnement	page 8
I-1 – Organisation globale de la cellule adhérente	page 8
I-2 – Organisation structurale du cytosquelette	page 11
I-2-1 – Le réseau d’actine	page 12
1) Le réseau profond de fibres de tensions (ou fibres de stress)	page 13
2) Le réseau périphérique ou réseau cortical d’actine	page 14
I-2-2 – Le réseau de microtubules	page 16
I-2-3 – Le réseau de filaments intermédiaires	page 17
II – Propriétés mécaniques de la cellule adhérente dans son microenvironnement	page 18
II-1 – Revue des propriétés mécaniques de cellules vivantes testées expérimentalement	page 19
II-1-1 – Propriétés mécaniques globales de la cellule	page 20
a) Paramètres caractéristiques de la viscoélasticité cellulaire	page 20
b) Techniques expérimentales spécifiques du CSQ	page 22
c) Réflexion	page 24
II-1-2 – Rôle mécanique des filaments du cytosquelette	page 25
1) Rôle mécanique des filaments d’actine	page 25
2) Rôle mécanique des microtubules et des filaments intermédiaires	page 28
II-1-3 – Conclusion	page 29
II-2 – Les modèles théoriques de la réponse mécanique cellulaire	page 30
II-2-1 – Les premiers modèles : la cellule comme un milieu continu	page 30
II-2-2 – Les premiers modèles structuraux	page 32
1) Les modèles de gels de polymères et de transition de phase	page 32
2) Les modèles de mousses	page 34
3) Les modèles de barres étudiés suivant une approche aux éléments finis	page 36

II-2-3 – Les modèles de tenségrité	page 37
1) Définition et origine des modèles de tenségrité	page 37
2) Application à la biomécanique	page 38
a) Analogies Structure de tenségrité et Structure du cytosquelette	page 39
b) Modèles de tenségrité théoriques	page 40
III – Conclusion	page 43
Partie B : Etude théorique du comportement mécanique du modèle de tenségrité viscoélastique (MTV)	page 45
I – Description du modèle de tenségrité viscoélastique (MTV)	page 46
I-1 – Définition du modèle de tenségrité viscoélastique	page 46
I-2 – Conditions d'étude	page 48
II – Etude théorique du comportement mécanique en fluage du Modèle Numérique de Tenségrité Viscoélastique (MNTV)	page 49
II-1 – Equations de la mécanique	page 49
II-2 – Méthode de résolution numérique	page 51
III – Etude théorique du comportement mécanique dynamique du Modèle Numérique de Tenségrité Viscoélastique (MNTV)	page 53
III-1 – Equations de la mécanique	page 53
1) Solution du problème homogène équivalent	page 54
2) Solution particulière de l'équation différentielle globale	page 55
3) Solution générale de l'équation différentielle globale	page 56
III-2 – Méthode de résolution numérique	page 56
IV – Analyse adimensionnelle du comportement mécanique du Modèle de Tenségrité Viscoélastique (MTV)	page 59
Partie C : Description du protocole expérimental pour la mesure de la réponse en fréquence du cytosquelette testée par magnétocytométrie	page 61
I – Description du banc de magnétocytométrie (MTC)	page 62
II – Transformation du dispositif expérimental	page 65

III – Description du protocole expérimental	page 68
Partie D : Caractérisation mécanique des modèles de tenségrité : résultats théoriques et expérimentaux – synthèse	page 72
I – Résultats issus des simulations sur les modèles numériques de tenségrité viscoélastique	page 74
I-1 – Simulations de tests de fluage du Modèle de Tenségrité Viscoélastique (MTV) en petites déformations	page 75
I-1-1) Effets de la répartition anisotrope des tensions dans les éléments constitutifs du MTV sur ses propriétés viscoélastiques globales	page 75
I-1-2) Analyse de l'effet d'échelle (taille L^*) et de la tension interne (T^*) sur les propriétés viscoélastiques du MTV	page 81
a) Rôle de la taille de la structure	page 85
b) Rôle de la tension interne de la structure	page 86
c) comparaison avec les résultats en statique avec des modèles équivalents purement élastiques : rôle des conditions d'ancrage	page 86
I-1-3) Récapitulatif	page 88
I-2 – Simulations de tests de fluage sur le MTV en grandes déformations	page 89
I-3 – Simulations d'oscillations forcées	page 91
I-3-1 – Dépendance des propriétés viscoélastiques en fonction de la fréquence imposée	page 91
I-3-2 – Rôle des paramètres locaux L^* et T^* sur les propriétés viscoélastiques du MTV sous sollicitation harmonique	page 99
a) Relations E^* - T^*	
b) Relations E^* - L^* ou effet d'échelle	
II – Résultats expérimentaux sur le modèle physique de tenségrité viscoélastique	page 106
III – Synthèse	page 109
Partie E : Discussion générale	page 112
I – Rôle de la viscoélasticité structurale dans le comportement mécanique de la cellule adhérente	page 113
II – Comparaison avec un autre modèle structural de la réponse	

mécanique cellulaire	page 124
III – Effet d'échelle de la taille de la sonde comme explication possible des divergences observées dans les résultats expérimentaux obtenus par micromanipulations cellulaires	page 134
Conclusion générale	page 138
Liste de publications	page 143
ANNEXE A1 – Élément rhéologique de type « Voigt »	page 145
ANNEXE A2 – Etablissement du modèle mathématique pour la résolution de la solution analytique en fluage	page 159
ANNEXE A3 – Définition du problème mécanique et résolution par un code de calcul numérique utilisant la méthode NSCD	page 163
ANNEXE A4 – Détection Synchrone et Magnétocytométrie	page 173
ANNEXE A5 – Validation de l'application de la méthode NSCD à l'étude de la réponse viscoélastique des modèles de tenségrité viscoélastiques	page 176
ANNEXE A6 – De l' <i>hystérésivité</i>	page 179
ANNEXE A7 – Calcul des propriétés viscoélastiques du CSQ à partir de données biologiques pour les modèles de tenségrité viscoélastique et de solide alvéolaire viscoélastique	page 181
Références	page 185

Introduction générale

Le corps humain est constitué de tissus et d'organes (poumon, cœur, rein, squelette osseux, muscles, œil, etc.) représentant autant d'entités anatomiques et physiologiques aux fonctions spécifiques très variées bien qu'issues d'une seule et même cellule initiale. Cette spécialisation est l'aboutissement d'un processus de développement long et complexe dont on sait maintenant qu'il met en jeu le microenvironnement cellulaire (Matrice Extracellulaire ou MEC et cellules voisines) et les interactions biochimiques, physico-chimiques et mécaniques avec celui-ci. L'exemple du développement pulmonaire permet d'illustrer ce processus : il est notoirement connu que l'absence de mouvements respiratoires intra-utérins et de distensions mécaniques (induites par les fluides remplissant le poumon fœtal) entraîne une immaturité (hypoplasie) pulmonaire et qu'à l'inverse, des distensions mécaniques induites sur le poumon fœtal entraîne une surmaturation cellulaire (vieillesse accélérée des cellules épithéliales alvéolaires caractérisé par la transformation des pneumocytes de type II en type I) [Wirtz et coll. 2000 ; Benachi et coll. 1998].

Si la cellule constitue, selon l'approche biologique classique, l'unité structurale et fonctionnelle commune à l'organisation de tout être vivant – il s'agit de la plus petite entité de matière vivante qui puisse vivre isolée et se reproduire – il n'en demeure pas moins que ses fonctions biologiques (différenciation, apoptose ou mort cellulaire programmée, prolifération, signalisation, mouvement des chromosomes, migration, contractilité, remodelage de la MEC, etc.) sont sous le contrôle étroit du microenvironnement cellulaire. Ce type de considération fondamentale a amené D. Ingber de Harvard School of Public Health (Boston) [Ingber et coll. 1985 ; Ingber 1993], relayé par les bio-ingénieurs N. Wang [Wang et coll. 1993] et D. Stamenovic [Stamenovic et coll. 1996] à substituer un modèle architectural de type « structure de tensegrité » au modèle cellulaire classique en biologie cellulaire (à savoir un milieu continu diphasique

constitué d'une membrane élastique, éventuellement sous tension, entourant un fluide visqueux ou viscoélastique : le cytosol). En France et plus largement en Europe, une telle approche structurale pour la cellule a démarré avec les travaux de thèse de S. Wendling [Wendling et coll. 1999]. Les résultats obtenus ces dernières années n'ont fait que confirmer le lien physique étroit (moléculaire) entre le microenvironnement et la cellule. Ainsi, par exemple, un ensemble de travaux récents a démontré, pour les cellules nucléées (ou eucaryotes), la liaison mécanique existant entre les récepteurs transmembranaires liés à la MEC et le noyau où se retrouvent notamment les chromosomes porteurs du message génétique. Ce lien physique entre le milieu extracellulaire et le noyau est réalisé par le cytosquelette, structure de polymères finement interconnectés, qui par ailleurs donne la forme cellulaire et assure la stabilité d'une cellule sur son substrat [Maniotis et coll. 1997 ; Ingber et coll. 1985 ; Janmey 1998]. Cette vision globale d'un cytosquelette interne en auto-équilibre avec le substrat et les cellules voisines n'est toutefois pas suffisante. Les modèles cellulaires les plus récents considèrent que ce cytosquelette interne est également en équilibre avec la composante sous-membranaire du cytosquelette qui assure la tension interne de la membrane cellulaire ou membrane (cyto)plasmique constituée d'une double couche lipidique. Il apparaît des sous structures cytosquelettiques qui ont leurs propres tension interne et propriétés mécaniques. Il revient à V. Laurent d'avoir proposé dans son travail de thèse une analyse quantifiée et structurale des propriétés mécaniques de ces deux composantes fondamentales du cytosquelette [Laurent et coll. 2002a, 2002b]. Si la contribution du noyau aux propriétés mécaniques d'une cellule adhérente (type endothéliale) a été récemment étudiée [Caille et coll. 2001], de nombreux points restent encore à élucider concernant la contribution des éléments composant le cytoplasme (organites comme le réticulum endoplasmique, les mitochondries, etc.) ainsi que ceux conférant à la membrane cellulaire sa tension interne et sa résistance à la déformation sous l'action des forces osmotiques ou mécaniques.

L'intérêt du concept de tenségrité est, d'après ses propres inventeurs et en premier lieu B. Fuller [Fuller 1975], de permettre une analyse basée sur l'équilibre interne entre un réseau continu d'éléments en tension et un réseau discontinu d'éléments en compression, quelles que soient la nature et l'échelle des éléments constitutifs. Ainsi, depuis l'échelle du corps humain avec sa structure discrète d'os travaillant en compression sous l'effet du réseau continu des nombreux éléments en tension (muscles, tendons et ligaments) jusqu'à la cellule dans son environnement mécanique, les systèmes vivants peuvent être analysés à partir de structures de tenségrité imbriquées et hiérarchisées. L'autostabilité de la structure peut être vérifiée à l'échelle du corps entier en constatant qu'une rupture d'un tendon entraîne une perte du contrôle local mais ne compromet pas la stabilité de l'ensemble du corps [Ingber et coll. 2000]. La hiérarchisation des structures vivantes peut être illustrée par le cas de la respiration qui est induite par la contraction des muscles du cou et des intercostaux, le déplacement des côtes vers l'extérieur du thorax, l'augmentation du volume pulmonaire, l'ouverture des alvéoles, le relâchement des bandes d'élastine, le raidissement des fibres de collagène qui étaient en flambement et, enfin, le raidissement de la membrane pulmonaire basale transmis aux cellules adhérentes et à leur cytosquelette. En situation normale, ces déplacements cycliques complexes et interdépendants n'entraînent aucune rupture des tissus et la déformation est presque totalement réversible. Ce processus de déformation est dynamique et constant dans le temps (pas de rupture à la fatigue). Le concept de tenségrité permet d'expliquer ces grandes déformations multi-échelles sans rupture. Il est clair, toutefois, que les phénomènes de déformation au niveau micrométrique y compris dans leur composante irréversible (viscoélastique) sont les moins bien connus et méritent une attention particulière qui a orienté ce travail de thèse.

Le cytosquelette (ou squelette cellulaire) est une structure tridimensionnelle complexe issue de l'assemblage, à différents niveaux, de biopolymères filamenteux interconnectés. Il en existe trois classes : les filaments d'actine ou microfilaments (encore appelés actine-F), les

microtubules et les filaments intermédiaires. Ce réseau de biopolymères présente les caractéristiques d'une charpente tridimensionnelle permettant à la cellule de se déformer, d'adapter sa forme en fonction des forces mécaniques venues de l'environnement tridimensionnel qui caractérisent les conditions *in vivo*. En effet, les cellules endothéliales tapissant les vaisseaux sanguins subissent des efforts d'étirement, de compression et de cisaillement au passage du flux sanguin. De même, les cellules pulmonaires sont soumises à des déformations complexes parfois importantes au cours de la respiration, du fait des amples mouvements des tissus ; ces tensions mécaniques pouvant entraîner des ruptures tissulaires et devenir de véritables « agressions » mécaniques dans les cas pathologiques et/ou induits par une ventilation mécanique baro-traumatisante [Dos Santos et coll. 2000].

L'objet de la présente étude est d'analyser et de caractériser le rôle de la redistribution spatiale des éléments du cytosquelette sur la réponse dynamique de la cellule adhérente (notamment en terme d'énergie dissipée) lorsqu'elle est soumise à différents types de contraintes mécaniques extérieures. Comparé aux précédentes études conduites dans des conditions quasi-statiques, il s'agit ici d'éclairer le concept de viscosité structurale et de comparer avec les diverses mesures expérimentales effectuées sur cellules adhérentes dans des conditions variées de micromanipulation cellulaire. Ce concept de viscosité structurale du CSQ a été abordé ici par la seule prise en compte des propriétés visqueuses des filaments cytosquelettiques, sans considérer d'éventuels phénomènes de dissipation énergétique pouvant avoir lieu dans leur interconnexion ; l'analyse du rôle des liaisons entre filaments du CSQ dans ce concept de viscosité structurale, restant en effet à documenter davantage, est proposée pour des études ultérieures. Deux approches parallèles et complémentaires ont ainsi été suivies : une approche modélisation utilisant un modèle structural de cytosquelette basé sur un modèle de tenségrité viscoélastique, semblable aux modèles de tenségrité purement élastiques qui jusqu'alors n'avaient été étudiés qu'en conditions quasi-statiques, et une partie expérimentale sur des cultures de cellules

épithéliales adhérentes évaluées par la technique de magnétocytométrie oscillante développée au laboratoire. Cette première partie de l'étude a d'abord nécessité une résolution numérique puis des simulations numériques validées par quelques expériences sur banc avec un modèle physique de structure de tensegrité équivalent à celui étudié numériquement. Les résultats sont obtenus dans des conditions où les éléments sont passifs et non actifs comme dans la réalité biologique. Ils sont comparés à ceux obtenus par d'autres modèles de structure comme le modèle de solide alvéolaire viscoélastique dérivant de la théorie des mousses. En effet, de nombreuses expériences effectuées en statique sur des cultures de cellules (épreuves de fluage ou de relaxation) ont montré le caractère temporel de la réponse mécanique cellulaire qui se trouve caractérisée par une composante dissipatrice associée à des effets de viscosité prenant naissance dans chaque élément mais modulés par la redistribution spatiale associée à la déformation structurale. Parallèlement, les études récentes effectuées sur des cellules en conditions dynamiques (oscillations imposées) ont montré que les propriétés viscoélastiques des cellules testées expérimentalement sont dépendantes de la fréquence imposée par le chargement, ces résultats suggérant l'existence de phénomènes de couplage (via la structure) entre les propriétés élastiques et les propriétés visqueuses qui n'ont encore jamais été démontrés pour les modèles de tensegrité.

Après avoir décrit biologiquement et mécaniquement la cellule adhérente interagissant avec son micro son environnement et son cytosquelette, ainsi que les différents modèles développés lors des études en biomécanique cellulaire (Partie A), l'étude du comportement mécanique de modèles de tensegrité viscoélastiques du cytosquelette testés par simulations numériques est présentée suivant deux démarches : par un calcul analytique matriciel suivant une méthode incrémentale linéarisée en utilisant un logiciel commercial (Matlab©) et par la méthode dynamique du contact non régulier (ou méthode NSCD) qui est appliquée de façon quelque peu originale à l'étude de structures de tensegrité en utilisant un code de calcul (LMGC) destiné au préalable à l'étude en dynamique du contact frottant (Partie B [Jean 1999]). La Partie C décrit la

technique expérimentale de magnétocytométrie oscillante pour l'étude du comportement mécanique en fréquence de cellules adhérentes en culture, l'ensemble des résultats étant présentés dans la partie D qui présente aussi une étude expérimentale sur un modèle physique qui a permis de valider le modèle numérique. Une discussion globale sur l'interprétation biologique de ces résultats est développée dans la partie E, la conclusion générale ainsi que les perspectives ouvertes par la présente étude étant finalement exposées dans la dernière partie du présent mémoire.

Partie A : Les modèles du comportement mécanique de la cellule adhérente dans son microenvironnement – Etat de l’art

Ce chapitre bibliographique se présente en deux grandes parties :

La première décrit la cellule nucléée, adhérente en conditions *in vivo* à une matrice extracellulaire avec laquelle elle interagit chimiquement et mécaniquement. Un accent particulier est mis sur la description du cytosquelette (CSQ) dont l’organisation structurale et multi compartimentée fournit à la cellule adhérente une charpente tridimensionnelle, impliquée dans la forme et la stabilisation cellulaires, la structure cytosquelettique jouant un rôle fondamental dans la réponse mécanique de la cellule.

La seconde partie de ce chapitre présente de manière non exhaustive une revue des propriétés viscoélastiques de cellules vivantes en culture testées d’une part expérimentalement par différentes techniques de micromanipulation (paragraphe II-1) et interprétées, d’autre part, à l’aide de différents modèles théoriques (paragraphe II-2). Ces modèles, développés pour la quantification et l’analyse de la réponse mécanique cellulaire, se répartissent en deux grandes catégories : les premiers modèles, qui datent du milieu du siècle dernier et issus de la mécanique des milieux continus puis, plus récemment, sont apparus les modèles structuraux dont notamment les modèles de tenségrité (partie II-2-3) pour décrire le comportement mécanique des cellules vivantes en interaction avec leur microenvironnement.

I – Description de la cellule adhérente dans son microenvironnement

La *cellule* est la plus petite portion biologique capable de se reproduire et représente ainsi une entité unitaire à travers laquelle s'organise la vie. Véritable brique constituant l'édifice de tout être vivant, elle existe sous deux principales formes dans le règne animal : nucléée ou sans véritable noyau. La cellule nucléée (*eucaryote*) est hautement structurée et en son sein se trouve un *noyau* bien défini, délimité par une *membrane nucléaire* et contenant le message génétique porté par les *chromosomes*. C'est le cas de la plupart des types cellulaires du corps humain, comme les cellules épithéliales, endothéliales, gliales, les neurones, etc. Pour sa part, la cellule sans noyau défini (*procaryote*), dont les bactéries sont le prototype, n'a pas de réelle structure interne. Le champ d'application de la présente étude est centré sur la cellule nucléée qui présente une organisation interne structurée et qui adhère, en conditions *in vivo*, à une *matrice extracellulaire* ainsi qu'aux cellules voisines composant son microenvironnement immédiat, avec lequel elle interagit mécaniquement.

I-1 – Organisation globale de la cellule adhérente

Au cours de sa vie, la cellule suit un cycle qui se décompose en plusieurs phases, en particulier des phases de préparation à la division cellulaire et la division elle-même (phases de prolifération) ainsi qu'une phase d'apparente « latence » au cours de laquelle la cellule a une activité métabolique en apparence « faible » et atteint une organisation interne « stable » au regard des autres stades du cycle (phase de différenciation cellulaire) [Cau et coll. 2001]. Cette dernière phase est, de toutes, la plus longue dans le temps et constitue le champ d'application de la présente étude. En effet, l'organisation interne à la cellule diffère complètement entre les diverses phases : au cours des phases de division, certains filaments cytoplasmiques (les microtubules) rayonnent depuis deux centrosomes, formant les deux faisceaux mitotiques permettant de séparer

les chromosomes après la duplication de l'ADN, tandis que d'autres protéines cytoplasmiques (en particulier l'actine) s'organisent très rapidement de façon à ramener la membrane cytoplasmique vers le milieu de la cellule « mère » puis à scinder la membrane pour permettre la division en deux cellules « filles ». A l'opposé, au cours de la phase de différenciation, le cytoplasme atteint une autre organisation dont la stabilité structurale permet à la cellule de remplir la plupart des fonctions biologiques pour lesquelles elle est génétiquement programmée (expression de certains gènes, synthèse protéique, migration, etc.) [Cau et coll. 2001].

La cellule adhérente est constituée d'une *membrane cytoplasmique* (ou *plasmique*) délimitant le milieu extracellulaire du milieu intracellulaire, d'un *cytoplasme* situé entre le noyau et la membrane plasmique ainsi que du noyau séparé du milieu intracellulaire par la membrane nucléaire. Au niveau de la membrane cytoplasmique se trouvent des complexes moléculaires composés de molécules transmembranaires (intégrines, cadhérines, VCAM, ICAM, etc.) qui représentent un nombre fini de liens physiques directs entre le cytoplasme et le milieu extracellulaire ; ce sont les points d'ancrage de la cellule adhérente à son voisinage immédiat, appelés *point focaux d'adhérence* ou *plaques d'adhésion*. En effet, la cellule n'adhère pas de façon continue sur l'ensemble de sa surface en contact avec la matrice extracellulaire et/ou les cellules environnantes mais de façon discrète, spécifiquement en ces points focaux d'adhérence.

Le cytoplasme est composé d'un fluide visqueux appelé *cytosol* dans lequel baignent divers organites, parmi lesquels on retrouve les *mitochondries*, le *réticulum endoplasmique*, l'*appareil de Golgi* ainsi que le *cytosquelette* (CSQ). Ce dernier représente une véritable charpente pour la cellule adhérente et constitue un continuum physique entre les points focaux d'adhérence et le noyau. Le CSQ se présente sous la forme d'une structure tridimensionnelle complexe, assurant un lien physique entre le noyau et les récepteurs membranaires, et principalement formée de trois types

de filaments, véritables *biopolymères* issus de l'assemblage de macro-protéines, interagissant entre eux [Maniotis et coll. 1997 ; Janmey 1998] :

- les *filaments d'actine (actine-F)* ou *microfilaments*, polymères d'un diamètre moyen de 5 nm et d'une longueur moyenne de l'ordre du micromètre. Polarisés, ils montrent une dynamique biologique au sens où ils sont engagés dans un double processus de polymérisation à une extrémité du filament et de dépolymérisation à l'autre extrémité. Les microfilaments s'organisent en sous-réseaux qui diffèrent structurellement en fonction de leur localisation dans la cellule [Cheng et coll. 2000 ; Katoh et coll. 2001].

- les *microtubules*, fibres creuses polymériques constituées de monomères de *tubuline*, de diamètres extérieur de 30 nm et intérieur de 18 nm, d'une longueur variant entre 2,5 et 10 μm dans le cas des cellules endothéliales et musculaires, et pouvant atteindre 20 μm dans le cas des cellules nerveuses. De même que pour les filaments d'actine, les microtubules se polymérisent et se dépolymérisent continuellement, et montrent une plus grande « instabilité » biochimique au regard des autres types de filaments cytosquelettiques. Il a, en effet, été observé que les microtubules peuvent facilement se désagréger en fonction de l'état d'adhésion de la cellule, bien que les points focaux d'adhérence semblent participer à leur stabilisation [Kaverina et coll. 1998].

- les *filaments intermédiaires*, polymères d'un diamètre de 11 μm , dimension « intermédiaire » entre celle des microfilaments et celle des microtubules. Il n'est pas totalement établi qu'un processus de polymérisation/dépolymérisation existe réellement dans ces filaments qui semblent ainsi biochimiquement plus « stables » que les deux autres principaux composants du CSQ [Coulombe et coll. 2000].

Ces trois sous-réseaux filamenteux s'organisent en interagissant entre eux et en générant une tension interne au cytosquelette [Harris et coll. 1980 ; Heidemann et coll. 1990]. En effet, Harris a cultivé des fibroblastes sur un substrat déformable (silicone) et a observé que celui-ci se plissait au niveau des zones d'adhésion des cellules, indiquant l'existence d'une tension interne

aux cellules qui s'exerce sur le substrat [Harris et coll. 1980]. Pour sa part, Ingber a mis en évidence le lien intime entre la structure du CSQ et la forme globale de la cellule ainsi que l'importance du réarrangement spatial des filaments du CSQ en cours de déformation globale cellulaire [Ingber et coll. 1985]. Ainsi, les filaments du CSQ se réorganisent et génèrent des forces de tension en divers endroits du cytoplasme, permettant la migration de la cellule sur son substrat. Plus globalement, le cytosquelette possède une organisation spécifique multi compartimentée dont chaque compartiment possède une composition et un rôle mécanique qui lui est propre. Cette organisation structurale et la forme globale de la cellule revêtent une importance fondamentale dans les grandes fonctions cellulaires [Cau et coll. 2001].

I-2 – Organisation structurale du cytosquelette

De nombreux auteurs ont montré que le comportement mécanique de la cellule adhérente est essentiellement dominé par les propriétés rhéologiques et structurales de son CSQ [Ingber 1993 ; Wang et coll. 1993 ; Janmey 1998]. En particulier, il semble exister un lien étroit entre l'organisation architecturale des filaments du CSQ et la réponse mécanique cellulaire. Par exemple, les courts filaments d'actine couplés à des molécules comme la tropomyosine et la myosine II, constituant un fin réseau sous-membranaire (*le cortex cellulaire*), fournissent à la cellule une tension corticale et lui permettent de s'adapter très rapidement, en particulier dans les mouvements cellulaires ainsi que dans des processus locaux impliquant des réactions brèves comme l'*endocytose* [Albrecht-Buehler 1987 ; Hartwig et coll. 1986 ; Bennett 1985 ; Bretscher 1991 ; Fox et coll. 1988 ; Cheng et coll. 2000]. A l'opposé, les longs filaments hautement polymérisés, constituant la partie plus interne du cytosquelette, permettent de garantir une stabilité globale de la cellule, condition essentielle pour qu'elle puisse remplir pleinement son rôle biologique en interaction avec son milieu environnant [Maniotis et coll. 1997 ; Ingber 1985]. Par ailleurs, lorsqu'une cellule eucaryote n'adhère pas à un substrat, elle prend une forme arrondie et

son cytosquelette s'organise essentiellement au niveau du cortex cellulaire, sans réelle structure définie dans la partie profonde du cytoplasme. Aussi, il paraît fondamental de comprendre le rôle de l'organisation structurale du cytosquelette dans le comportement mécanique des cellules interagissant avec le microenvironnement.

I-2-1 Le réseau d'actine

L'actine s'organise en différentes sous-structures cytosquelettiques, chacune étant pourvue d'une organisation caractéristique dépendant de sa localisation dans le cytoplasme (voir figure A1) et associée à des spécificités biologiques ainsi que mécaniques [Cheng et coll. 2000 ; Kano et coll. 1996 ; Katoh et coll. 1995, 2000, 2001]. Parmi les différentes structures d'actine-F, les plus citées sont les *lamellipodes* et *filopodes*, le réseau cortical assemblé en un fin entrelacement de courts microfilaments plus particulièrement situé sous la membrane cytoplasmique (*cytosquelette cortical d'actine*) et des arrangements en faisceaux de tension hautement polymérisés dont les *fibres de tension*.

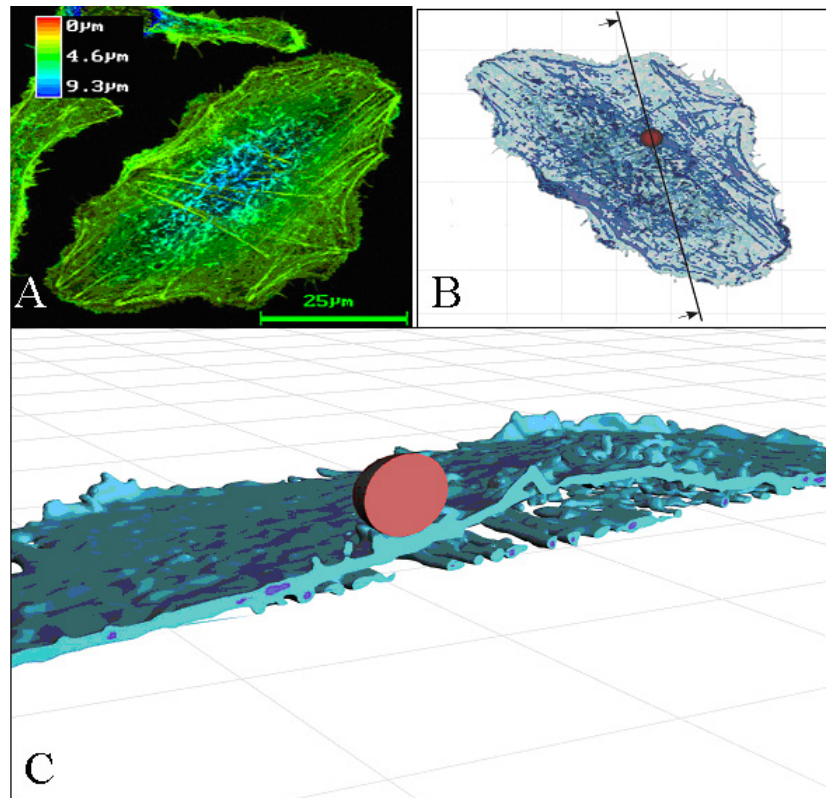


Figure A1 : Image de fibres de tension et de filaments d'actine (actine-F marquée à la GFP) d'une cellule épithéliale (lignée A549) en microscopie confocale (A) ; le code de couleur correspond à la hauteur depuis la face basale (en rouge) jusqu'à la face apicale (en bleu) de la cellule. Reconstruction 3D des réseaux cortical (bleu ciel) et profond (bleu foncé) d'une cellule épithéliale (A549) à partir de coupes en microscopie confocale (B). Coupe transversale issue de l'image (B) montrant l'organisation des fibres de tension lesquelles ressemblent littéralement à de véritables câbles. Images provenant de l'INSERM U492.

1) Le réseau profond de fibres de tension (ou fibres de stress)

Les fibres de tension sont composées de filaments d'actine couplés à des filaments de myosine et constituent de véritables prototypes des sarcomères, unités contractiles des cellules musculaires [Katoh et coll. 1998, 2001]. D'une longueur pouvant varier de 2,5 μm à quelques dizaines de micromètres *in vivo* et jusqu'à près de 130 μm *in vitro*, les fibres de tension ont une épaisseur moyenne de 0,1 μm et leur nombre peut varier de quelques dizaines à plusieurs

centaines par cellule [Katoh et coll. 2000]. On les retrouve principalement près de la face basale cellulaire où elles garantissent stabilité et coordination de l'ensemble de la cellule adhérente en se liant à leurs deux extrémités aux intégrines [Ingber et coll., 1993; 1994; 1997]. Elles s'organisent principalement de deux façons spécifiques : en fibres « centrales », traversant rectilignement de part en part la face basale et en fibres « périphériques », présentant une courbure vers le centre de la cellule qui pourrait suggérer l'existence d'une tension tendant à les « attirer » vers l'intérieur (voir figure A1 et [Kano et coll. 1996 ; Katoh et coll. 1995]). En outre, il apparaît que ces deux types d'organisation (« centrale » et « périphérique ») de fibres de tension en apparence structurellement et biochimiquement semblables sont associés à des contrôles biologiques distincts, suggérant des fonctions biochimiques et/ou mécaniques spécifiques : les fibres « centrales » sont essentiellement régulées par des protéines appelées Rho-kinases tandis que les « périphériques » sont plutôt sensibles aux Myosin Light Chain Kinases (MLCK) [Katoh et coll. 2001]. Par ailleurs, Katoh et coll. en 1995 et 2000 ainsi que Kano et coll. en 1996 ont montré l'existence de fibres de stress reliant les faces apicale et basale de la cellule adhérente, certaines même présentant la forme d'arches dont la base est reliée à la face basale aux intégrines et le sommet à la face apicale cellulaire à travers des connexions à des complexes moléculaires transmembranaires semblables aux intégrines.

2) Le réseau périphérique ou réseau cortical d'actine

Le réseau cortical d'actine diffère grandement dans son organisation ainsi que dans sa composition par rapport au réseau plus profond de fibres de tension. Il est, en effet, composé de très nombreux microfilaments courts, d'une longueur moyenne de l'ordre de la centaine de nanomètre, de 10 nm de diamètre et sont au nombre de 10^4 à 10^5 filaments (estimation à partir de Cheng et coll. 2000). Ces microfilaments courts sont connectés à d'autres protéines qui régulent leur organisation (spectrine, tropomyosine, myosine II...) ainsi qu'à la membrane cellulaire à

laquelle ils fournissent sa topologie [Hartwig et coll. 1986 ; Bennett 1985 ; Fox et coll. 1988 ; Lodish et coll. 1999 ; Wachsstock et coll. 1994]. De plus, ce cytosquelette cortical semble intimement impliqué dans de nombreuses fonctions cellulaires associées à la membrane cytoplasmique (endocytose, excrétion, ouverture de canaux ioniques...) [Bretscher 1991 ; Hamill et coll. 2001]. Dans les cellules adhérentes, ce réseau cortical se présente sous la forme d'une fine structure tridimensionnelle polygonale de quelques centaines de nanomètres d'épaisseur (voir figure A1) et semble essentiellement présent au niveau de la face apicale [Cheng et coll. 2000]. Cependant, d'autres auteurs ont montré qu'un fin réseau d'actine-F pouvait également se trouver ailleurs dans le cytoplasme, par exemple en périphérie des fibres de stress [Katoh et coll. 2000 ; Cheng et coll. 2000].

De même, lors du processus de migration, la cellule déploie des lamellipodes et filopodes qui sont des extensions membranaires constituées de courts filaments d'actine organisés en une structure tridimensionnelle de petite taille au regard de la dimension de la cellule (de l'ordre de la dizaine de micromètres) [Yamada et coll., 2000].

I-2-2 Le réseau de microtubules

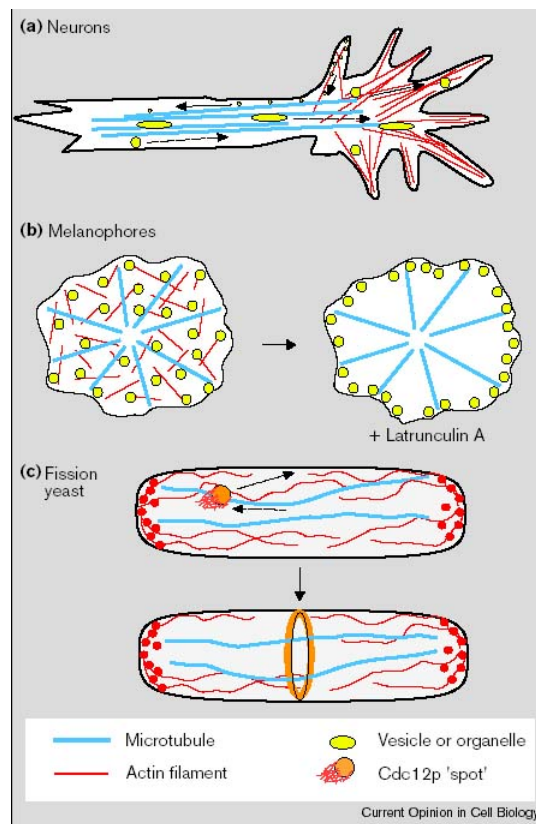


Figure A2 : Exemples d'organisation de microtubules au sein de divers types cellulaires (neurone en (a), mélanophore de poisson (b)) en interaction avec le réseau cytosquelettique d'actine. Il est à noter que les microtubules et les filaments d'actine coopèrent le transport de vésicules intracellulaires. Reproduction d'après Goode et coll. 2000.

Les microtubules d'une cellule adhérente s'organisent en rayonnant vers la membrane cytoplasmique, à partir du *centrosome* situé près du noyau [Cau et coll. 2001]. Il peut exister plusieurs centrosomes au sein d'une cellule adhérente, notamment lors de la division cellulaire. Cette organisation radiale des microtubules associée à leur dynamique biologique participe grandement à la signalisation intracellulaire (voire figure A2). En effet, des éléments cytoplasmiques (mitochondries, vésicules...) liés à un monomère de tubuline « utilisent » le processus de polymérisation/dépolymérisation d'un microtubule pour rejoindre des régions

éloignées du cytoplasme plus rapidement que par simple diffusion. Par ailleurs, il semble que les microtubules soient connectés à l'actine-F par des protéines spécifiques de liaison, en formant des angles particuliers, et que leur interaction contribue à fournir une tension interne (ou tonus cellulaire) et une architecture stable aux eucaryotes [Kaverina et coll. 1998 ; Goode et coll. 2000 ; Harris et coll. 1980 ; Ingber et coll. 1985]. Il a également été observé des connexions complexes entre une extrémité des microtubules et des plaques d'adhésion où sont aussi liées des fibres de tension présentant elles-mêmes des ponts moléculaires avec ces microtubules [Kaverina et coll. 1998]. De façon générale, microtubules et actine-F sont associés dans de nombreuses fonctions cellulaires (voir figure A2 et Goode et coll. 2000).

I-2-3 Le réseau de filaments intermédiaires

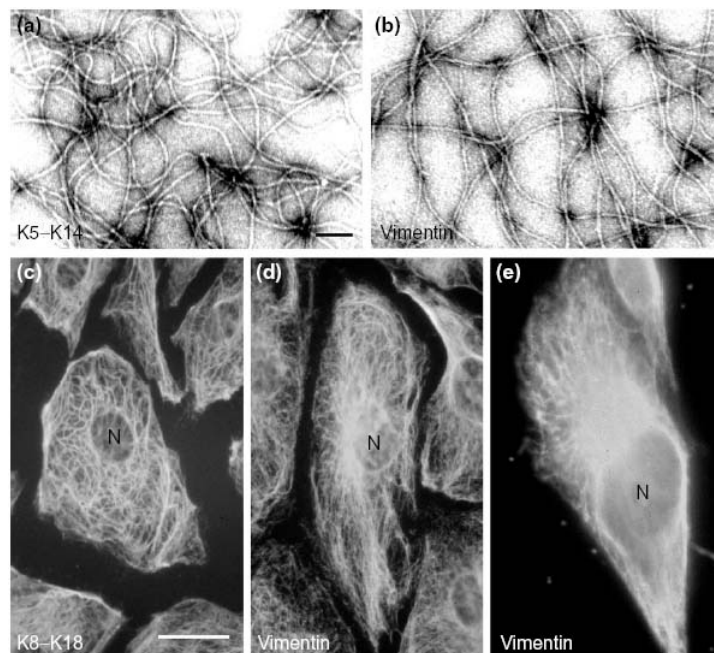


Figure A3 : Exemples de filaments intermédiaires. Structure polymérique et architecture de réseaux de filaments intermédiaires reconstitués *in vitro* (a, b). Filaments intermédiaires (K8-K18 en (c) et vimentine en (d)) présents dans les cellules épithéliales (PtK2) du rein. Filaments de vimentine dans une cellule épithéliale du rein de hamster (e). Reproductions d'après Coulombe et coll. 2000.

Le rôle biologique des filaments intermédiaires (voir figure A3) est moins bien connu que celui des deux autres types de composants du CSQ et de nombreuses études sont en cours pour comprendre leur comportement ainsi que leur fonction. Suivant le type cellulaire, les filaments intermédiaires se déclinent en différentes familles dont les filaments de kératine, les filaments de desmine, les filaments de vimentine ou encore les neurofilaments. La kératine forme un « manteau » autour du noyau contribuant à le stabiliser au centre de la cellule. La kératine se retrouve aussi organisée en un réseau tendu entre les plaques d'adhérence, participant à la stabilité cellulaire. Les filaments de desmine relient latéralement les fibres de myosine aux disques Z et ces derniers à la membrane cytoplasmique des cellules musculaires. La vimentine est, elle aussi, très présente autour du noyau des fibroblastes qu'elle contribue ainsi à maintenir vers le centre de la cellule. Desmine et vimentine coexistent dans les cellules musculaires et non musculaires, de même que kératine et vimentine sont associées dans les cellules épithéliales. De manière générale, les filaments intermédiaires semblent impliqués dans la stabilité cytoplasmique et l'adhésion cellulaire mais ils peuvent aussi former une sorte de structure de soutènement autour des microtubules empêchant leur flambement et contribuant ainsi à les rigidifier [Brodland et coll. 1990].

II – Propriétés mécaniques de la cellule adhérente dans son microenvironnement

Les grandes fonctions biologiques de la cellule dépendent fortement de son environnement physique. Des cellules adhérentes soumises à des contraintes mécaniques extérieures peuvent être activées dans leur processus de prolifération et de migration lors du

mécanisme de cicatrisation d'une blessure. A l'opposé, en l'absence de forces externes, ces mêmes cellules ne pouvant adhérer normalement tendent à s'arrondir et un certain nombre d'entre-elles activent un processus de mort programmée appelé *apoptose*. La forme arrondie correspond à la situation où trop de cellules sont en concurrence sur la matrice extracellulaire ; certaines doivent mourir pour empêcher une prolifération incontrôlée et la formation d'une tumeur [Ingber 1998]. Ces observations sur l'intime lien entre forme, structure et fonction des cellules ont amené les biologistes et biomécaniciens à s'intéresser à la rhéologie cellulaire et à déterminer des lois de comportement mécanique des cellules pour tenter de les coupler avec les réponses biologiques et biochimiques associées, comme l'activation des canaux de la membrane cytoplasmique permettant le passage d'ions calcium Ca^{2+} en réponse à un stimulus mécanique extérieur.

II-1 – Revue des propriétés mécaniques de cellules vivantes testées expérimentalement

Pour appréhender la réponse mécanique de la cellule vivante et déterminer les principaux paramètres caractéristiques mis en jeu, les chercheurs ont développé depuis près d'un demi siècle plusieurs techniques expérimentales de micromanipulation de cellules vivantes. Les plus fréquemment citées sont la micropipette, les procédés magnétiques dont la magnétocytométrie, les pinces optiques, les microplaques et la microscopie à force atomique ainsi que l'indentation. Ces expérimentations de la réponse mécanique de la cellule ont été effectuées sur différents modèles cellulaires biologiques (cellules isolées en suspension, cellules isolées adhérentes, mono couche cellulaire adhérente, macrophages migrant sur un tapis cellulaire, etc.). Ces techniques expérimentales se différencient notamment par le type d'effort et/ou de déformation appliqué,

par la vitesse de chargement et/ou de déformation ainsi que par la forme et la taille de la sonde. Les modèles cellulaires testés proposent une vaste gamme de configurations morphologiques associées à différentes conditions environnementales et intracellulaires (adhérence, migration, maturité, présence de certaines drogues modifiant la structure interne du CSQ, etc.). En parallèle, divers modèles rhéologiques théoriques ont été développés pour l'interprétation des résultats expérimentaux.

II-1-1 – Propriétés mécaniques globales de la cellule

La plupart des résultats issus des expériences de micromanipulation montre que la cellule vivante est un « matériau » viscoélastique, tantôt considéré comme « fluide » (en particulier pour les cellules en suspension testées par micropipette), tantôt comme « solide » lorsqu'elle adhère à une matrice extracellulaire. Ainsi, Ragsdale et coll. ont approché des résultats obtenus *in vitro*, par microscopie fluorescente, sur des fibroblastes Swiss 3T3 adhérant à un substrat par un modèle rhéologique de solide viscoélastique [Ragsdale et coll. 1997]. De même Laurent et coll. ont montré que les mêmes cellules épithéliales (lignée A549) s'écoulent comme un fluide dans la micropipette dans laquelle elles sont aspirées lorsqu'elles sont en suspension, tandis qu'elles ont une réponse mécanique de type solide si elles sont testées en mono couche adhérente par la technique de magnétocytométrie [Laurent et coll. 2000].

a) Paramètres caractéristiques de la viscoélasticité cellulaire

Il apparaît dans la littérature une forte diversité des résultats expérimentaux en terme de mesure des propriétés viscoélastiques des cellules. Les facteurs influents sont principalement la méthode utilisée et les conditions expérimentales, le type de cellule étudiée, le taux de contrainte

ou de déformation appliquée ainsi que la taille de la sonde utilisée expérimentalement pour appliquer des forces aux cellules en culture.

En effet, pour une culture de fibroblastes (Swiss 3T3), les résultats de module de viscosité obtenus selon trois méthodes différentes varient grandement : Mastro et coll. en 1984 estiment par une technique appelée *electron spin resonance* une viscosité comprise entre 2.10^{-3} et 3.10^{-3} Pa.s, résultat proche des 4.10^{-3} Pa.s obtenus par Luby-Phelps et coll. en 1986 par *FPR* mais très éloigné des $4 \cdot 10^5$ Pa.s mesurés par microscopie fluorescente par Ragsdale et coll. en 1997.

De même, pour des cellules épithéliales semblables, V.M. Laurent a montré que les valeurs de rigidité et de viscosité cellulaire varient grandement en fonction de l'adhésion cellulaire : lorsqu'elles sont non adhérentes et testées par micropipette, les cellules épithéliales montrent une rigidité et une viscosité respectivement 10 et 40 fois plus grande que lorsqu'elles sont testées en mono couche adhérente à un substrat par magnétocytométrie. En outre, Zaner et Valberg montrent que la viscosité décroît quand le taux de déformation augmente [Zaner et coll. 1989].

Par ailleurs, la réponse mécanique cellulaire dépend aussi grandement de la façon d'appliquer les contraintes à la cellule testée. En effet, Maniotis et coll. en 1997 ainsi que Ingber en 2000 ont montré que si les forces sont appliquées spécifiquement à la structure du CSQ via les récepteurs intégrines, il en résulte une redistribution spatiale des filaments cytosquelettiques et un étirement du noyau. De même, Mathur et coll. ont spécifiquement appliqué des forces aux points focaux d'adhésion de la face apicale par microscopie à force atomique (AFM) et ont observé en cours de chargement, par le biais d'un guide d'onde, d'une part une redistribution spatiale des plaques d'adhérence de la face basale et d'autre part des variations de l'aire de chacune de ces plaques [Mathur et coll. 2000a, 2000b]. Parmi les mécanorécepteurs possibles, les principaux mis

en avant sont les intégrines, les cadhérines, les ICAM et les VCAM. A l'opposé, aucun changement global de la structure interne du CSQ n'est observé lorsque les forces sont appliquées à d'autres récepteurs transmembranaires ou, plus généralement, à la membrane de façon non spécifique du CSQ. Dans ce cas, seule une réponse mécanique localisée au niveau de la sonde expérimentale est mesurée [Ingber et coll. 2000].

En outre, Valberg et Feldman précisent que la taille de la sonde (bille) influence la mesure. En particulier, une bille de petit diamètre par rapport aux grandeurs caractéristiques du maillage du réseau cytosquelettique pourrait révéler les propriétés mécaniques non seulement de la structure solide du cytosquelette mais aussi et surtout du fluide visqueux l'environnant [Valberg et coll. 1987]. De plus, en regroupant les valeurs de rigidité mesurées expérimentalement par différentes techniques sur divers types cellulaires, il apparaît un accroissement de cette valeur de rigidité mesurée avec la réduction de la taille de la sonde [Maksym et coll. 2000].

Pour résumer, des techniques expérimentales contrôlées sont indispensables, pour évaluer les propriétés mécaniques de l'ensemble de la cellule. Il s'agit notamment d'appliquer les forces (ou les déformations) directement à la structure cytosquelettique, responsable de la réponse mécanique cellulaire, tout en veillant à contrôler le maximum de paramètres comme la taille de la sonde expérimentale ou son degré d'immersion dans ce cytoplasme [Laurent et coll. 2002a].

b) Techniques expérimentales spécifique du CSQ

La magnétocytométrie fait partie de ces techniques spécifiques du cytosquelette. Elle dérive d'une méthode mise au point par Zaner qui utilise un procédé magnétique par lequel des contraintes mécaniques sont directement appliquées au CSQ de cellules en culture par le biais de microbilles ferromagnétiques connectées à la structure cytosquelettique [Zaner et coll. 1989]. Dans la technique de Zaner, des billes de l'ordre du centième du micron de diamètre sont

phagocytées par des macrophages et se trouvent ainsi en relation étroite avec des filaments d'actine. En effet, lorsqu'un corps « étranger » est phagocyté par des macrophages, il se retrouve littéralement encapsulé par une partie de la membrane cytoplasmique, cette capsule étant elle-même liée aux microfilaments. Ces billes magnétisées sont soumises à un gradient de forces magnétiques et la mesure de leur déplacement (translation) permet d'atteindre la rigidité du cytosquelette. En magnétocytométrie, des billes ferromagnétiques de diamètre plus grand (quelques microns) sont utilisées. Elles sont recouvertes d'un ligand spécifique à des récepteurs transmembranaires (les intégrines ou les cadhérines) eux-même connectés aux filaments d'actine du CSQ. L'ensemble de la culture cellulaire et des billes est soumis à un bref champ magnétique de haute intensité de sorte que ces microbilles se comportent comme des dipôles magnétiques. Ainsi, lorsque la culture de cellules avec les billes magnétisées (environ 10^5 billes pour 5.10^4 cellules, soit un rapport d'environ deux billes/cellule) est soumise à un champ magnétique de direction perpendiculaire à leur sens de polarisation, les billes sont contraintes à suivre un mouvement de rotation, entraînant l'ensemble de la structure du CSQ qui de fait se déforme [Wang et coll. 1993]. Les différentes études publiées portant sur la réponse mécanique cellulaire testée par magnétocytométrie montrent que la relation contrainte-déformation est non linéaire : la rigidité augmente avec le niveau de contrainte appliquée. De plus, cette rigidité est sensible à la présence de drogues spécifiques des filaments du cytosquelette, lesquelles peuvent faire chuter la tension interne à la structure ou détruire totalement le réseau de filaments cytosquelettiques [Wang et coll. 1994; Wendling et coll. 2000b]. En partant de l'hypothèse que les actine-F génèrent une tension interne, il a été montré que la rigidité cellulaire diminue pour des cultures cellulaires traitées à la *cytochalasine D* (*cyto-D*) (la pente de la relation « contrainte-déformation » décroît [Wang et coll. 1994]). La cyto-D est une drogue pharmaceutique empêchant la polymérisation des filaments d'actine ce qui a pour effet de réduire la tension interne au cytosquelette [Wendling et coll. 2000b]. De même, la destruction des microtubules ou des filaments intermédiaires diminue la rigidité cellulaire, dans une moindre mesure toutefois que lors du traitement par la cyto-D,

suggérant que l'actine-F est, des trois types de filaments cytosquelettiques, le principale responsable des propriétés élastiques de la cellule [Wang et coll. 1994]. Par ailleurs, en utilisant la même technique dans des conditions dynamiques (couples magnétiques cycliques), Maksym et coll. ont montré que le module d'élasticité augmente avec la fréquence alors que le module de viscosité diminue avec la fréquence ; le rapport entre énergie dissipée et énergie stockée, appelé *hystérésivité*, reste quant à lui constant [Maksym et coll. 2000].

c) Réflexion

La réponse mécanique de la cellule adhérente étudiée en utilisant différentes techniques de micromanipulation est généralement reconnue du type solide viscoélastique. Les propriétés mécaniques du cytoplasme sont très hétérogènes [Mathur et coll. 2000a, 2000b]. Les grandes valeurs de rigidité sont mesurées au voisinage du noyau et les plus petites au niveau de la membrane cellulaire. Pour bien rendre compte de cette hétérogénéité des propriétés viscoélastiques cellulaires mesurées expérimentalement, Yamada postule qu'il faudrait utiliser des modèles rhéologiques composés d'au moins 8 sous-unités viscoélastiques [Yamada et coll. 2000]. Laurent et coll. ont montré également que le CSQ profond est jusqu'à 2 fois plus rigide, 200 fois plus visqueux et possède une constante de temps jusqu'à 100 fois plus grande que le CSQ cortical [Laurent et coll. 2002b]. De même, le cytosquelette profond apparaît comme étant plus tendu et plus polymérisé que le cortical, ce qui pourrait expliquer que la sensibilité à l'effet de la Cyto-D est supérieure dans le CSQ profond que dans le CSQ cortical [Laurent 2002b].

Ces observations sont en accord avec l'idée du rôle spécifique de chaque sous-réseau : tandis que le CSQ cortical offre une capacité d'adaptation locale rapide des processus membranaires (endocytose...), le CSQ profond a essentiellement un rôle de stabilisation et de coordination globale du cytoplasme de la cellule adhérente [Maniotis et coll. 1997].

II-1-2 – Rôle mécanique des filaments du cytosquelette

La réponse mécanique cellulaire est étroitement liée aux caractéristiques rhéologiques du cytosquelette (CSQ). La détermination des propriétés mécaniques du CSQ nécessite la connaissance des propriétés spécifiques de chacun des réseaux qui le composent.

1) Rôle mécanique des filaments d'actine

Les filaments d'actine interviennent grandement dans la migration cellulaire au cours de laquelle la cellule développe à l'avant du mouvement un ou plusieurs lamellipodes dans lesquelles l'actine-F est très présente. De plus, les filaments d'actine regroupés en faisceaux de fibres de tension sont couplés à des molécules de *myosine* et forment ainsi de véritables « moteurs moléculaire » qui génèrent une tension au sein de la structure du CSQ, permettant ainsi la motilité cellulaire. Par ailleurs, les courts microfilaments composant le CSQ cortical se couplent à la myosine II ainsi qu'à la tropomyosine et contribuent à générer une tension corticale faible ainsi qu'à stabiliser la membrane plasmique, en complément de la tension plus importante générée par le CSQ cytosolique lequel assure la stabilité globale de la cellule [Lodish et coll. 1999]. Ainsi, l'un des rôles principaux de l'actine est de générer, à différentes localisations dans le cytoplasme, une tension cellulaire. En outre, les fibres de tension peuvent se déformer jusqu'à 80% [Fung 1981 ; Katoh et coll. 2000] tandis que les filaments d'actine seuls rompent au delà de 20% de déformation [Janmey et coll. 1991], l'actine intervenant grandement dans les propriétés mécaniques cellulaires. En effet, de nombreux auteurs parlent d'une prédominance des propriétés du réseau d'actine dans les caractéristiques viscoélastiques de la cellule. Ainsi, Zaner et Valberg, d'une part, et Satcher et Dewey, d'autre part, ont pu approcher l'élasticité des cellules vivantes par

le module d'élasticité mesuré pour l'actine [Zaner et coll. 1989 ; Satcher et coll. 1996]. De même, Wang et coll. montrent que l'actine participe à environ 85% de la rigidité globale de la cellule [Wang et Ingber 1994].

Plusieurs techniques ont été développées afin de déterminer les caractéristiques rhéologiques des microfilaments. L'actine apparaît comme un matériau viscoélastique, les auteurs ne pouvant toutefois pas toujours certifier que les solutions de filaments d'actine testées ont un comportement mécanique plutôt de type fluide viscoélastique ou de type solide viscoélastique [Janmey et coll. 1988, 1991 ; Wachsstock et coll. 1993, 1994]. Selon Wachsstock et coll., une solution d'actine en présence d' α -actinine se comporte comme un fluide viscoélastique alors qu'en présence d'une autre protéine, la biotine (généralement utilisée pour marquer les microfilaments mais qui aurait selon les auteurs aussi le pouvoir de créer des nœuds entre eux lorsqu'elle est associée à l'avidine) on tend plutôt vers un comportement de solide isotrope, le nombre de liaison étant, en effet, plus important qu'avec l' α -actinine et leur plus grande résistance rigidifie la structure ainsi formée. Pour leur part, Zaner et Valberg obtiennent par viscosimétrie sur des solutions de 4mg/ml de microfilaments, des résultats conformes à ceux des solides viscoélastiques pour de petites échelles de temps tandis que l'on s'approche des fluides dissipant aux grandes échelles [Zaner et coll. 1989]. D'autre part, Janmey et coll. montrent, par des essais de fluage sur des solutions de 2 mg/ml de filaments d'actine, que leur comportement est en accord avec celui des solides viscoélastiques [Janmey et coll. 1989, 1991].

Somme toute, il semble, que cette difficulté à « trancher » entre un comportement de type solide ou fluide soit due à la grande variabilité des mesures de propriétés viscoélastiques des microfilaments en fonction de divers facteurs dont, principalement, la concentration des solutions en actine-F, la longueur des filaments, la présence ou non d'autres protéines cytoplasmiques ayant le pouvoir de connecter des filaments d'actine entre eux ou de les couper, les échelles temporelles des expériences ainsi que les déformations imposées.

Ainsi, la viscosité mesurée varie de quelques dizaines de Pascals-secondes pour des gels de G-actine (actine sous forme monomérique) à un ordre de grandeur compris entre 10^4 et 10^5 Pa.s pour des solutions d'actine-F. De plus, Janmey et coll. (1988) montrent que la viscosité de l'actine dépend du taux de déformation appliqué ainsi que de la longueur des microfilaments. Buxbaum et coll. (1987) et de Javin et Cohen (1981) obtiennent une viscosité de l'actine proportionnelle respectivement à l'inverse (puissance -1) et à la puissance -0.8 du taux de déformation. Ceci correspond, selon les auteurs, au comportement d'un système de tiges solides glissant les unes par rapport aux autres et dont la viscosité proviendrait de ces mouvements. Janmey estime quant à lui que les propriétés des filaments d'actine dépendent de leur longueur (et donc de la présence ou non de protéines ayant pour effet de couper les filaments), de l'existence de liaisons entre les microfilaments ainsi que de la nature de ces nœuds (et donc de la présence ou non de protéines de liaison comme l'ABP ou l' α -actinine) et de la concentration en filaments d'actine des solutions étudiées. En effet, pour une concentration inférieure à 2 mg/ml, les gels d'actine sont isotropes tandis qu'au-delà il y a formation de faisceaux [Janmey et coll. 1988].

Toutefois, ces travaux sont pour la plupart effectués non pas sur des filaments isolés mais sur des solutions (ou des gels) d'actine soumises à des efforts mécaniques globaux. Il est alors difficile de bien caractériser mécaniquement les filaments d'actine eux-même. Cependant, Palmer et coll. ont récemment utilisé une technique non invasive appelée *diffusing wave spectroscopy microrheology* et grâce à laquelle ils ont pu étudier directement les propriétés rhéologiques de réseaux d'actine-F en utilisant, comme sonde expérimentale, des ions naturellement liés aux microfilaments. Leurs résultats montrent la dépendance en la fréquence des propriétés viscoélastiques : jusqu'à une valeur de l'ordre du Hertz, les filaments d'actine ont une réponse mécanique de type solide viscoélastique avec une constante de temps de l'ordre de 10 s alors qu'au delà de 10 Hz, le comportement mécanique correspond à celui d'un fluide viscoélastique [Palmer et coll. 1999].

En définitive, l'hypothèse retenue dans cette étude, pour les filaments d'actine, est celle d'un comportement de type solide viscoélastique, les résultats suggérant un comportement fluide ayant été obtenus à partir d'expériences menées sur de l'actine en solution et non sur des microfilaments isolés ou dans des conditions expérimentales peu proches de la réalité physiologique (par exemple : fréquence d'oscillations supérieure à 10 Hz dans Palmer et coll.). Néanmoins, Palmer et coll. précisent que l'actine seule ne suffirait pas à conférer toutes ses propriétés mécaniques à la cellule et que les autres filaments du cytosquelette jouent aussi un rôle non négligeable [Palmer et coll. 1999].

2) Rôle mécanique des microtubules et les filaments intermédiaires

Les microtubules sont présentés comme de véritables « piliers » du cytosquelette par Mitchison qui estime qu'ils sont environ 300 fois plus résistants à la torsion que les microfilaments, l'auteur les comparant alors à des barres travaillant en compression [Mitchison 1992].

Pour sa part, Janmey et coll., qui ont effectué une étude comparative entre le comportement des solutions de microtubules et celui de solutions d'actine, ont obtenu des résultats montrant que les microtubules se comportent comme des solides élastiques jusqu'à une déformation d'environ 50%, au-delà de laquelle il y a rupture [Janmey et coll. 1991]. Par ailleurs, ils apparaissent peu flexibles et ont une haute rigidité. Les auteurs concluent en estimant que les microtubules associés aux filaments intermédiaires participent également à l'intégrité de la cellule, sans toutefois apporter de contribution significative à la viscosité cellulaire. En effet, les résultats obtenus en rhéométrie pour les solutions de microtubules correspondent à la théorie d'une viscosité induite par le glissement de tiges rigides les unes par rapport aux autres.

Janmey note encore que les propriétés mécaniques des microtubules et des filaments intermédiaires sont également dépendantes de facteurs tels que la concentration et la longueur des filaments [Janmey et coll. 1991]. Il décrit la vimentine comme un matériau de type fluide visqueux qui ne contribue pas de façon significative à la viscoélasticité de la cellule [Janmey et coll. 1991]. Brodland considère que les filaments intermédiaires rigidifient les microtubules en les empêchant de fléchir et leur permettant de supporter des efforts de compression 10 fois plus importants [Brodland et coll. 1990].

Par ailleurs, la capacité qu'ont les microtubules à se désagréger beaucoup plus rapidement que les autres composants cytosquelettiques, pose la question de leur rôle mécanique réel au sein du CSQ. Notamment, certains auteurs ont avancé l'idée que les microtubules sont biochimiquement trop instables (désagréations de microtubules) pour avoir une fonction mécanique réellement significative [Ingber et coll. 2000]. Pour tenter de répondre à cette question, Wang et coll. ainsi que Stamenovic et coll. ont étudié le rôle des microtubules dans la répartition des tensions internes et des forces externes de cellules adhérentes à une matrice extracellulaire. Il apparaît de ces études que selon l'état d'adhérence de la cellule, les microtubules participent à contrebalancer la tension générée par le réseau d'actine-F. Si la cellule est peu adhérente, les microtubules seraient effectivement les principaux supports de compression alors que dans le cas où la cellule est fortement étalée et adhérente au substrat rigide, la majorité des efforts de compression (de l'ordre de 80%) serait supportée par la matrice extracellulaire via les points focaux d'adhérence [Wang et coll. 2002 ; Stamenovic et coll. 2002b].

II-1-3 – Conclusion

En conclusion, il apparaît que le comportement mécanique de la cellule nucléée est étroitement lié aux propriétés mécaniques et structurales des trois classes de filaments protéiques

constitutifs du cytosquelette. Le comportement viscoélastique des actine-F, le comportement élastique des microtubules associés aux filaments intermédiaires ainsi que leurs interactions entre eux et avec la milieu environnant (matrice extracellulaire et cellules voisines) semblent être à l'origine de la viscoélasticité structurale de la cellule. Pour pouvoir évaluer et interpréter cette viscoélasticité structurale de la cellule, il est nécessaire de développer des modèles mécaniques avancés prenant en compte la complexité structurale du cytosquelette et permettant de déterminer les paramètres caractéristiques de la réponse mécanique cellulaire.

II-2 – Les modèles théoriques de la réponse mécanique cellulaire

II-2-1 – Les premiers modèles : la cellule comme un milieu continu

Les premiers modèles développés pour décrire le comportement mécanique de la cellule nucléée sont issus des outils de la rhéologie classique (milieu du XX^{ème} siècle). Ces derniers permettent de quantifier des propriétés globales (élasticité, viscosité, constante de temps, plasticité) évaluées par des essais de caractérisation mécanique normalisés. La cellule est alors considérée comme un matériau fluide, suivant le modèle de Maxwell de fluide viscoélastique (un ressort représentant la composante élastique, en série avec un amortisseur représentant la composante visqueuse), ou comme un matériau solide viscoélastique suivant le modèle de Voigt (un ressort en parallèle avec un amortisseur). Ce sont des modèles de représentation dont les paramètres évoluent afin d'approcher le comportement mécanique réel du matériau biologique étudié. Ainsi, Evans a, dans un premier temps, modélisé le globule blanc par un fluide viscoélastique de type Maxwell généralisé. Par la suite, il a considéré une membrane contractile avec une tension corticale, englobant un fluide visqueux [Evans et coll. 1989]. En outre, de nombreux modèles rhéologiques ont été proposés par différents auteurs, comme le modèle à trois

modules (le noyau considéré comme solide, le cytoplasme modélisé comme un fluide à deux viscosités et la membrane contractile avec une tension cortical) [Hochmuth 1993].

Toutefois, ces modèles rhéologiques sont unidimensionnels et sont devenus rapidement limités pour décrire le comportement mécanique des cellules vivantes. Des modèles bidimensionnels issus de la théorie des milieux continus ont été développés en utilisant différentes méthodes de résolution (méthode analytique, méthode des éléments finis). Caille a récemment modélisé les champs de déformations de cellules endothéliales soumises à des efforts de compression, suivant une méthode aux éléments finis. Elle a analysé la déformation d'une cellule ronde, d'une cellule adhérente et du noyau isolé [Caille et coll. 1998, 2001]. Dans son modèle, l'auteur considère la cellule comme un matériau à double compartiments : le compartiment « noyau » autour duquel se trouve le compartiment « cytoplasme » discrétisé par des éléments finis hyperélastiques. Les résultats des simulations en terme de rigidité et de déformation globales sont en accord avec les expériences. Cependant ce modèle présente quelques limites ; d'une part, le modèle proposé est bidimensionnel alors que la cellule a une définition spatiale ; d'autre part, le compartiment « cytoplasme » est considéré homogène élastique et ne prend pas en compte les hétérogénéités architecturales et mécaniques de la structure cytosquelettique.

Si les modèles cellulaires basés sur la mécanique des milieux continus donnent des résultats acceptables en terme de propriétés mécaniques globales, ils présentent à ce jour un certain nombre de limitations : (i) la structure du CSQ, principal support de la réponse mécanique cellulaire, est ignorée et très souvent les études sont faites sous l'hypothèse d'un « matériau biologique » homogène ; (ii) l'influence du nombre et de la disposition spatiale des points focaux d'adhésion sur le comportement de la cellule est généralement ignorée, l'adhésion cellulaire étant considérée par des conditions limites sur l'ensemble de la surface ; (iii), les mécanismes locaux et

la réorganisation spatiale de la structure cytosquelettique ne sont pas pris en compte dans les modèles continus ; (iv) la transmission des efforts de la membrane au noyau ne suit pas les lois classiques des milieux continus [Maniotis et coll. 1997]. En outre, les résultats théoriques obtenus à partir de ces modèles ne sont souvent en accord qu'avec un seul type d'expérimentation sur cellules vivantes et il paraît difficile d'envisager, à terme, une quelconque tentative de généralisation de l'analyse du comportement mécanique cellulaire sur la base de tels modèles [Ingber et coll. 2000].

II-2-2 – Les premiers modèles structuraux

Dans la seconde partie du XX^{ème} siècle, les techniques d'exploration microscopique de la morphologie cellulaire se sont considérablement développées et ont permis aux biologistes d'affiner leur perception du cytoplasme. Celui-ci contient un réseau cytosquelettique tridimensionnel fortement structuré composé de biopolymères filamenteux aux propriétés physiques spécifiques.

1) Les modèles de gels de polymères et de transition de phase

Dans ces approches, le CSQ est vu comme un gel dynamique constitué de plusieurs réseaux (les filaments d'actine, les microtubules et les filaments intermédiaires) interconnectés qui s'assemblent et se désassemblent en permanence suivant un processus de percolation [Forgacs 1995]. Dans ces modèles, la notion de connectivité est essentielle puisqu'au delà d'un certain seuil de connexion, le signal mécanique transmis localement par la matrice extracellulaire via les récepteurs transmembranaires (intégrines, cadhérine) se propage dans toute la cellule jusqu'au noyau. En dessous de ce seuil, aucun signal n'est transmis par le CSQ. La vitesse de propagation

du signal dépend de la concentration en filaments, du niveau de connexion ainsi que du niveau de tension dans les interactions [Janmey 1998].

D'autres auteurs (Wachsstock, Dufort, Elson, Janmey) ont étudié des modèles semblables, montrant l'influence de la concentration en protéines de liaison avec les filaments sur le comportement mécanique du réseau filamentueux global [Wachsstock 1993, 1994], l'importance de la présence d'ions calcium Ca^{2+} [Dufort et coll. 1993] et les effets des forces mécaniques extérieures appliquées à ces gels sur les processus de polymérisation et dépolymérisation [Elson 1988]. Dans la plupart des études, les propriétés viscoélastiques des gels composés de la seule actine-F apparaissent très proches des mesures effectuées sur des érythrocytes [Elson 1988], l'actine étant alors supposée conférer l'essentiel de ses propriétés mécaniques à la cellule. Toutefois, il n'est pas possible de différencier le comportement viscoélastique de ces gels comme fluide ou solide et il apparaît difficile de conclure s'ils doivent être considérés comme un fluide semi dilué à viscosité élevée ou comme un solide dont la viscoélasticité serait d'origine structurale, provenant du tissage des filaments [Elson 1988].

Dans son modèle de migration cellulaire, Stossel a développé une théorie du mouvement cellulaire fondée sur la description de la transformation *sol-gel* en comparant le cytoplasme à un *sol*, fluide où sont dissoutes des molécules et où de grosses particules sont en suspension, délimité par une membrane considérée comme un *gel*, structure élastique et intermédiaire entre les états liquide et solide. Sous l'action d'une force locale désorganisant le gel, la pression à l'intérieur de la cellule pousse le fluide et engendre une hernie. Instantanément, le sol qui passe dans cette hernie se « solidifie » et forme un lamellipode stable qui se comporte alors comme un gel. Ce dernier est principalement constitué de courts filaments d'actine formant un réseau régulier tridimensionnel auquel peuvent se lier des protéines telles que les molécules de myosine qui, associées à l'actine, forment de véritables moteurs moléculaires et permettent ainsi la locomotion cellulaire. [Stossel 1993].

Dans le même ordre d'idée, Fabry a développé un modèle issu de la physique des cristaux liquides pour tenter de regrouper différents résultats obtenus expérimentalement par magnétocytométrie sur différents types cellulaires en imposant des oscillations dans une vaste gamme de fréquences (variant de quelques centièmes de Hertz jusqu'au kilohertz). Les résultats montrent des dépendances des propriétés viscoélastiques du CSQ en fonction de la fréquence (en particulier dans les plus hautes fréquences, c'est à dire supérieures à 10 Hz) indiquant un comportement mécanique proche de celui d'un milieu constitué de cristaux liquides [Fabry et coll. 2001]. Cependant, de telles hautes fréquences sont très éloignées de la réalité physiologique, ce qui rend délicate toute interprétation à partir d'une telle théorie.

Toutefois, ces modèles de transition de phase ne contrôlent ni la tension interne, malgré l'existence d'un seuil de connexion, ni l'équilibre entre les efforts de tension et les efforts de compression supportés par les différents composants du cytosquelette et du microenvironnement via les points focaux d'adhérence. De plus, la redistribution spatiale des filaments cytosquelettiques ne suit pas un mécanisme bien contrôlé comme dans les autres modèles structuraux décrits ci-dessous.

2) Les modèles de mousses

Dans ces modèles, la réponse mécanique de la cellule est réduite au comportement mécanique du seul cytosquelette d'actine (réseau de microfilaments). Ce cytosquelette d'actine est considéré comme une mousse et les résultats de la théorie des solides alvéolaires lui sont appliqués. Cette théorie définit un volume élémentaire représentatif du réseau d'actine par une unité alvéolaire de forme cubique, dont les côtés (poutres) peuvent fléchir, se tordre ou s'étirer sous l'action d'une force extérieure, la déformation globale de l'alvéole résultant de la déformation locale des poutres et la déformation cellulaire globale étant affine à la déformation

d'une alvéole pris isolément [Gibson et coll. 1988]. Satcher montre ainsi que le module élastique du réseau rapporté au module d'Young d'un filament d'actine isolé (correspondant aux poutres du modèle) est proportionnel au carré de la densité relative (rapport de densité du réseau et d'un filament isolé) et que le module élastique global du réseau est environ 10^4 fois plus faible que celui des filaments le constituant [Satcher et coll. 1996]. Récemment, Stamenovic a montré que les modèles de mousses permettent de prédire les propriétés élastiques de cellules testées par des techniques expérimentales telles que la micromanipulation par microplaques (MM) ou la microscopie à force atomique (AFM) mais ces prédictions ne sont pas en accord avec les résultats obtenus par d'autres techniques expérimentales où les forces sont appliquées spécifiquement au CSQ via les récepteurs transmembranaires comme la magnétocytométrie (MTC) ou les pinces optiques (PO) [Stamenovic et coll. 1999]. Ceci pourrait s'expliquer par le fait que les forces appliquées dans des techniques comme la microscopie à force atomique mettraient ainsi en jeu essentiellement une déformation des filaments du CSQ, tandis que la MTC ou les pinces optiques entraîneraient une réponse mécanique mettant en jeu la réorganisation spatiale des filaments du CSQ [Stamenovic et coll. 1999]. Par ailleurs, Wendling et coll. montrent que le module élastique du modèle alvéolaire rapporté à celui d'une poutre est proportionnel à la puissance 4 de la taille normalisée (rapport entre la longueur d'un côté d'une alvéole et la section carrée d'une poutre), ce qui suppose une rigidité cellulaire qui proviendrait d'un réseau d'actine composé de courts filaments (de l'ordre de 100 nm) [Wendling et coll. 2000a].

Outre le fait que ces modèles ne prennent en compte qu'un seul des trois types de filaments composant le cytosquelette et ne permettent donc pas de clairement identifier le rôle de leurs interactions, il apparaît que leur utilisation dans le but d'interpréter les résultats biologiques soit limitée [Stamenovic et coll. 1999 ; Wendling et coll. 2002a]. De plus, des aspects essentiels comme la tension interne à la structure, ses liaisons avec un support externe ainsi que le rôle de la

réorganisation spatiale des filaments ne sont pas considérés dans les modèles de mousses. D'autres approches apparaissent nécessaires pour étudier ces effets.

3) Les modèles de barres étudiés suivant une approche aux éléments finis

La structure du CSQ est représentée par un ensemble complexe discontinu d'éléments « barres » et est étudiée par la méthode des éléments finis pour déterminer les champs locaux de contraintes et de déformations. Ainsi, Steucek a analysé la déformation et la répartition des contraintes au sein et à la surface d'une cellule de plancton marin [Steucek et coll. 1987]. De même, Brodland a simulé les changements de forme des cellules embryonnaires lors de la morphogenèse en considérant une fibre de tension comme un élément fini composant le modèle. Il a ainsi pu montrer que la déformation cellulaire est non linéaire aussi bien géométriquement (dépendant du réarrangement spatial des éléments) que matériellement (dépendant des propriétés intrinsèques aux filaments d'actine) [Brodland et coll. 1994].

Ces modélisations utilisant la méthode des éléments finis permet d'étudier des systèmes et des mécanismes beaucoup plus complexes que par les modélisations sus-citées, notamment l'effet du réarrangement structurel des filaments cytosquelettiques et le contrôle dans la transmission des forces. Il faut toutefois prendre de grandes précautions dans la définition de l'élément considéré (dimensions géométriques, lois de comportement) lors de la mise en œuvre du modèle.

II-2-3 – Les modèles de tensegrité

1) Définition et origine des modèles de tensegrité

Dans les années 1950, R.B. Fuller, architecte-mathématicien, a mené une large réflexion sur la description des systèmes réticulés spatiaux et sur les notions de stabilité, principe des actions et réactions. Il est à l'origine des modèles de tensegrité dont il a inventé le nom. Le mot *Tensegrity* est obtenu par contraction de *Tensional* et *Integrity*, d'où la traduction française par le mot *Tensegrité* [Fuller 1975]. Ces modèles de tensegrité sont classiquement définis comme des structures réticulées tridimensionnelles en état d'*autocontrainte* issue de l'interaction entre un réseau discontinu d'éléments « barres » comprimées par un réseau continu d'éléments « câbles » prétendus (voir figure B1 de la Partie B suivante). Il en existe différents types, notamment en fonction du nombre de composants et leur forme structurale est étroitement liée à la répartition des efforts internes (tension des câbles et compression dans les barres) ainsi qu'à l'équilibre entre ces efforts internes et les forces externes appliquées aux nœuds. Le concept de tensegrité implique une intime relation entre la forme structurale et l'équilibre des forces en l'absence de toute action de la pesanteur.

Conceptualisées par des architectes (Fuller, Emmerich, Chomarar), des ingénieurs du bâtiment (Hanaor, Hangai, Pellegrino, Motro) et de l'aéronautique (Grip, Furuya), les structures de tensegrité font l'objet de développements permanents et d'études mécaniques fondamentales pour des applications industrielles (construction de dômes géodésiques et de ponts notamment) et spatiales (structures déployables).

A ce jour, l'ensemble de ces travaux a essentiellement porté sur la topologie et la caractérisation mécanique (rigidité) en petites déformations dans des conditions statiques ou quasi statiques de structures de tensegrité élémentaires (3 barres, 4 barres, 6 barres) ou d'assemblage de structures élémentaires à 4 barres et 12 câbles [Mohri et coll. 1993 ; Kebiche et coll. 1999 ; Motro

1990]. Quelques études ont été menées en dynamique (vibrations et contrôle actif) dans le but d'analyser la relation autocontrainte – modes propres de ces structures de tensegrité élémentaires [Moussa et coll. 1998]. Il est à noter que, dans ces travaux effectués en dynamique, les modèles de tensegrité étudiés sont constitués d'éléments purement élastiques, les aspects dissipatifs par viscosité des constituants n'étant pas pris en considération.

D'autres travaux effectués par des mathématiciens et des théoriciens ont porté sur la recherche de solutions analytiques de problèmes particuliers tels que les conditions d'autocontrainte et de stabilité de structures de tensegrité particulières [Sultan et coll. 2001 ; Murakami et coll. 2001 ; B-B Wang 1998 ; Vassart et coll. 1999]. Les structures spatiales déployables dont font partie les structures de tensegrité font également l'objet d'études et nécessitent le développement de méthodes de résolution numérique [Argyris et coll. 1972].

Si les modèles de tensegrité ont été conceptualisés dans les domaines de l'architecture et du génie civil, ils trouvent de nouvelles applications dans le domaine de la biologie et de la santé et sont révélateurs du domaine du vivant ; une toile d'araignée, un arbre, le corps humain, le tissu vivant et la cellule vivantes peuvent se décrire suivant le concept de tensegrité.

2) Application à la biomécanique cellulaire

Des modèles de tensegrité ont été développés en biomécanique cellulaire pour tenter de comprendre la réponse mécanique des cellules soumises à des champs de contraintes. L'idée d'approcher la mécanique cellulaire à l'aide des structures de tensegrité a été proposée par D. Ingber (1993) suite à ses observations biologiques. Par exemple, l'état d'adhésion d'une cellule nucléée module la tension interne à la structure du cytosquelette (CSQ) et implique des fonctions biologiques différentes : sur un substrat rigide, la cellule croît rapidement et se différencie moins, alors que sur un substrat malléable ces processus sont inversés.

Ingber a montré de nombreuses analogies entre la structure cytosquelettique et la structure de tensegrité mais ces analogies sont pour la plupart totalement qualitatives et hypothétiques. Cependant différentes équipes de chercheurs ont tenté de quantifier ou d'apporter des éléments de quantification du comportement mécanique du CSQ à l'aide des modèles de tensegrité.

a) Analogies Structure de tensegrité et Structure du cytosquelette

Il existe un certain nombre d'analogies structurales et mécaniques entre le CSQ et les modèles de tensegrité.

- le CSQ se déforme sous un chargement extérieur par un réarrangement structural global plutôt que par une déformation locale des filaments qui le composent [Ingber et coll. 1985]. La rigidité du CSQ augmente avec la contrainte [Wang et coll. 1993].
- Les filaments d'actine génèrent la tension interne du CSQ.
- La cellule réagit, à travers son cytosquelette, aux conditions mécaniques environnementales par un réarrangement structural tel qu'il y ait équilibre entre les forces externes et les tensions internes à la structure. Une cellule préalablement étalée et adhérente s'arrondit une fois détaché. Après rupture des microtubules d'une cellule adhérent à une matrice extracellulaire, il apparaît une nouvelle organisation structurale et un équilibre de forces entre la cellule et la matrice extracellulaire. [Ingber 1998].

Le tableau ci-dessous résume les hypothèses de travail associées aux analogies structurales et mécaniques entre le cytosquelette et les structures de tensegrité.

CYTOSQUELETTE	STRUCTURE DE TENSEGRITE
Microtubules associés aux filaments intermédiaires Filaments d'actine	Eléments quasi rigides et incompressibles Eléments viscoélastiques
Filaments d'actine associés aux molécules de myosine	Câbles tendus et travaillant en traction
Supports de compression : - En global : les microtubules - En local : points focaux d'adhérence, fibres de stress	Barres travaillant en compression
Points focaux d'adhérence	Nœuds fixés ou bloqués
Mécanorécepteurs transmembranaires	Conditions d'efforts aux nœuds
Tonus cellulaire	Etat d'autocontrainte
Réorganisation spatiale des filaments du CSQ	Déplacements spatiaux des éléments constitutifs

b) Modèles de tenségrité théoriques

L'équipe de Boston (Harvard School of Public Health) de D. Stamenovic a proposé en 1996 la première tentative de modélisation mathématique du cytosquelette à partir de ce concept de tenségrité. Dans cette étude analytique basée sur le principe des puissances virtuelles, les auteurs analysent la relation force – déplacement et le rôle de la tension interne de deux modèles de tenségrité à 30 éléments dont le premier est constitué de 6 barres rigides et de 24 câbles linéairement élastiques très déformables et connectés aux extrémités des barres (nœuds) par des liaisons sphériques sans frottement (modèle A). Dans le second modèle (B), les câbles peuvent

coulisser aux nœuds par rapport aux barres. Les résultats des auteurs montrent que (i) la rigidité du modèle A est plus importante que pour le modèle B et (ii) cette rigidité tend à augmenter avec le niveau de force appliquée ainsi qu'avec le niveau de tension interne.

Le groupe de D. Stamenovic a poursuivi l'essentiel de ses travaux sur les modèles de tensegrité appliqués à la mécanique cellulaire en s'intéressant à l'impact du fléchissement des barres – représentant la possibilité qu'auraient les microtubules à flamber sous un certain seuil de compression – dans les propriétés mécaniques élastiques globales de la structure de tensegrité ainsi associée au CSQ.

Une étude similaire a été publiée récemment par Volokh et coll. (2001) permettant la prédiction, par le modèle, d'une possible courte phase d'assouplissement préliminaire de la structure cytosquelettique induite par ce fléchissement des microtubules avant que le CSQ ne tende de nouveau à se rigidifier sous la contrainte mécanique à laquelle il est soumis.

L'une des forces des travaux effectués par le groupe de Créteil (Université de Paris 12, Wendling et coll. 1999, 2000a, 2000b) est de proposer une analyse normalisée, permettant de comparer des modèles de tensegrité différant dans leur taille et/ou leur tension de pose des câbles et/ou les propriétés élastiques des composants ; il s'agit ici d'une démarche allant dans le sens d'une généralisation des lois de comportement mécanique des modèles de tensegrité dans leur ensemble. Le groupe de Créteil a ainsi montré que le module d'élasticité apparent normalisé du modèle (E^*) tend à être proportionnel à la racine carrée de la tension interne ($E^* \propto T^{*0.5}$). Cette loi de dépendance est vérifiée quel que soit le type d'effort appliqué et le niveau de déformation globale du modèle. De plus, la dépendance de la rigidité de la structure de tensegrité à 30 éléments a été affinée : selon les conditions de liaisons et d'efforts aux nœuds, la structure peut tendre à se rigidifier ou à s'assouplir [Wendling et coll. 2000a, 2000b] ; lorsque le modèle de tensegrité est ancré à un substrat par trois nœuds (formant une base plane inférieure) et que trois autres nœuds (formant une base plane supérieure) sont soumis à des forces de traction, la rigidité

globale du modèle augmente avec le niveau d'effort ; à l'inverse, cette rigidité diminue quand la force augmente dans le cas d'un test de compression du modèle. De même, cette rigidité croît lorsque le nombre de nœuds de la structure est accru. En outre et indépendamment des conditions de liaisons et d'efforts appliquées ainsi que du niveau de déformation du modèle de tensegrité, il a été montré que le module apparent d'élasticité normalisé est proportionnel à l'inverse du carré de la longueur normalisée L^* , représentative de la taille du modèle ($E^* \propto L^{*-2}$). Autrement dit, si l'on compare deux modèles semblables de tensegrité A et B, constitués des mêmes éléments mais différant d'un ordre de grandeur dans leur dimension (par exemple : A est d'une taille supérieure d'un ordre de grandeur à celle de B) alors leurs rigidités diffèrent de deux ordres de grandeurs (dans le présent exemple, la rigidité de A est de deux ordre inférieure à B). Il est ainsi possible de caractériser des propriétés au niveau cellulaire (de l'ordre du micromètre) en étudiant des modèles de tensegrité d'une taille de l'ordre du décimètre.

Par ailleurs, Wendling et coll. étudient depuis peu différentes structures de tensegrité composées de différents nombres d'éléments afin d'analyser la dépendance des propriétés élastiques des structures en fonction du nombre d'éléments. Ceci a été fait dans le double but d'aboutir, pour le versant purement mécanique d'une part, vers une généralisation des lois de comportement des structures de tensegrité en général, quelque soit leur nombre de composant structuraux et, d'autre part en application biomécanique au niveau de la cellule, pour prendre en compte différentes sous-structures du CSQ organisées à différentes échelles et localisations dans le cytoplasme ainsi que composées de nombres très différents de filaments (par exemple : de quelques dizaines de longues fibres de stress, associées aux câbles des modèles de tensegrité, dans la partie basale de la cellule jusqu'à plusieurs milliers (voire peut être plus) de courts filaments d'actine dans la zone sous-membranaire de la partie apicale de la cellule, comme indiqué dans le paragraphe I-2-1 de la présente Partie A).

De même que dans les domaines de l'aéronautique et du bâtiment, les modèles de tenségrité étudiés dans ces travaux en biomécanique cellulaire sont là encore constitués d'éléments (et de liaisons entre eux) purement élastiques, sans dissipation visqueuse.

III – Conclusion

Les grandes fonctions biologiques cellulaires sont fortement dépendantes des interactions mécaniques entre la cellule nucléée et son microenvironnement immédiat. Plus généralement, il existe un lien intime entre la fonction biologique d'une cellule adhérente, sa forme et la structure de son cytosquelette. Celui-ci, véritable charpente tridimensionnelle issu de l'assemblage complexe de trois types de filaments protéiques (les filaments d'actine ou actine-F ou encore microfilaments, les microtubules et les filaments intermédiaires) apparaît comme le principal responsable de la réponse mécanique de la cellule soumise à un chargement externe. Pour appréhender expérimentalement le comportement mécanique cellulaire il est nécessaire de bien contrôler des facteurs primordiaux comme l'état d'adhésion ou le type et la localisation de la force appliquée à une cellule que l'on teste. Il apparaît que la réponse mécanique de cellule adhérente, testée par des techniques spécifiques du cytosquelette, est de type solide viscoélastique. De plus, les filaments d'actine apparaissent comme les principaux responsables de la viscosité cellulaire (les actine-F se comportant eux-mêmes comme des solides viscoélastiques), les microtubules associés aux filaments intermédiaires semblant surtout impliqués dans la stabilité du cytoplasme en participant à supporter les efforts de compression en balance de la tension générée par les microfilaments. En outre, la modélisation de la réponse mécanique cellulaire doit rendre compte de la réalité structurale du cytosquelette, la cellule ne pouvant être considérée comme un milieu continu homogène, de la tension interne et de la composition complexe du CSQ.

Parmi les modèles cellulaires développés à ce jour, les modèles de tenségrité semblent être les seuls à prendre en compte à la fois : (i) la structure tridimensionnelle du cytosquelette issue de

l'assemblage de plusieurs types de filaments, (ii) la tension interne au CSQ, (iii) les points focaux d'adhérence, (iv) les mécanorécepteurs transmembranaires, (v) la réorganisation spatiale des filaments comme mécanisme de déformation globale du cytosquelette et (vi) la balance de forces tension – compression et plus généralement le contrôle dans la propagation de la force. De plus, les études effectuées jusqu'à présent montrent que les deux structures (cytosquelette et modèles de tenségrité) présentent de nombreuses analogies d'un point de vue mécanique : la rigidité dépend des conditions d'effort (en particulier l'amplitude de la contrainte appliquée), des conditions de liaison ainsi que du niveau de tension interne.

Par conséquent, il a été choisi pour le présent projet de développer un nouveau modèle cellulaire à partir des modèles de tenségrité existants, afin de prendre en compte la composante visqueuse de la réponse mécanique de la cellule adhérente. Les câbles, étant associés aux filaments d'actine viscoélastiques, seront eux même dotés d'une loi de comportement mécanique de type « solide viscoélastique » ; les barres, associées aux microtubules interagissant avec les filaments intermédiaires et plus généralement aux éléments cytoplasmiques supportant une compression qu'elle soit locale ou globale, seront supposées quasi-rigides, leur rôle étant ici essentiellement de contrebalancer la tension générée dans les câbles.

Partie B : Etude théorique du comportement mécanique du modèle de tenségrité viscoélastique

Cette partie présente un modèle de tenségrité viscoélastique (MTV) qui a été développé dans le but d'étudier la réponse de cellules vivantes dans des conditions dynamiques en prenant en compte la viscoélasticité structurale du cytosquelette. Cette approche est nouvelle et n'a jamais été effectuée jusqu'à présent. Equivalent aux modèles de tenségrité (purement élastiques) développés et étudiés dans des études précédentes [Motro 1990 ; Mohri et coll. 1993 ; Stamenovic et coll. 1996 ; Volokh et coll. 2000; Wendling et coll. 1999], le présent MTV est défini à partir d'un réseau discontinu de 6 barres rigides connectées à un réseau continu de 24 câbles viscoélastiques. Son comportement mécanique a été principalement étudié par simulations numériques en conditions statiques et dynamiques, en petites et grandes déformations.

Le premier paragraphe décrit le modèle numérique de tenségrité viscoélastique étudié. Le paragraphe II présente une première étude en fluage dans l'hypothèse des petites déformations et suivant différents types de chargement (traction, compression, cisaillement et torsion). Cette étude de fluage utilise une méthode numérique incrémentale pour résoudre le système d'équations différentielles issu de l'écriture de l'équilibre des forces aux nœuds. L'étude dynamique (hors effets inertiels) qui est présentée dans le paragraphe III permet d'analyser et de caractériser les propriétés viscoélastiques du MTV dans le domaine fréquentiel. Pour ce faire, une méthode de résolution originale initialement développée pour résoudre des problèmes dynamiques de contact frottant avec conditions d'unilatéralité (*Non Smooth Contact Dynamics Method* [Jean 1999, Cambou et coll. 2001]) a été appliquée au présent modèle de tenségrité viscoélastique.

Le dernier paragraphe (paragraphe IV) présente la méthode d'analyse adimensionnelle des résultats issus de ces simulations numériques, en des termes équivalents à ceux utilisés classiquement

en mécanique des milieux continus, en vue d'une interprétation biologique à l'échelle cellulaire des résultats obtenus sur le MTV.

I – Description du modèle de tenségrité viscoélastique

I-1 – Définition du modèle de tenségrité viscoélastique

Le modèle de tenségrité viscoélastique (MTV) correspond à une structure réticulée spatiale constituée de 6 éléments appelés « barres », non jointifs et comprimés par un réseau continu de 24 éléments appelés « câbles », pré-tendus (voir figure B1 ci-dessous).

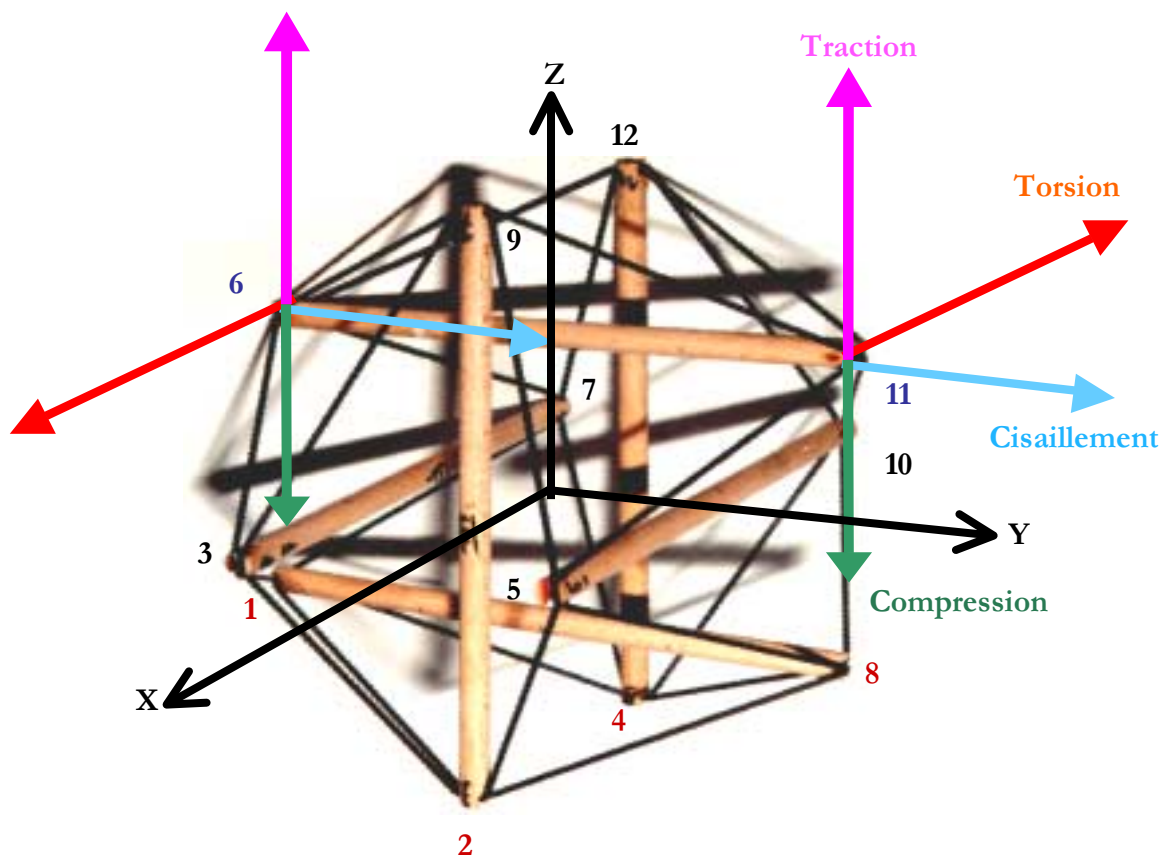


Figure B1 : Structure de tenségrité composée de 6 barres (couleur bois) et de 24 câbles (en noir). Les nœuds indiqués en bordeaux (#1, #2, #4 et #8) sont fixés dans l'espace défini par la base orthonormée directe $\{X, Y, Z\}$ et les nœuds marqués en indigo (#6 et #11) sont soumis à des efforts en traction, compression, cisaillement et torsion.

Les éléments « câbles » ont une loi de comportement viscoélastique de type « solide de Voigt ». Cette loi est représentée par un modèle rhéologique composé d'un élément « ressort » associé à un module d'élasticité, monté en parallèle avec un élément « amortisseur » associé à un module de viscosité (voir la description détaillée du modèle de Voigt en Annexe A1). Les éléments « barres » sont considérés comme des éléments purement élastiques (pas de composante visqueuse) et quasi-rigides, supportant essentiellement des efforts de compression dus à la pré-tension des câbles. Ces derniers ne supportent pas d'effort de compression.

A l'état de référence, c'est à dire, lorsque aucune force extérieure n'est appliquée à la structure de tenségrité, il existe un rapport constant entre les longueurs des éléments [Mohri et coll. 1993] :

$$\frac{L_c^{(r)}}{L_b^{(r)}} = \frac{\sqrt{6}}{4} \quad (\text{B-1})$$

avec :

$L_c^{(r)}$: longueur des câbles à l'état de référence ;

$L_b^{(r)}$: longueur des barres à l'état de référence.

De plus, il existe un rapport unique entre la tension dans les câbles ($T_c^{(r)}$) et la compression ($T_b^{(r)}$) dans les barres à l'état de référence de la structure de tenségrité. Ce rapport a été déterminé par une étude de recherche de forme exacte d'autocontrainte menée par l'équipe de R. Motro [Mohri et coll. 1993] :

$$\frac{T_c^{(r)}}{T_b^{(r)}} = \frac{\sqrt{6}}{6} \quad (\text{B-2})$$

La tension des câbles ($T_c^{(r)}$) à l'état de référence, encore appelée tension de pose est définie par la relation suivante :

$$T_c^{(r)} = (ES)_c \left[\frac{(L_c^{(r)} - L_{0c})}{L_{0c}} \right] \equiv (ES)_c \left[\epsilon_c^{(r)} \right] \quad (B-3)$$

avec :

- $L_c^{(r)}$: longueur des câbles à l'état de référence ;
- L_{0c} : longueur libre des câbles (avant assemblage de la structure) ;
- $(ES)_c$: force de rappel des câbles ; E_c module d'Young pris constant et S_c section prise constante des câbles ;
- $\epsilon_c^{(r)}$: extension initiale (à l'état de référence) des câbles.

Ces trois relations (B-1 à B-3) caractérisent l'état de référence de la structure de tensegrité à 6 barres et 24 câbles.

I-2 – Conditions d'étude

Le Modèle de Tensegrité Viscoélastique à 30 éléments (6 barres et 24 câbles) est testé numériquement en fluage et en oscillations imposées dans une seule configuration de liaison des nœuds qui diffère de celles étudiées précédemment [Mohri et coll. 1993 ; Stamenovic et coll. 1996 ; Volokh et coll. 2000 ; Wendling et coll. 1999]. Les quatre nœuds inférieurs (#1, #2, #4 et #8) de la structure (voir figure B1) sont fixes dans l'espace, mimant l'ancrage du MTV à un substrat rigide non plat. Les liaisons aux nœuds sont supposées être des liaisons rotules parfaites, permettant uniquement les rotations des barres reliées à ces nœuds et annulant toute translation des nœuds. Ces conditions de liaisons spatiales permettront par la suite de modéliser l'ancrage de la structure cytosquelettique à une matrice extracellulaire tridimensionnelle.

Lors des épreuves de fluage en petites et grandes déformations, les forces sont constantes et appliquées aux nœuds #6 et #11 (extrémités de la barre {6,11}). En traction (respectivement, en compression) les forces sont appliquées verticalement suivant l'axe +**Z** (respectivement, -**Z**) et en cisaillement, les forces sont dirigées parallèlement à la barre {6,11} dans la direction +**Y** (voir figure B1). Pour simuler un test de fluage en torsion, un couple de forces de sens opposé est appliqué suivant l'axe +**X** pour la force appliquée au nœud #6 et suivant l'axe -**X** pour la force appliquée au nœud #11. Dans l'étude dynamique pour la caractérisation en fréquence du MTV, les forces fonctions sinusoïdales du temps sont appliquées aux nœuds #6 et #11 dans le sens vertical (cycles en traction/compression, voir figure B1).

II – Etude théorique du comportement mécanique en fluage du Modèle Numérique de Tenségrité Viscoélastique

II-1 – Equations de la mécanique

Suivant le principe des puissances virtuelles, on écrit l'équilibre des forces aux nœuds de la structure de tenségrité viscoélastique en prenant en compte d'une part les lois de comportement des éléments constitutifs et d'autre part la compatibilité entre les déplacements nodaux et la déformation des éléments dans l'hypothèse des petits déplacements (HPD). Le système d'équations d'équilibre s'écrit alors sous forme matricielle, en négligeant la masse des éléments de la manière suivante tout en prenant en compte, pour la première fois, la viscosité des éléments :

$$\{F\} = [K] \{U\} + [C] \{\dot{U}\} \quad (B-4)$$

avec $[K]$: la matrice de rigidité globale de la structure [Motro 1990 ; Wendling et coll. 1999]

et $[C]$: la matrice d'amortissement globale de la structure (issue de la viscosité des câbles).

La matrice $[K]$ est une hyper matrice de dimension $[36 \times 36]$ obtenue à partir de la somme booléenne des matrices de rigidité $[k]_p$ (de dimension $[3 \times 3]$) de chacun des éléments barres et câbles constitutifs de la structure de tensegrité (voir équation A2-11 de l'annexe A2).

$$[k]_p = \begin{bmatrix} \frac{E_p S_p - T_p}{l_p} c_x^2 \frac{T_p}{l_p} & \bullet & \text{symétrie} \\ \frac{E_p S_p - T_p}{l_p} c_x c_y & \frac{E_p S_p - T_p}{l_p} c_y^2 \frac{T_p}{l_p} & \bullet \\ \frac{E_p S_p - T_p}{l_p} c_x c_z & \frac{E_p S_p - T_p}{l_p} c_y c_z & \frac{E_p S_p - T_p}{l_p} c_z^2 \frac{T_p}{l_p} \end{bmatrix} \quad (B-5)$$

Les composants de la diagonale de l'hyper matrice $[K]$ correspondent à la somme des 5 matrices de rigidité élémentaire $[K]_p$ (4 câbles et 1 barre) de chacun des nœuds de la structure (nœud #1 à #12). Les autres composants de $[K]$ correspondent à la matrice de rigidité $[K]_{ij}$ de l'élément $[i,j]$ reliant le nœud de la $i^{\text{ème}}$ colonne au nœud de la $j^{\text{ème}}$ ligne [Wendling 1997].

D'une manière analogue, la présente matrice d'amortissement globale $[C]$ est une hyper matrice de dimension $[36 \times 36]$ obtenue à partir de la somme booléenne des matrices d'amortissement $[C]_c$ (de dimension $[3 \times 3]$) des seuls éléments câbles (voir équation A2-9 de l'annexe A2) :

$$[C]_c = \begin{bmatrix} \frac{\eta_c S_c}{l_c} c_x^2 & \bullet & \text{symétrie} \\ \frac{\eta_c S_c}{l_c} c_x c_y & \frac{\eta_c S_c}{l_c} c_y^2 & \bullet \\ \frac{\eta_c S_c}{l_c} c_x c_z & \frac{\eta_c S_c}{l_c} c_y c_z & \frac{\eta_c S_c}{l_c} c_z^2 \end{bmatrix} \quad (B-6)$$

Les hyper matrices de rigidité et d'amortissement du MTV sont symétriques et non inversibles. Le MTV est considéré comme un « macro-élément » de type Voigt et l'équation matricielle (B-4) se traduit par une équation différentielle du premier ordre.

Lors des tests de fluage, le vecteur de forces appliquées $\{\mathbf{F}\}$ est constant et la solution en déplacement nodal $\{U(t)\}$ de l'équation (B-4) est donnée par l'équation matricielle suivante :

$$\{U(t)\} = \left[\mathbf{I}_d \right] \left[\exp \left(- \left[\mathbf{C} \right]^{-1} \cdot \left[\mathbf{K} \right] \cdot t \right) \right] \cdot \left\{ \left[\mathbf{K} \right]^{-1} \cdot \{\mathbf{F}\} \right\} \quad (\text{B-7})$$

avec : $[\mathbf{I}_d]$ la matrice identité de dimension $[36 \times 36]$; $[\mathbf{exp}]$ l'opérateur exponentiel appliqué aux matrices, de dimension $[36 \times 36]$; le déplacement $U(t_0)$ au temps originel $t_0=0$ est pris égal à zéro et les matrices $[\mathbf{K}]$ et $[\mathbf{C}]$ sont supposées constantes (HPD).

II-2 – Méthode de résolution numérique

Le système d'équation (B-4) est résolu par une méthode linéarisée à double incrémentation. Cette méthode est issue d'une méthode incrémentale d'Euler à force contrôlée développée par Argyris et Sharpf (1972) et appliquée aux systèmes spatiaux réticulés [Argyris et coll. 1972]. En prenant en compte les conditions de liaison et d'efforts, le système d'équation (12) se décompose de la manière suivante [Wendling 1997] :

$$\left\{ \begin{matrix} F_{inc} \\ F_{con} \end{matrix} \right\} \left[\begin{matrix} \cdot & [K_1] \\ \cdot & [K_2] \end{matrix} \right] \left\{ \begin{matrix} U_{con} = 0 \\ U_{inc} \end{matrix} \right\} + \left[\begin{matrix} \cdot & [C_1] \\ \cdot & [C_2] \end{matrix} \right] \left\{ \begin{matrix} U_{con} = 0 \\ U_{inc} \end{matrix} \right\} \quad (\text{B-8})$$

avec les composantes des déplacements et des vitesses connues et nulles pour les nœuds fixes (#1, #2, #4 et #8) et les composantes de déplacements et de vitesses inconnus pour les autres nœuds de la structure de tenségrité. Les efforts inconnus sont les forces de liaisons des nœuds fixes et les efforts connus sont les forces nulles ou non nulles appliquées aux nœuds libres de la structure de tenségrité.

Cette décomposition se traduit par une équation à déplacements inconnues (B-9) et une équation à forces inconnues (B-10) suivantes.

$$\{F_{con}\} = [K_2] \{U_{inc}\} + [C_2] \{\dot{U}_{inc}\} \quad (\text{B-9})$$

et

$$\{F_{inc}\} = [K_1]\{U_{inc}\} + [C_1]\{\dot{U}_{inc}\} \quad (B-10)$$

avec les sous-matrices $[K_2]$ et $[C_2]$ non symétriques et inversibles.

La résolution de l'équation (B-9) permet la détermination des déplacements nodaux inconnus qui, une fois déterminés, permettent d'identifier les efforts de liaisons inconnus par la résolution de l'équation (B-10).

La méthode linéarisée à double incrémentation consiste à résoudre le système d'équations (B-4) en appliquant une succession d'incrément d'effort $\{\Delta F\}$ (HPD) constants et à déterminer, à chaque incrément $\{\Delta F_i\}$ appliqué, le déplacement incrémental des nœuds $\{U_{i,j}\}$ en fonction du temps t_j ($t_j = [0 ; \infty]$) de la manière suivante :

$$\{U_{i,j}\} = \left[[I_d] - \left[\exp \left(- [C_2]_{i-1}^{-1} \cdot [K_2]_{i-1} \cdot t_j \right) \right] \right] \cdot \left\{ [K_2]_{i-1}^{-1} \cdot \{\Delta F_i\} \right\} \quad (B-11)$$

A chaque incrément de force $\{\Delta F_i\}$ appliqué, les matrices de rigidité $[K_2]_{i-1}$ et d'amortissement $[C_2]_{i-1}$ sont constantes et réactualisées. Les nouvelles positions des nœuds en fin de fluage $\{U_i\}$ sont calculées à chaque incrément $\{\Delta F_i\}$ à $t_j = \infty$ (c'est à dire à la convergence vers la solution en déplacement dans le cas purement élastique) et deviennent les positions initiales pour l'application de l'incrément suivant $\{\Delta F_{i+1}\}$. Pour un effort total appliqué $\{F\} = N \cdot \{\Delta F\}$, le

déplacement final $\{U(t_\infty)\}$ s'obtient de la manière suivante :

$$\{U(t_\infty)\} = \sum_{i=1}^N \{U_i(t_\infty)\}$$

Par cette méthode linéarisée à double incrémentation, la réponse en temps de la structure lors du test de fluage, est calculée pour un effort appliqué de faible amplitude (incrément ΔF) mais cette réponse en temps est déterminée pour différents états de déformation initiaux de la structure de tenségrité testée. Ces différents états de déformation initiaux correspondent à différents $N\{\Delta F\}$ chargements appliqués à la structure de tenségrité précédent le test en fluage proprement dit.

III – Etude théorique du comportement mécanique dynamique du Modèle Numérique de Tenségrité Viscoélastique

Pour aborder le comportement dynamique du Modèle de Tenségrité Viscoélastique (MTV) et analyser plus précisément d'une part sa réponse temporelle lors de tests en fluage en grande déformation et d'autre part sa réponse fréquentielle lors de sollicitations cycliques, un MTV a été développé numériquement en utilisant un code de calcul (LMGC) développé conjointement par Frédéric Dubois et Michel Jean, respectivement au Laboratoire de Mécanique et de Génie Civil (CNRS UMR 5508, Montpellier) et au Laboratoire de Mécanique et d'Acoustique (CNRS UPR 7051, Marseille). Conçu au préalable pour la résolution de problèmes de contact (avec frottement sec) en dynamique tels que l'étude mécanique de matériaux granulaires ou d'ouvrages d'art du génie civil, le code de calcul LMGc a été appliqué pour l'étude du comportement dynamique des structures de tenségrité.

III-1 – Equations de la mécanique

Par le Principe Fondamental de la Dynamique appliqué à chacun des nœuds de la structure de tenségrité viscoélastique, on peut écrire sous forme matricielle, le système d'équations dynamiques suivant :

$$F = KU + C\dot{U} + M\ddot{U} \quad (B-12)$$

Il s'agit d'une équation différentielle du second ordre avec second membre. La solution $U(t)$ de cette équation différentielle se décompose en une solution du problème homogène équivalent $U_H(t)$ et une solution particulière $U_{sp}(t)$.

1) Solution du problème homogène équivalent

La solution du problème homogène équivalent résulte de l'équation sans second membre (F=0) suivante :

$$M \ddot{x} + C \dot{x} + K x = 0 \quad (\text{B-13})$$

dont le déterminant est :

$$\Delta = C^2 - 4KM \quad (\text{B-14})$$

a) Cas où $\Delta > 0$

Soient r_1 et r_2 les deux racines distinctes de (20). Alors, la solution de (19) s'écrit :

$$U_H(t) = \lambda_1 e^{r_1 t} + \lambda_2 e^{r_2 t} \quad (\text{B-15})$$

avec ses dérivées première et seconde :

$$\dot{U}_H(t) = \lambda_1 r_1 e^{r_1 t} + \lambda_2 r_2 e^{r_2 t} \quad (\text{B-16})$$

$$\ddot{U}_H(t) = \lambda_1 r_1^2 e^{r_1 t} + \lambda_2 r_2^2 e^{r_2 t} \quad (\text{B-17})$$

Ainsi, on a :

$$r_1 = \frac{-C - \sqrt{C^2 - 4KM}}{2M} \quad \text{et} \quad r_2 = \frac{-C + \sqrt{C^2 - 4KM}}{2M} \quad (\text{B-18})$$

De plus, si l'on considère qu'au temps initial $t=0$, les déplacements et vitesses sont nuls, par identification dans (19), il vient les expressions de λ_1 et λ_2 :

$$\lambda_1 = \frac{F}{K} \frac{C - \sqrt{C^2 - 4KM}}{2\sqrt{C^2 - 4KM}} \quad \text{et} \quad \lambda_2 = -\frac{F}{K} \frac{C + \sqrt{C^2 - 4KM}}{2\sqrt{C^2 - 4KM}} \quad (\text{B-19})$$

Par conséquent, l'expression finale de la solution $U_H(t)$ de l'équation homogène (19) est :

$$U_H(t) = \frac{F}{K} \left[\frac{C - \sqrt{C^2 - 4KM}}{2\sqrt{C^2 - 4KM}} e^{-\frac{C + \sqrt{C^2 - 4KM}}{2M} t} - \frac{C + \sqrt{C^2 - 4KM}}{2\sqrt{C^2 - 4KM}} e^{-\frac{C - \sqrt{C^2 - 4KM}}{2M} t} \right] \quad (\text{B-20})$$

b) Cas où $\Delta \leq 0$

Le cas où le déterminant Δ est négatif ou nul n'est pas explicité ici car la faible masse affectée aux nœuds (en pratique, de l'ordre du gramme), associée à une viscosité importante (en pratique, au moins un ordre de grandeur supérieur à la rigidité) dans les câbles du présent MTV, implique que Δ est toujours strictement positif (voir Eq. B-14).

2) Solution particulière de l'équation différentielle globale (Eq. B-12)

a) Pour une épreuve de fluage

Dans ce cas, la force appliquée est constante et si l'on considère la solution particulière $U_{SP}(t) = U_1 = \text{constante}$, ses dérivées première et seconde étant alors nulles, il vient par l'équation (B-

$$12) : \quad U_{SP} = \frac{F}{K} \quad (\text{B-21})$$

b) Pour des oscillations imposées

Soit $F(t) = F_0 \sin(\omega t)$ la force appliquée aux nœuds #6 et #11. Leur déplacement, vitesse et accélération s'écrivent donc :

$$U_{SP}(t) = X_0 \cos(\omega t) + X_1 \sin(\omega t), \quad (\text{B-22})$$

$$\dot{U}_{SP}(t) = -\omega (X_0 \sin(\omega t) - X_1 \cos(\omega t)) \quad (\text{B-23})$$

$$\text{et : } \ddot{U}_{SP}(t) = -\omega^2 (X_0 \cos(\omega t) + X_1 \sin(\omega t)) = -\omega^2 U_{SP}(t). \quad (\text{B-24})$$

En remplaçant le déplacement, la vitesse et l'accélération par leur expression respective (B-22 à B-24) dans l'équation de la dynamique (B-12) il vient le système d'équations suivant :

$$\begin{cases} X_0 (K - \omega^2 M) + X_1 \omega C = 0 \\ -X_0 \omega C + X_1 (K - \omega^2 M) = F_0 \end{cases} \quad (\text{B-25})$$

Dont la solution est :

$$\begin{cases} X_0 = -\frac{\omega C}{(K-\omega^2 M)^2 + \omega^2 C^2} F_0 \\ X_1 = \frac{K-\omega^2 M}{(K-\omega^2 M)^2 + \omega^2 C^2} F_0 \end{cases} \quad (\text{B-26})$$

D'où la solution particulière dans le cas d'oscillations forcées appliquées au MTV :

$$U_{SP}(t) = \left(-\frac{\omega C}{(K-\omega^2 M)^2 + \omega^2 C^2} \cos(\omega t) + \frac{K-\omega^2 M}{(K-\omega^2 M)^2 + \omega^2 C^2} \sin(\omega t) \right) F_0 \quad (\text{B-27})$$

3) Solution générale de l'équation différentielle globale (Eq. B-12)

La solution générale de l'équation différentielle (18) est de la forme $U(t) = U_H(t) + U_{SP}(t)$.

Cas 1 : F constant et $\Delta > 0$

$$U(t) = \frac{F}{K} \left[1 + \frac{C - \sqrt{C^2 - 4KM}}{2\sqrt{C^2 - 4KM}} e^{-\frac{C + \sqrt{C^2 - 4KM}}{2M} t} - \frac{C + \sqrt{C^2 - 4KM}}{2\sqrt{C^2 - 4KM}} e^{-\frac{C - \sqrt{C^2 - 4KM}}{2M} t} \right] \quad (\text{B-28})$$

Cas 2 : F sinusoïdale et $\Delta > 0$

$$U(t) = F_0 \left\{ \frac{1}{K} \left(\frac{C - \sqrt{C^2 - 4KM}}{2\sqrt{C^2 - 4KM}} e^{-\frac{C + \sqrt{C^2 - 4KM}}{2M} t} - \frac{C + \sqrt{C^2 - 4KM}}{2\sqrt{C^2 - 4KM}} e^{-\frac{C - \sqrt{C^2 - 4KM}}{2M} t} \right) \dots \right. \\ \left. \dots + \left(\frac{K - \omega^2 M}{(K - \omega^2 M)^2 + \omega^2 C^2} \sin(\omega t) - \frac{\omega C}{(K - \omega^2 M)^2 + \omega^2 C^2} \cos(\omega t) \right) \right\} \quad (\text{B-29})$$

III-2 – Méthode de résolution numérique

La méthode de résolution utilisée pour le présent problème dynamique s'appuie sur la méthode NSCD (Non-Smooth Contact Dynamics) initiée par Jean et Moreau [Cambou et coll. 2001 ; Jean 1999]. Cette méthode, qui fut appliquée initialement à des collections de grains rigides ou déformables, gère les actions intergranulaires de contact frottant en considérant des conditions

d'unilatéralité (conditions de Signorini) et de frottement sec de Coulomb, dont les graphes présentent des pentes infinies. Cette méthode traite l'équation de la dynamique et des relations intergranulaires suivant un schéma implicite.

Dans cette méthode, le MTV à 30 éléments est considérée comme un ensemble de 12 points matériels pesants (les nœuds de la structure sont modélisé par des corps rigides sphériques de dimension unitaire et de masse m). Les barres et les câbles sont définis par des lois d'interactions entre ces nœuds. Ces lois d'interactions prennent en compte les propriétés physiques ainsi que les lois de comportement des barres et des câbles Dans le cas des câbles, la loi d'interaction respecte la condition d'unilatéralité. En effet, le contact entre deux nœuds de la structure à travers un câble est unilatéral ; si la longueur du câble (c'est à dire la distance entre les 2 nœuds correspondants) est inférieure à sa longueur libre, le contact s'annule (tension nulle) et le câble se relâche, ce qui est à rapprocher de ce qui a été récemment observé pour les fibres de tension du CSQ [Costa et coll. 2002]. Dans le cas des barres, il n'y a pas de conditions d'unilatéralité car ces éléments peuvent travailler en compression comme en traction.

L'équation à résoudre est de la forme suivante [Jean 1999] :

$$[M(x)] \cdot \{\ddot{x}\} = \{F\} + \{r(x)\} \quad (B-30)$$

où $[M(x)]$ est la matrice de masse (12×3) des 12 nœuds du MTV testé, $\{F\}$ le vecteur des efforts extérieurs appliqués et $\{r(x)\}$ le vecteur des forces d'interactions qui prend en compte les lois de comportement et la géométrie des éléments barres et câbles du MTV. La variable « x » représente le déplacement des nœuds.

Les lois d'interaction entre 2 nœuds matériels spécifiques sont définies de la manière suivante :

$$\begin{cases} \bar{x} \geq 0 \\ R \geq 0 \\ \bar{x} \cdot R = 0 \end{cases} \quad (B-31)$$

$$\text{avec } \begin{cases} x = l - l_0 \\ \bar{x} = -x + \frac{1}{k}R \end{cases} ; l \text{ (respectivement, } l_0) \text{ est la longueur actuelle (respectivement, libre) de l'élément}$$

câble ou barre ; $k (=ES/l_0)_p$ la rigidité de l'élément et R la force de réaction entre les nœuds voisins. Les inconnus de ces conditions de contraintes (\bar{x} ; R) sont pris en compte dans l'équation (B-30) à résoudre. La méthode NSCD utilise une méthode incrémentale linéarisée implicite pour résoudre ce système d'équations linéaires avec contraintes (voir annexe A3).

Il est à noter que la masse des nœuds est supposée petite et que la structure se trouve placée en l'absence de toute force de gravité, ceci permettant d'effectuer une étude en dynamique de la structure de tensegrité en minimisant les effets inertiels qui sont en dehors du propos de la présente étude. Naturellement, les matrices de rigidité et d'amortissement de l'équation générale de la dynamique (B-12) se retrouvent dans le vecteur des lois d'interaction $\{r(x)\}$ de l'équation de la dynamique réécrite à travers la méthode NSCD (Eq. B-30 ; voir détails dans l'annexe A3).

Ce code de calcul présente de nombreux avantages :

- 1) les conditions de liaison et d'effort appliqué au MTV sont illimitées ;
- 2) LMGC permet des calculs d'une vitesse beaucoup plus grande que Matlab (rapport 1/100) ;
- 3) par la condition d'unilatéralité, le code gère les cas où les câbles deviennent ou sont détendus ;
- 4) la répartition des tensions et compressions dans les éléments constitutifs à chaque état de déformation de la structure est connue et peut être visualisée ;
- 5) la puissance de calcul du code permet d'effectuer des simulations de grandes déformations de la structure de tensegrité viscoélastique aussi bien soumise à des tests de fluage qu'à des efforts cycliques de grandes amplitudes, comme cela peut être le cas pour des cellules vivantes en conditions *in vivo*.

IV – Analyse adimensionnelle du comportement mécanique du Modèle de Tenségrité Viscoélastique (MTV)

Dans le but d'interpréter les résultats biologiques à l'échelle de la cellule classiquement exprimés en termes de grandeurs mécaniques issues des milieux continus, il est indispensable de décrire le comportement viscoélastique des MTV testés dans des termes équivalents. Pour ce faire, le modèle de tenségrité viscoélastique est associé à un milieu équivalent type « solide viscoélastique » homogène continu, supposé non isotrope. De part la nature discrète de la structure de tenségrité, cette anisotropie résulte du réarrangement spatial des éléments constitutifs (barres et câbles) précontraints variant suivant les conditions de liaisons et d'efforts extérieurs appliqués [Wendling et coll. 1999]. Ce solide équivalent a les dimensions d'un cylindre englobant l'ensemble de la structure dont la hauteur et le diamètre sont équivalents à la longueur des barres, L_b (voir figure B1) permettant de définir des contraintes et des déformations équivalentes globales de la structure, suivant une description Lagrangienne. Les modules d'élasticité E et de viscosité η ainsi que la constante de temps τ équivalents du MTV sont analysés en fonction des propriétés locales des éléments constitutifs de la structure telles que la longueur des barres L_b et la tension des câbles $T_c^{(r)}$ à l'état de référence.

Afin de permettre l'interprétation à l'échelle microscopique de la cellule, les résultats de la structure de tenségrité viscoélastique macroscopique sont normalisés par les propriétés géométriques et mécaniques de éléments câbles qui prédominent le comportement viscoélastique du MTV. Les propriétés viscoélastiques globales (E , η , τ) et les propriétés physiques (L_b , $T_c^{(r)}$) locales du MTV sont rapportées respectivement aux propriétés viscoélastiques (E_c , η_c , τ_c) et physiques (rayon r_c ; force de rappel $(ES)_c$) des câbles de la manière suivante [Wendling et coll. 1999] :

$$\text{Module d'élasticité normalisé : } E^* = E/E_c$$

Module de viscosité normalisé : $\eta^* = \eta/\eta_c$

Constante de temps normalisés : $\tau^* = \tau/\tau_c$.

Longueur normalisée : $L^* = L_b/r_c$, correspondant à la taille caractéristique du MTV

Tension interne normalisée : $T^* = T_c/(ES)_c \equiv \epsilon_c$, correspondant à l'extension initiale des câbles.

Il est ainsi possible de caractériser une large gamme de modèles de tenségrité viscoélastiques à 30 éléments, variant par leur longueur normalisée $L^* = [10 ; 100 ; 1000 ; 10000]$ ainsi que leur tension interne normalisée $T^* = [0,005 ; 0,05 ; 0,25 ; 0,50 ; 0,75]$. L'utilisation de ces grandeurs adimensionnelles permet le passage de l'échelle macroscopique des MTV étudiés à l'échelle réelle microscopique du cytosquelette.

Enfin, les interdépendances de ces propriétés et variables adimensionnelles sont analysées lors des épreuves de fluage en petites et grandes déformations ainsi que de l'étude dynamique. Ces résultats sont présentés et discutés dans les Parties D (Résultats) et E (Discussion) suivantes.

Partie C : Description du protocole expérimental pour la mesure de la réponse en fréquence du cytosquelette testée par magnétocytométrie

Ce chapitre décrit la méthode expérimentale pour mesurer et analyser les propriétés viscoélastiques de cellules adhérentes testées par la technique de magnétocytométrie (MTC) en conditions oscillantes, dans le but de contribuer à vérifier les prédictions du présent modèle de tenségrité viscoélastique (MTV) établissant la viscoélasticité structurale du cytosquelette. En effet, la MTC fait partie des procédés de micromanipulation cellulaire particulièrement adaptés à l'étude de la réponse mécanique spécifique du cytosquelette. Le dispositif expérimental de MTC, décrit dans le paragraphe I, a été fabriqué par l'équipe « Biomécanique cellulaire et respiratoire » de l'INSERM UMR 492 et amélioré par Valérie M. Laurent au cours de sa thèse [Laurent 2000]. Elaboré au départ pour effectuer des études en conditions quasi statiques (épreuves de fluage et de recouvrement) ce banc de MTC a dû être modifié (paragraphe II) afin de caractériser les propriétés viscoélastiques du cytosquelette en conditions oscillantes, c'est à dire sous contraintes mécaniques harmoniques (oscillations imposées). Quelques études expérimentales récentes font, en effet, apparaître que les propriétés viscoélastiques des cellules adhérentes dépendent de la fréquence imposée (voir Partie A paragraphe II-1-1). Cette propriété a été attribuée à la structure polymérique complexe du CSQ [Maksym et coll. 2000].

Les cellules testées dans la présente étude sont des cellules de l'épithélium alvéolaire (lignée A549) cultivées au sein de l'INSERM UMR 492, le protocole expérimental suivi étant exposé dans le paragraphe III, qui n'ont jamais été testées précédemment en conditions oscillantes.

I – Description du banc de magnétoctométrie (MTC)

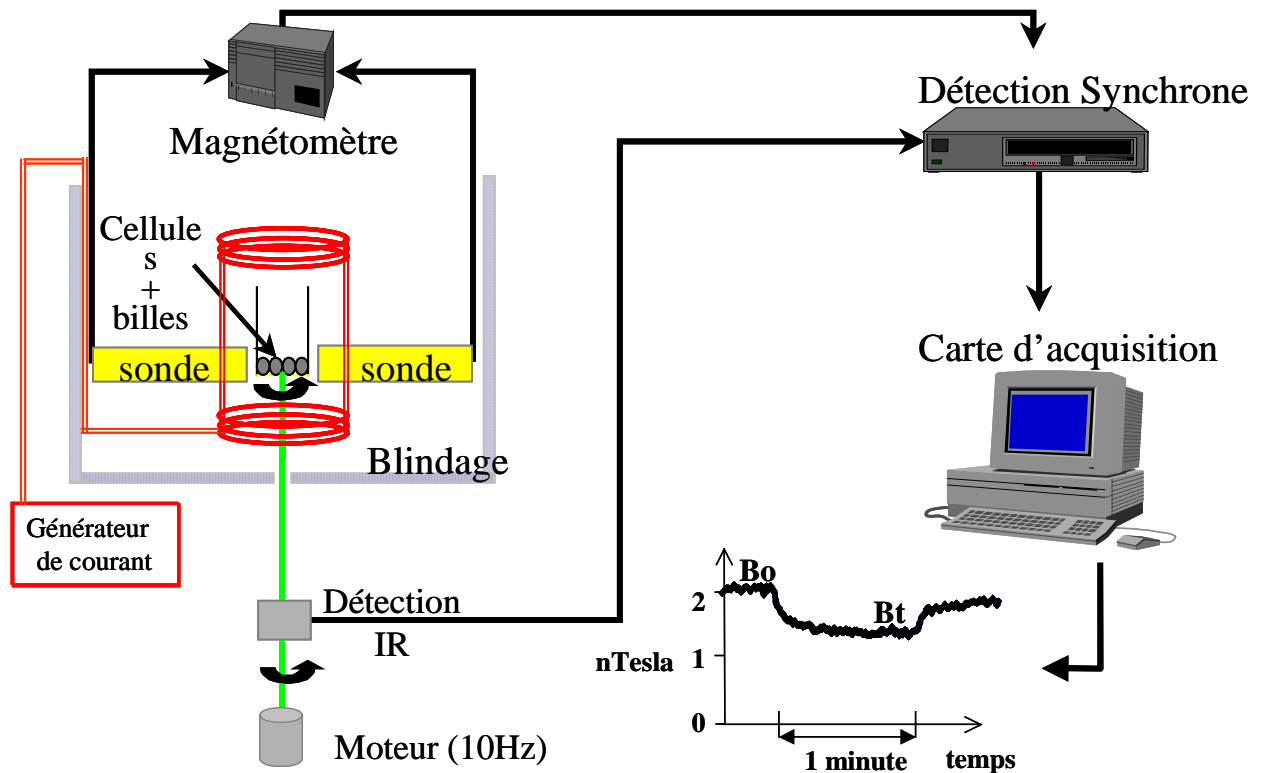


Figure C1 : Schéma représentatif du banc expérimental de magnétoctométrie.

L'expérience de micromanipulation cellulaire par magnétoctométrie peut être schématisée en 3 étapes :

La première consiste à placer des microbilles ferromagnétiques sur une mono-couche de cellules adhérentes à l'aide de ligands spécifiques des mécanorécepteurs transmembranaires, de type intégrines, liés au cytosquelette. La deuxième phase permet ensuite de magnétiser ces billes selon une direction donnée par un champ bref et de haute intensité. Enfin, la troisième étape consiste à générer un champ magnétique uniforme et perpendiculaire à la direction de

magnétisation initiale des billes. Ce champ génère un couple magnétique (correspondant à une contrainte magnétique) appliqué sur les billes, les entraînant dans une rotation. La déviation angulaire résultant de la rotation est déterminée à partir des changements dans les propriétés moyennes du moment magnétique rémanent des billes mesuré par un magnétomètre.

La magnétisation des microbilles fixées sur les mécanorécepteurs des cellules s'effectue au moyen de bobines de Helmholtz créant un champ vertical, perpendiculaire au plan horizontal de la culture cellulaire, et alimentées par un circuit électrique qui permet de charger et de décharger un circuit résonnant, impliquant un condensateur de $330\mu\text{F}$. La décharge de ce circuit dans les bobines produit une impulsion de courant d'une intensité maximale avoisinant les 1700A , générant un champ magnétique horizontal de 150mT (1500 Gauss) très bref ($150\mu\text{s}$). La distance entre les bobines de Helmholtz est choisie égale à leur rayon (31mm) afin d'obtenir un champ magnétique uniforme dans la zone centrale de leur axe, où est placé le puits cellulaire ($\varnothing\approx 6\text{mm}$). Les microbilles ferromagnétiques (Spherotec, USA) sont ainsi toutes identiquement magnétisées suivant une même direction horizontale. Ces billes sont composées d'un cœur en polystyrène recouvert de particules de dioxyde de chromium, pour un diamètre moyen de $4,5\mu\text{m}$ et une masse volumique (ρ_{bille}) légèrement supérieure à celle de l'air ($\rho_{\text{air}} \approx 1,8\text{ kg/m}^3$), c'est à dire une densité de $1,5$ ($\rho_{\text{bille}}/\rho_{\text{air}} = 1,5$).

Les puits cellulaires à tester sont alors placés dans une chambre expérimentale magnétiquement blindée, ce qui permet de protéger la mesure du champ rémanent des billes des variations des champs extérieurs parasites, comme le champ magnétique terrestre ($\sim 0,045\text{mT}$) ou encore les champs magnétiques provenant des appareils électriques voisins (ordinateurs, alimentations, etc.). Deux autres bobines de Helmholtz reliées à trois alimentations monopolaires en série produisent un courant électrique d'une intensité maximale de 15A , donc un champ

magnétique d'une intensité maximale de 6,3mT pendant 1 min dans une direction verticale perpendiculaire à la direction d'orientation magnétique des billes. L'espace entre ces bobines est d'une part réduit afin de permettre la production d'un champ magnétique uniforme au niveau du puit cellulaire et, d'autre part, suffisamment grand (plus de 11mm) pour permettre le passage des sondes du magnétomètre au plus près du puits ce qui permet d'augmenter le niveau du signal mesuré (signal du champ rémanent des billes). C'est, en effet, la mesure de la projection du champ rémanent des billes dans le plan de la culture cellulaire par les sondes reliées au magnétomètre (Magnetoscop 1.068 Forster, Allemagne) et maintenues selon une configuration antiparallèle (voir figure C1) qui permet d'évaluer la déviation angulaire des billes ($b(t)=b_0\cos(\Theta(t))$) où b_0 est le champ rémanent initial mesuré avant l'application du couple magnétique et $b(t)$ le champ rémanent mesuré à l'instant t ; $b \leq b_0$) pendant l'application du couple magnétique. Cette déviation dépend de la « résistance » cellulaire à la rotation des billes reliées au cytosquelette, donc à la déformation du CSQ, reflétant ainsi les propriétés mécaniques de la structure cytosquelettique.

Par ailleurs, si le blindage magnétique permet de s'affranchir de l'effet des bruits magnétiques parasites extérieurs (champ magnétique terrestre, ordinateurs et autres appareils électriques) sur le signal mesuré, il est nécessaire d'utiliser une détection synchrone afin d'éliminer l'ensemble des bruits magnétiques perturbant le signal brut du champ rémanent des billes et dont une partie non négligeable est d'origine interne au dispositif expérimental. En effet, malgré toutes les précautions prises pour le montage du banc expérimental, les sondes de mesures ne sont pas parfaitement alignées et horizontales, ce qui perturbe le signal mesuré d'une valeur dépendant plus ou moins du champ magnétique vertical. Bien que celui-ci soit beaucoup plus grand (10^6 fois) que le champ rémanent des billes (de l'ordre du nanoTesla) cette perturbation est manifeste mais peut être éliminée par la détection synchrone (dont le principe est énoncé en annexe A4). De plus, la circulation du courant dans les bobines en chauffe les fils de cuivre, ce qui peut induire

des déformations du plastique entourant les sondes et/ou du support des sondes (PVC) pouvant ainsi entraîner une modification du signal mesuré. Les mesures par détection synchrone nécessitent de faire osciller le signal étudié à une fréquence connue, en pratique mesurée en permanence par un détecteur. Pour cela, le puits cellulaire est entraîné dans un mouvement de rotation par un moteur à courant continu (voir figure C1) et un système infrarouge permet de mesurer en permanence la fréquence de rotation du puits (environ 10Hz). Ce détecteur synchrone est assorti d'un filtre passe bas, dont la constante de temps définissant la fréquence de coupure ($\tau_c=1/(2\pi f_c)$, avec f_c la fréquence de coupure du filtre) est un compromis entre l'élimination du bruit et la préservation des variations rapides du champ rémanent ; une constante de temps de 300 ms a été finalement choisie.

Les signaux sont enfin recueillis sur un ordinateur à l'aide du système d'acquisition Acqknowledge (Biopac, USA) qui permet de visualiser les variations de ces signaux (champs magnétique perpendiculaire, champs rémanent) au cours du temps et de les enregistrer. Le post-traitement de ces données permet de déterminer la relation contrainte-déformation sous la forme d'une relation entre le couple magnétique appliqué rapporté au volume de la microbilles (homogène à une contrainte) et la déviation angulaire (homogène à une déformation du CSQ).

II – Transformation du dispositif expérimental

L'objectif, dans le cadre du présent projet, est de pouvoir mesurer les propriétés mécaniques spécifiques du cytosquelette de cellules adhérentes en réponse à diverses sollicitations harmoniques afin de pouvoir apprécier le rôle de la fréquence sur les propriétés viscoélastiques cellulaires. Les sondes étant placées horizontalement (c'est à dire dans le plan de la culture cellulaire) le signal qu'elles recueillent est lié à la rotation des billes via le cosinus « moyen » de

l'angle de déviation : $b(t) = b_0 \cos(\Theta(t))$. En raison de la symétrie de la fonction cosinus autour de zéro (fonction paire), il n'est pas possible de différencier le signal correspondant à une déviation d'un angle θ de celui correspondant à $-\theta$. De même, il est impossible d'évaluer un éventuel déphasage entre la sollicitation et la réponse [Maksym et coll. 2000]. La première modification a donc concerné le dispositif de magnétisation : les billes sont dorénavant magnétisée non plus suivant une direction horizontale mais suivant un angle de 45° par rapport à cette dernière. Une fois que le puit ainsi préparé (magnétisation des billes à 45°) est placé dans le dispositif d'application du champ vertical, des forces oscillantes « autour de zéro » seront perçues par les sondes comme des oscillations « autour de direction angulaire initiale de 45° », permettant cette fois de différencier le sens de la déformation autour de la position initiale [Maksym et coll. 2000].

Par ailleurs, les trois alimentations utilisées jusqu'à présent ne délivrent qu'un courant électrique monopolaire. Cependant, pour pouvoir appliquer un champ magnétique oscillant par les bobines de Helmholtz, une condition nécessaire et suffisante est de pouvoir inverser le sens du courant. Il a donc été procédé au remplacement de ces trois alimentations par une seule (construite au sein de l'INSERM UMR 492, en collaboration avec l'IUT de Créteil département GEII de l'Université Paris 12) capable de fournir l'intensité maximale désirée dans les bobines (15A) dans les deux sens possibles de passage du courant et ayant une rapidité de réponse suffisante pour pouvoir imposer des fréquences relativement hautes (jusqu'à 50000Hz). Cette nouvelle alimentation est pilotée par ordinateur, à travers une carte de commande et d'acquisition Fastlab (Eurosmart, France), qui permet de générer une tension électrique de n'importe quelle forme et notamment fonction sinusoïdale du temps. Le boîtier d'alimentation génère dans ce cas un courant électrique directement proportionnel à la tension électrique d'entrée. Avec ces modifications, il est désormais possible d'appliquer des efforts harmoniques par le banc de magnétocytométrie et donc d'analyser la dépendance des propriétés viscoélastiques du CSQ en fonction de la fréquence imposée.

Enfin, un programme de traitement des signaux obtenus par cette technique expérimentale a été développé en langage Fortran, permettant d'obtenir directement les parties réelles et imaginaires (après une transformée de Fourier des signaux de contrainte et déformation) correspondant respectivement aux composantes élastique et visqueuse de la réponse mécanique du cytosquelette. Ainsi, la projection mesurée du champ rémanent b_{rem} par le magnétomètre est :

$$b\{t\} = b_{rem} \cos(\Theta_i + \varepsilon\{t\}) \quad (C-1)$$

où Θ_i est l'angle de la direction de magnétisation par rapport à l'horizontale (ici 45°) et $\varepsilon(t)$ est la déviation angulaire par rapport à la direction angulaire initiale ($\varepsilon_{(t=0)}=0$). A l'instant initial la mesure est donnée par :

$$b\{t=0\} = b_{rem} \cos(\Theta_i) = b_0 \quad (C-2)$$

Ceci permet de déduire à tout instant la déviation angulaire et la valeur du terme en cosinus de C-1 :

$$\varepsilon\{t\} = \text{Ar cos} \left[\frac{b\{t\}}{b\{t=0\}} \cdot \cos(\Theta_i) \right] - \Theta_i \quad \text{et} \quad \cos(\Theta_i + \varepsilon\{t\}) = \cos(\Theta_i) \cdot \frac{b\{t\}}{b\{t=0\}} \quad (C-3)$$

Le couple exercé par le champ magnétique perpendiculaire est donné par :

$$\vec{C}\{t\} = \mu_0 \cdot \vec{M}_{mag} \wedge \vec{M}_t\{t\} \quad (C-4)$$

$$C\{t\} = \mu_0 \cdot M_{mag} \cdot M_t \cos(\Theta_i + \varepsilon\{t\}) \quad (C-5)$$

avec $\mu_0 = 4.\pi 10^{-07} \text{ N.A}^{-2}$ et $M_{mag} = 2,3.10^{-13} \text{ A.m}^2$

$$C\{t\} = \mu_0 \cdot M_{mag} \cdot M_t \cos(\Theta_i) \cdot \frac{b\{t\}}{b\{t=0\}} \quad (C-6)$$

La contrainte est donnée par :

$$\sigma(t) = \frac{C(t)}{kf \text{Vol}_{bille}} \quad (C-7)$$

avec $kf = 6$ si billes sphériques et $\text{Vol}_{bille} = \text{volume d'une bille}$

Le module de Young apparent est alors :

$$E\{\omega\} = \frac{\text{FFT}\{\sigma\{t\}\}}{\text{FFT}\{\varepsilon\{t\}\}} \quad (\text{C-8})$$

où $\text{FFT}\{x\}$ désigne la transformée rapide de Fourier de x et ω la pulsation.

La rigidité est donc obtenue par la partie réelle de $E\{\omega\}$ alors que la partie imaginaire de $E\{\omega\}/\omega$ donne la viscosité dynamique apparente [Maksym et coll. 2000].

III – Description du protocole expérimental

Pour la présente étude, les cellules utilisées sont des cellules épithéliales alvéolaires adhérentes (A549). Ces dernières font partie d'une lignée de cellules issues de cancer pulmonaire (American Type Culture collection, Rockville, MD, USA). La partie concernant strictement la culture des cellules épithéliales A549 ainsi que les étapes (a) à (c) décrites ci-dessous ne sont pas présentées dans le détail car étant en dehors du champ du présent projet ; il y a lieu de se reporter à la thèse de Valérie Laurent [Laurent 2000].

(a) Revêtement des billes par un ligand spécifique des récepteurs intégrines

Les microbilles ferromagnétiques utilisées dans cette étude présentent des groupements COOH à leur surface (Spherotec, Carboxyl ferromagnetic). Elles sont incubées à température ambiante pendant deux heures, sous agitation douce, en présence d'un peptide RGD, spécifique des intégrines (2 mg de billes / 0,2 mg de protéines / ml) dans un tampon phosphate de sodium à 100 mM et à pH 5, contenant de l'EDAC à 1 mg/ml. Après plusieurs lavages dans du PBS²⁻

pour éliminer l'excès de ligand, les billes sont remises en suspension (concentration de 1,5 mg/ml) dans du PBS²⁻ contenant 1% de BSA (Bovine Serum Albumin) puis conservées à 4°C.

(b) Ensemencement des cellules

Les puits cellulaires utilisés dans les micromanipulations par magnétocytométrie sont des puits individuels issus de plaques de 96 puits (0,32 cm²), dont le fond est incubé avec de la fibronectine (1,6 µg/cm²) durant trois heures à température ambiante puis rincé trois fois dans du tampon physiologique, afin de permettre l'adhésion cellulaire. La veille de l'expérience, 50 000 cellules sont ensemencées par puits dans 0,2 ml de milieu de culture complet. Une demi-heure avant la fixation des billes sur les récepteurs intégrines, le milieu complet est remplacé par du milieu de culture contenant 1% de BSA afin de saturer les sites aspécifiques.

(c) Fixation des billes sur les cellules

Les billes sont remises en suspension dans du milieu de culture contenant 1% de BSA à une concentration de 0,3 mg de billes/ml et démagnétisées à l'aide d'un système de démagnétisation constitué d'un alternostat commandé manuellement et d'un solénoïde ($I_{\max}=8A$, Résistance $R=2,7\Omega$) à l'intérieur duquel se trouve un noyau de fer doux. Les cellules sont ensuite incubées en présence des microbilles pendant 30 minutes à 37°C. Plusieurs lavages de la préparation à l'aide de milieu de culture contenant 1% de BSA permettent, enfin, d'éliminer les billes non fixées.

(d) Mesure de la réponse mécanique du cytosquelette des cellules par magnétocytométrie

Le puits contenant les cellules à tester, avec les microbilles ferromagnétiques fixées spécifiquement aux complexes intégrines, est placé dans le système de magnétisation oblique (à 45°) précédemment décrit. Une fois les billes magnétisées, le puits est déposé dans le dispositif d'application du champ magnétique vertical dont les bobines sont connectées à l'alimentation bipolaire.

L'utilisateur choisit le type de champ magnétique qu'il veut appliquer (champ constant, rampe, sinusoïde à fréquence définie, etc.) par le type de courant électrique qu'il va envoyer aux bobines par l'alimentation. En effet, le signal analogique envoyé par l'ordinateur à l'alimentation est défini par une fonction reliant l'intensité (amplitude) au temps, ce qui permet donc de fixer tout type de signal et, par suite, tout type de champ magnétique au niveau des bobines de Helmholtz.

La mesure par le magnétomètre peut se décomposer en trois périodes :

- i. Dans un premier temps, le champ rémanent des billes est mesuré en l'absence de champ magnétique vertical afin d'établir une valeur moyenne à l'état de base. Cette étape dure près d'une minute, afin de déterminer la moyenne la plus exacte possible.
- ii. La deuxième étape consiste en la mesure du champ rémanent des billes lorsqu'un champ magnétique vertical est généré par les bobines de Helmholtz. Selon le signal au contenu fréquentiel choisi, cette étape a une durée pouvant varier d'une demi-minute (pour les plus hautes fréquences de cette étude, c'est à dire de l'ordre du Hertz) à une douzaine de minutes (pour les plus faibles fréquences, c'est à dire de l'ordre du centième de Hertz).

- iii. La troisième étape consiste à mesurer le champ rémanent des billes après annulation du champ magnétique vertical (elle dure près d'une minute).

L'intérêt de ce protocole expérimental est d'appliquer des forces harmoniques dans une large gamme de fréquences qui peuvent varier entre 0,01Hz et 2Hz. Cette gamme de fréquence englobe largement les fréquences choisies par Maksym et collaborateurs (0,05 ; 0,1 ; 0,2 et 0,4 Hz) dans son étude menée par MTC oscillante sur des cultures de cellules musculaires lisses [Maksym et coll. 2000].

La méthode décrite ci-dessus vient d'être implantée sur le banc de magnétocymétrie de UMR 492 à Créteil. Des résultats sur cellules vivantes n'ont pas été obtenus à ce jour en nombre suffisants pour être présentés. Les tout premiers essais restent parcellaires et semblent montrer la faisabilité de la méthode. Nous ne sommes pas encore en mesure de montrer une applicabilité du modèle MTV en conditions sinusoïdales sur des cultures de cellules épithéliales alvéolaires.

Partie D : Caractérisation mécanique des modèles de tensegrité : résultats théoriques et expérimentaux – synthèse

Le présent travail représente une contribution à l'étude systématique des modèles physiques et théoriques de type structures de tensegrité. Il est appliqué à l'analyse du comportement mécanique des cellules adhérentes. Plusieurs modèles viscoélastiques (numériques et physique) de structures de tensegrité ont été testés, en complémentarité avec les études antérieures effectuées sur des modèles de tensegrité purement élastiques. Les modèles viscoélastiques caractérisés ici sont en effet équivalents aux modèles précédents en termes de forme et de nombre d'éléments (octaèdre expansé de 6 barres et 24 câbles). De plus, comme lors des études antérieures à la présente, plusieurs conditions d'efforts statiques et cycliques ont été testées, sur une classe donnée de modèles de tensegrité viscoélastiques, différant en termes de tailles, d'états d'autocontrainte et de propriétés mécaniques des éléments (modules d'élasticité et de viscosité). L'idée reste ainsi, à l'image des études précédentes sur des modèles de tensegrité purement élastiques, de déterminer l'origine structurale du comportement viscoélastique cellulaire à partir des lois de comportement déterminées ici pour les structures de tensegrité composées d'éléments viscoélastiques. Il s'avère que les dépendances établies dans le présent travail entre le module global de viscosité (η^*) ainsi que la constante de temps globale (τ^*) et les paramètres caractérisant les composants structuraux (géométrie et propriétés viscoélastiques) n'ont jamais été décrites auparavant, d'où l'apport de la présente étude en terme d'avancement des connaissances sur la contribution du réarrangement structural sur la réponse dynamique globale des structures de tensegrité.

Des simulations numériques de tests de fluage et d'oscillations imposées ont été effectuées en petites déformations pour analyser l'influence des paramètres locaux caractérisant les éléments structuraux sur le comportement viscoélastique global de la structure de tenségrité à 30 éléments, à savoir le module apparent normalisé de viscosité η^* global de la structure, déduit du module normalisé d'élasticité E^* et de la constante de temps normalisée τ^* globaux. Ces propriétés viscoélastiques globales du MTV sont ainsi étudiés en fonction de la tension interne normalisée T^* , définie comme l'allongement des éléments viscoélastiques à l'état de référence de la structure, de la longueur normalisée L^* des éléments rigides et des propriétés viscoélastiques des câbles (les modules d'élasticité E_c et de viscosité η_c , et la constante de temps τ_c) ainsi que du niveau de déformation ϵ de la structure globale en fluage. Ces différents paramètres permettent d'analyser l'influence, sur le comportement viscoélastique global du MTV, de (i) la taille de la structure (L^*) encore appelé effet d'échelle, (ii) la tension interne (T^*) et (iii) la modulation de la distribution de cette tension interne associée à différents états de déformation initiale globale du modèle de tenségrité. Les variations de l'anisotropie de la structure sont obtenues pour différentes valeurs de la déformation globale ϵ lors des tests en fluage. Enfin, les résultats du modèle théorique sont confrontés à un modèle expérimental dans des conditions identiques, notamment des simulations en vitesses imposées pour une structure physique de tenségrité viscoélastique de caractéristiques géométriques et mécaniques connues, dans des niveaux de déformation globale assez bas ($\epsilon \leq 10\%$) pour s'assurer de rester dans la partie linéaire du comportement mécanique des éléments constituant le modèle physique.

I – Résultats issus des simulations sur les modèles numériques de tenségrité viscoélastique

Le modèle de tenségrité viscoélastique à 30 éléments a été testés en fluage ainsi qu'en oscillations imposées dans une grande variété de conditions géométriques et de type d'efforts appliqués correspondant à autant de configurations différentes de distributions spatiales anisotropiques des efforts de tension et compression dans les éléments constitutifs. Ces différentes organisations géométriques du MTV dépendent des conditions de liaison de la structure à un support externe (4 nœuds fixes dans la présente étude) et du niveau de déformation globale ε du MTV. C'est en effet le déplacement relatif des éléments structuraux en réponse à un niveau de chargement donné qui gouverne le processus de déformation globale du MTV. Ainsi, en fonction du niveau et du type (traction, compression, cisaillement ou torsion) de la force externe appliquée à la structure de tenségrité ainsi que des conditions de liaison de la structure, les éléments (barres et câbles) se trouvent entraînés dans des mouvements spécifiques de translation et/ou de rotation les uns par rapport aux autres, certains composants étant alors plus étirés ou comprimés que d'autres, conduisant à une répartition inégale (anisotrope) dans les valeurs de tension des câbles et de compression des barres. Des lois de comportement en termes de modules de viscosité et d'élasticité en fonction de la taille normalisée (L^*) et la tension interne normalisée (T^*) ont ainsi été obtenues et une analyse de l'effet de l'anisotropie des tensions initiales des éléments par l'influence du niveau de déformation globale initiale (avant le test de fluage proprement dit) du MTV sur les propriétés viscoélastiques du modèle de tenségrité a été effectuée en petites et grandes déformations (pour les tests de fluage). Des relations en terme de modules d'élasticité et de viscosité en fonction de la fréquence et des paramètres locaux (L^* et T^*) ont également été obtenues à l'aide d'un modèle équivalent sous sollicitations cycliques imposées, sans déformation globale initiale du MTV.

I-1 – Simulations de tests de fluage du Modèle de Tenségrité Viscoélastique (MTV) en petites déformations

Dans ces essais, le MTV est soumis à différents niveaux de déformation globale initiale (ϵ_i) avant la simulation des tests de fluage proprement dits. Ceux-ci sont obtenus par l'application de différents types d'effort constant (traction, compression, cisaillement et torsion).

I-1-1) Effets de la répartition anisotrope des tensions dans les éléments constitutifs du MTV sur ses propriétés viscoélastiques globales.

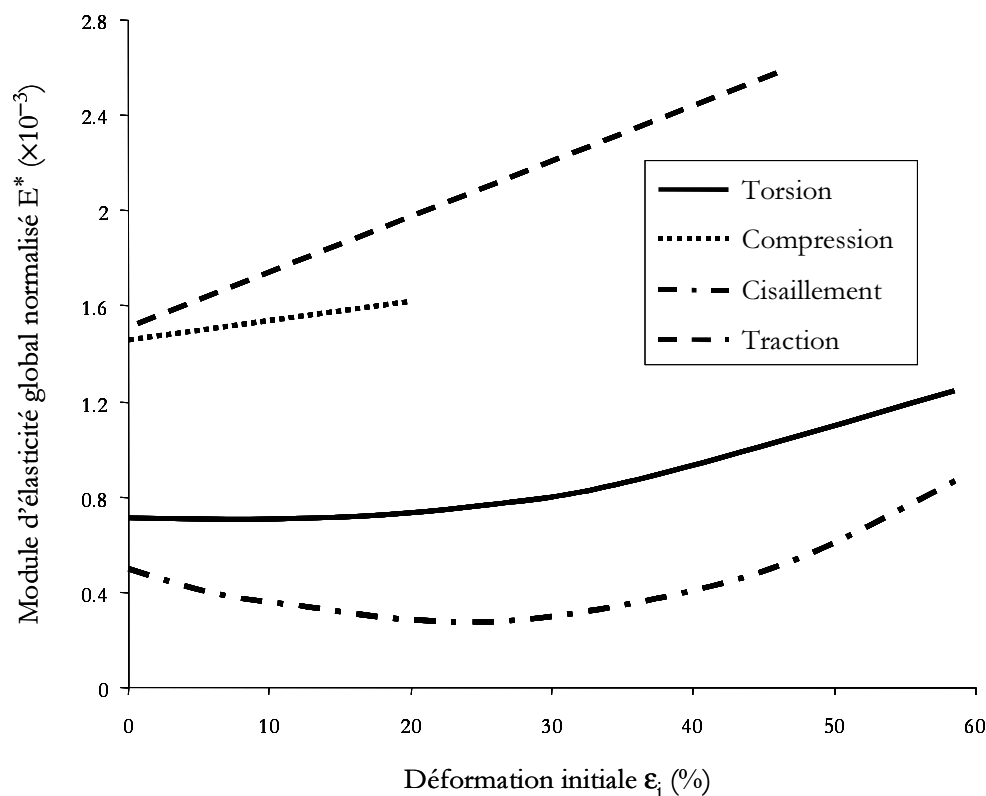


Figure D1 : Résultats numériques des tests de fluage : Variation du module d'élasticité global normalisé (E^*) en fonction de l'état de déformation initiale (ϵ_i) du MTV soumis à 4 types de chargement ($L^* = 100$ et $T^* = 0,25$). Il est à noter que le module d'élasticité du modèle est toujours très inférieur à celui des éléments constitutifs ($E^* \ll 1$).

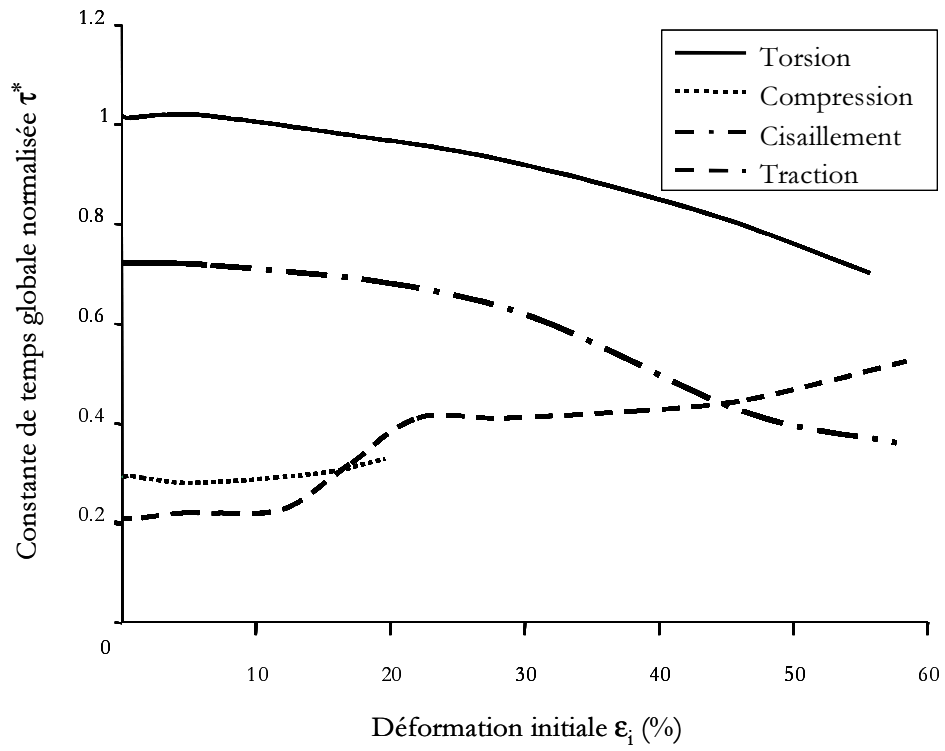


Figure D2 : Résultats numériques des tests de fluage : variation de la constante de temps globale normalisée (τ^*) en fonction de la déformation initiale (ϵ_i) du MTV pour 4 types de chargement ($L^* = 100$ et $T^* = 0,25$). Il est à noter que la constante de temps globale du modèle est toujours inférieure à celle des éléments constitutifs ($\tau^* \leq 1$).

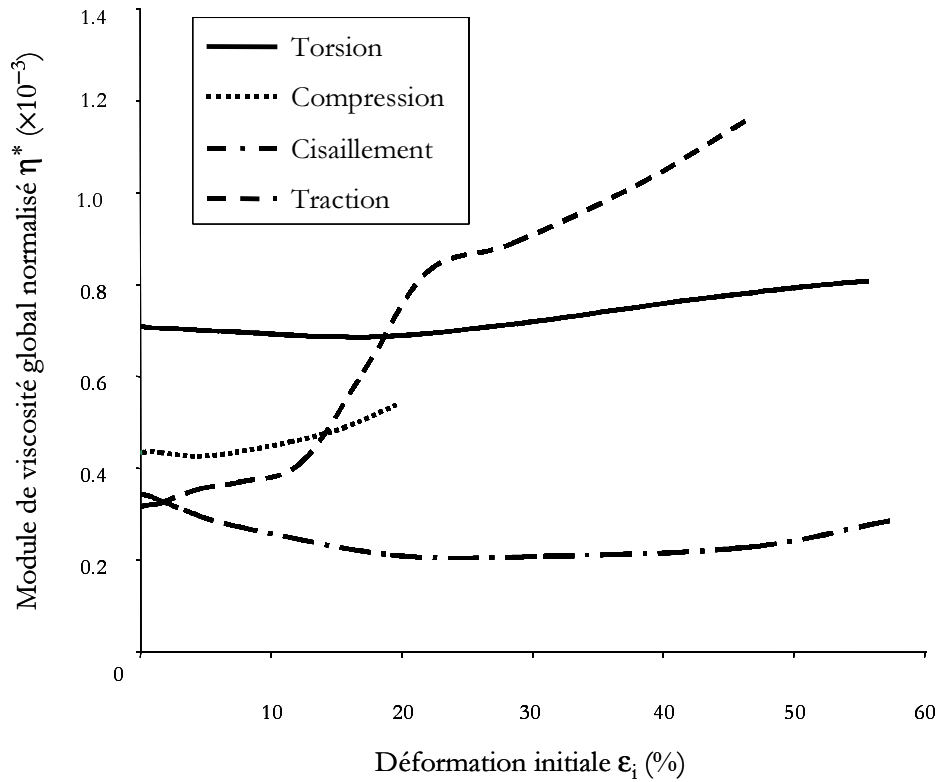


Figure D3 : Résultats numérique des tests de fluage : variation du module de viscosité global normalisé (η^*) en fonction de l'état de déformation initiale (ϵ_i) du MTV soumis à 4 types de chargement ($L^* = 100$ et $T^* = 0,25$). Il est à noter que le module de viscosité global du modèle est toujours très inférieur à celui des éléments constitutifs ($\eta^* \ll 1$).

Les présents modules normalisés d'élasticité E^* et de viscosité η^* sont de l'ordre de 10^{-3} , ce qui montre que les modules globaux d'élasticité et de viscosité du MTV sont de trois ordres inférieurs à ceux des éléments constitutifs (voir figures D1 et D3). La constante de temps τ^* est comprise dans l'intervalle $[0,2 ; 1]$, révélant ainsi que la réponse mécanique globale du MTV est toujours plus rapide que celle des éléments constitutifs, tout en restant dans un même ordre de grandeur (voir figure D2). Ces propriétés viscoélastiques varient en fonction du type d'effort appliqué (traction, compression, cisaillement et torsion) quelque soit le niveau de déformation initiale ϵ_i . En traction et en compression, le module d'élasticité (E^*) augmente linéairement avec

ε_i (voir figure D1) tandis que pour les deux autres types de forces appliquées, E^* reste quasi constant (en torsion) ou diminue très légèrement (en cisaillement) dans la gamme $0 \leq \varepsilon_i \leq 25\%$ pour augmenter pour des déformations globales initiales supérieures.

La figure D2 montre que la constante de temps (τ^*) diminue non linéairement quand le niveau de déformation globale augmente, en torsion et en cisaillement, le MTV suivant ainsi un processus qualifié de « solidification » (la constante de temps, donc la vitesse de déformation, diminue). A l'inverse, τ^* augmente non linéairement avec ε_i en traction et en compression, le MTV suit alors, en cours de déformation, un processus qualifié de « fluidification » (la vitesse de déformation augmente). Ces qualificatifs (« solidification » et « fluidification ») ont été choisis en référence à l'idée générale selon laquelle la réponse mécanique d'un solide est plus rapide que celle d'un fluide (visqueux) (en dehors des cas spécifiques de solides viscoélastiques présentant une composante visqueuse importante au regard des propriétés élastiques).

Le module de viscosité global normalisé η^* augmente non linéairement avec le niveau de déformation globale, en traction et en compression ; le MTV suit alors un processus qualifié d'« épaissement » par analogie avec les fluides rhéo-épaississants. Pour la torsion et le cisaillement, η^* tend à diminuer dans un premier temps (processus de « dilution ») puis à augmenter (épaississement) au delà d'une valeur « seuil » de ε_i ($\approx 20\%$ en torsion et $\approx 30\%$ en cisaillement). Il est à noter que les résultats numériques obtenus en compression, sont donnés dans une gamme réduite de déformation initiale de [0 - 20 %] (contre [0 – 60 %] pour les autres modes de sollicitation du MTV). Ceci est dû au fait qu'au delà ce niveau de déformation globale du MTV, les barres [6, 11] et [1, 8] entrent en contact et mettent fin au test de compression (voir figures D1 à D3). Par ailleurs, la courbe en traction montre un net changement de pente dans la gamme de déformation initiale [12 – 22 %] qui pourrait s'expliquer comme suit : Lorsque le présent modèle ($\Gamma^* = 0,25$) est sollicité en traction, les 4 câbles supérieurs (câbles [6, 9], [9, 11],

[11, 12] et [6, 12]) se détendent à mesure que le niveau de la force augmente ; lorsque la déformation totale du MTV atteint une valeur de 12 %, ces câbles sont complètement détendus et ne participent donc plus aux propriétés mécaniques globales de la structure ; ces câbles ne retrouvent leur tension et donc ne participent de nouveau aux propriétés mécaniques globales du MTV qu'à partir d'un niveau de déformation globale de 22 %, mais entre temps (c'est à dire dans l'intervalle de déformation [12 – 22 %]) ils ont changé de position par rapport au plan horizontal passant par les nœuds supérieurs #9 et #12 ; en d'autres termes, en dessous de 12 % de déformation, les 4 câbles supérieurs sont en dessous du plan horizontal passant par les nœuds #9 et #12 tandis qu'au delà de 22 % ils sont au dessus de ce plan ; ainsi, les 4 câbles supérieurs participent aux propriétés mécaniques globales du MTV dans les deux intervalles $\epsilon_i \leq 12\%$ et $\epsilon_i \geq 22\%$ (il est à noter que la pente de la courbe dans ces deux intervalles semble identique), mais leur contribution se fait de façon différente du fait de leur positionnement structural différent ; ceci pourrait alors expliquer ce décrochage observé dans l'intervalle [12 – 22 %] ainsi que la différence de la valeur du module global de viscosité normalisé η^* (c'est à dire $\eta^* < 0,4 \cdot 10^{-3}$ pour $\epsilon_i \leq 12\%$ et $\eta^* > 0,8 \cdot 10^{-3}$ pour $\epsilon_i \geq 22\%$).

Par ailleurs, on remarquera sur la figure D1, qu'à $\epsilon_i = 0\%$, le rapport (R) entre modules d'élasticité longitudinale (traction) et transversal (en cisaillement) est proche de la valeur caractéristique des milieux continus isotropes (= 3) et qu'il s'éloigne du comportement isotrope à mesure que ϵ_i augmente (par exemple, R = 5 à $\epsilon_i = 10\%$, R = 6 à $\epsilon_i = 40\%$).

De même, le rapport entre les modules de viscosité déterminés en traction et en cisaillement qui est proche de 1 à $\epsilon_i = 0\%$, (correspondant à un milieu continu isotrope viscoélastique), augmente avec le niveau de déformation (figure D2).

Déformation globale initiale ϵ_i (%)	Coefficient de Poisson
0	0.59
10	1.44
20	2.19
30	2.28
40	1.78
0,65	- 0,93 [Stamenovic et coll. 1999]
6,67	- 0,55 [Stamenovic et coll. 1999]

Tableau DT1 : Résultats numérique en fluage : Variation du coefficient de Poisson apparent (ν) en fonction du niveau de déformation initiale (ϵ_i) d'un MTV ($L^* = 100$ et $T^* = 0,25$) soumis à une charge en traction.

De plus, le coefficient de Poisson apparent du MTV (ν) déterminé à une déformation initiale de 0%, est proche de la valeur caractéristique d'un milieu continu isotrope incompressible (0,5) mais s'en éloigne considérablement quand ϵ_i augmente (voir tableau DT1).

Ces résultats, exprimés en termes de variation du rapport des propriétés viscoélastiques (E, η) en traction et en cisaillement, ainsi que du coefficient de Poisson, montrent très clairement le rôle du réarrangement structural (réorganisation spatiale des éléments constitutifs) sur les propriétés mécaniques des systèmes de tenségrité, conférant à ces structures des propriétés très différentes de celles des milieux continus isotropes. Ceci explique en outre la non linéarité du comportement viscoélastique global du MTV malgré un comportement purement linéaire des

barres (loi élastique) et des câbles (loi viscoélastique). Un tel résultat a déjà été établi à partir des études sur la rigidité des modèles de tenségrité dont l'origine a été qualifiée de géométrique dans de précédents travaux [Kebiche et coll. 1999 ; Wendling et coll. 1999] ; la présente étend ce résultat aux propriétés viscoélastiques (élasticité, viscosité, constante de temps) des structures de tenségrité.

I-1-2) Analyse de l'effet d'échelle (taille L^*) et de la tension interne (T^*) sur les propriétés viscoélastiques du MTV

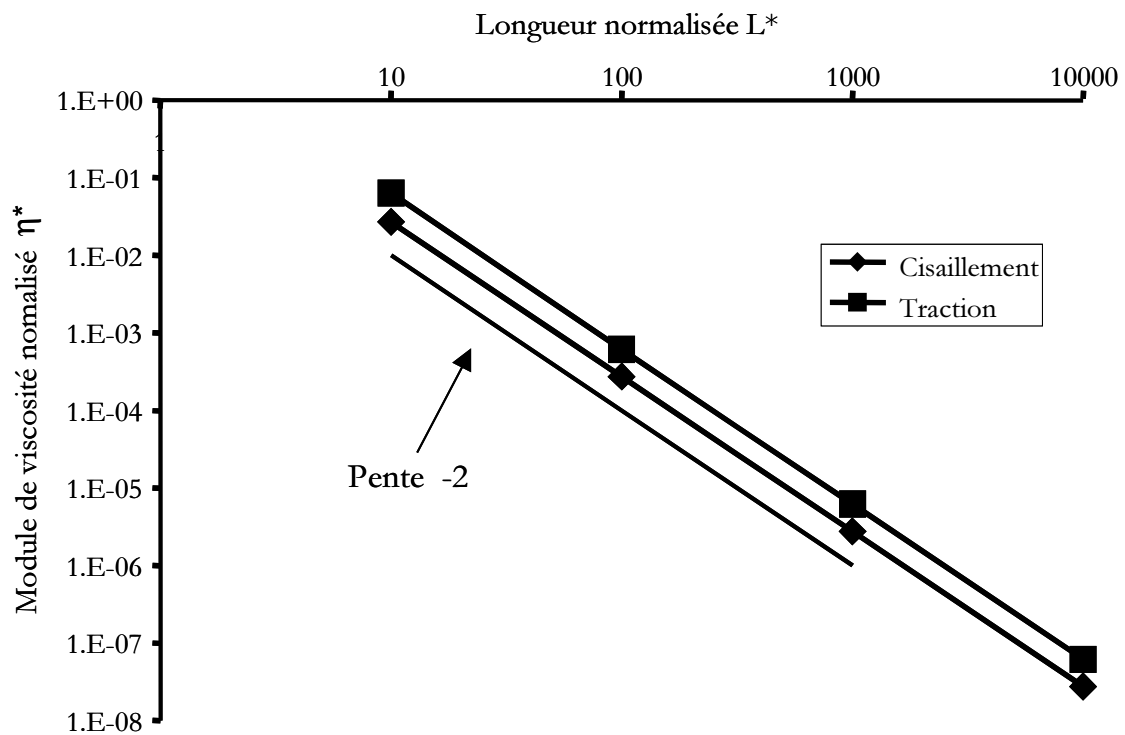


Figure D4 : Variation du module de viscosité normalisé (η^*) en fonction de la longueur normalisée (L^*) du MTV soumis des tests de fluage en cisaillement et traction ($T^* = 0,25$; $\epsilon_i = 30$ %).

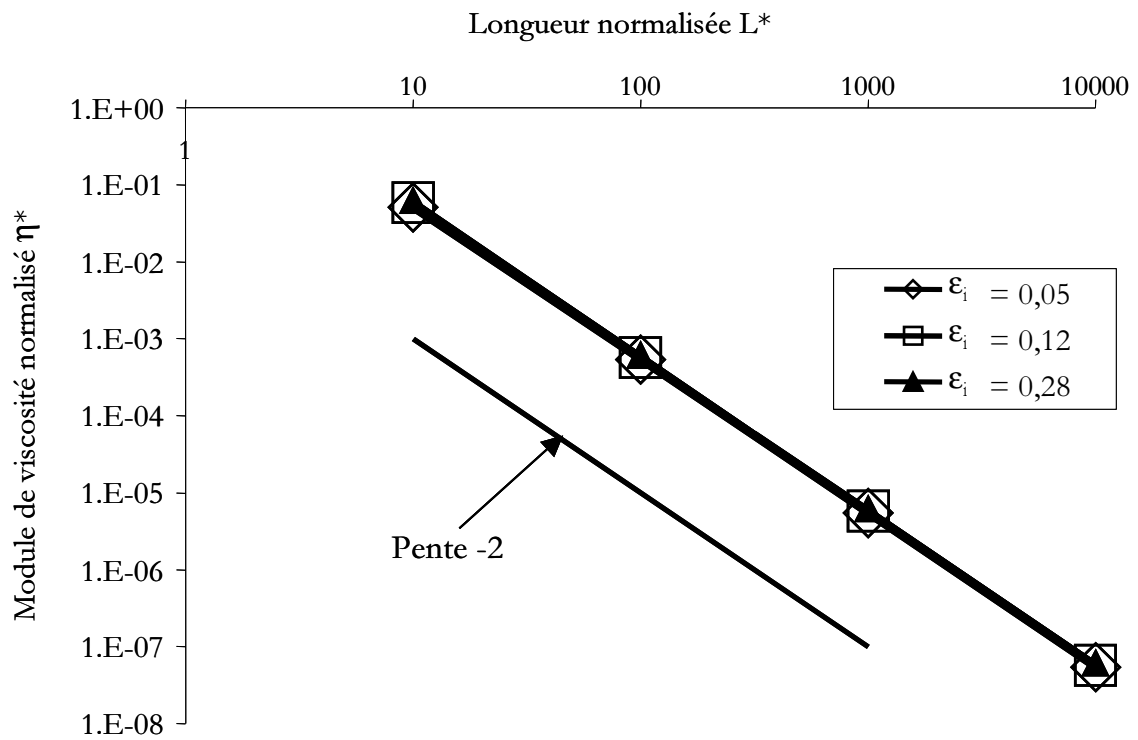


Figure D5 : Variation du module de viscosité (η^*) en fonction de la longueur normalisée (L^*) d'un MTV ($T^* = 0,25$) soumis à un test en fluage en pour différents niveaux de déformation globale initiale ($\epsilon_i = 5\%$, 12% et 28%).

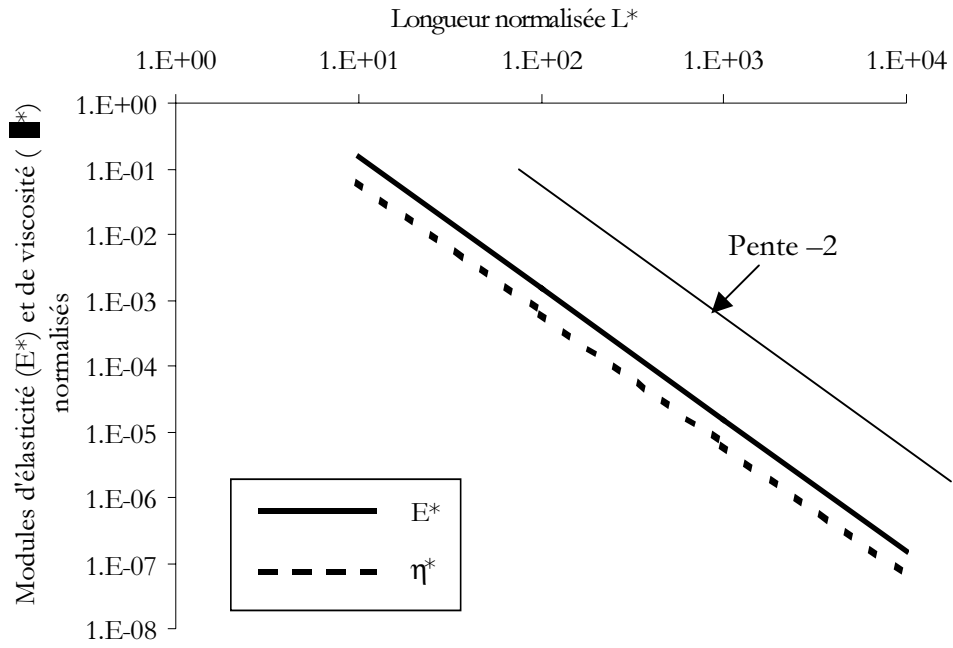


Figure D6 : Variation des modules globaux normalisés d'élasticité (E^*) et de viscosité (η^*) du MTV ($T^* = 0,25$; $\varepsilon_i = 30\%$) soumis à un test de fluage en traction, en fonction de la longueur normalisée (L^*).

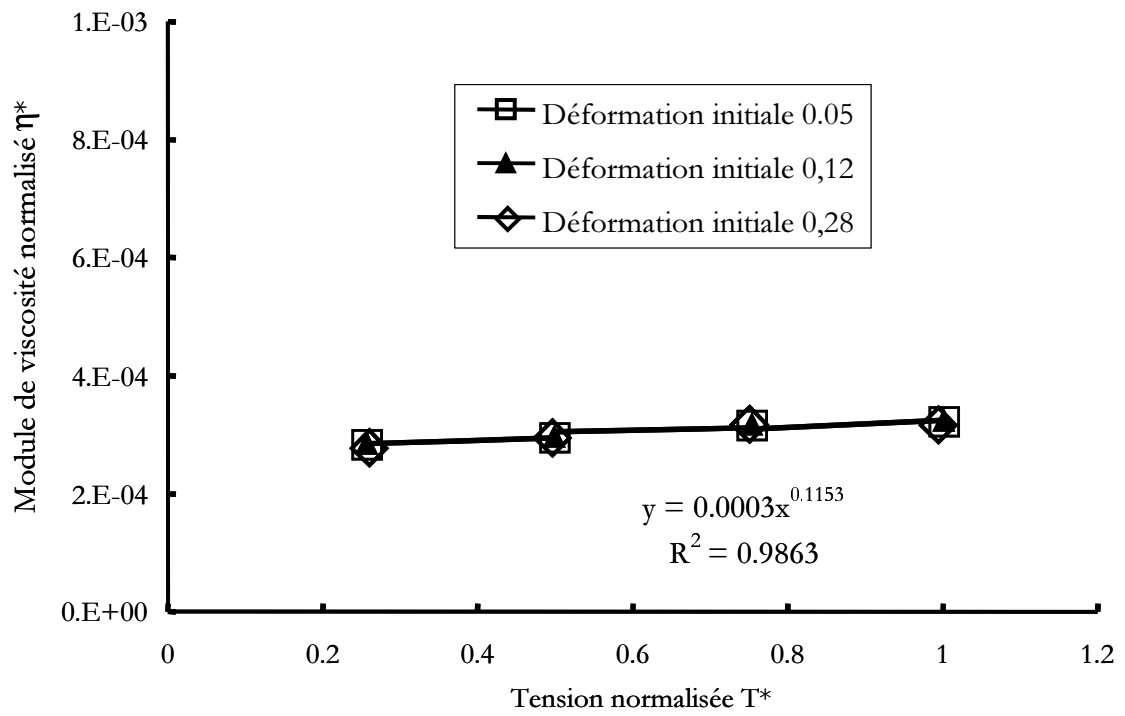


Figure D7 : Variation du module de viscosité normalisé (η^*) en fonction de la tension normalisée (T^*) d'un MTV ($L^* = 100$) soumis à un test de fluage en cisaillement, pour trois niveaux de déformation globale de la structure ($\varepsilon_i = 5\%$, 12% et 28%).

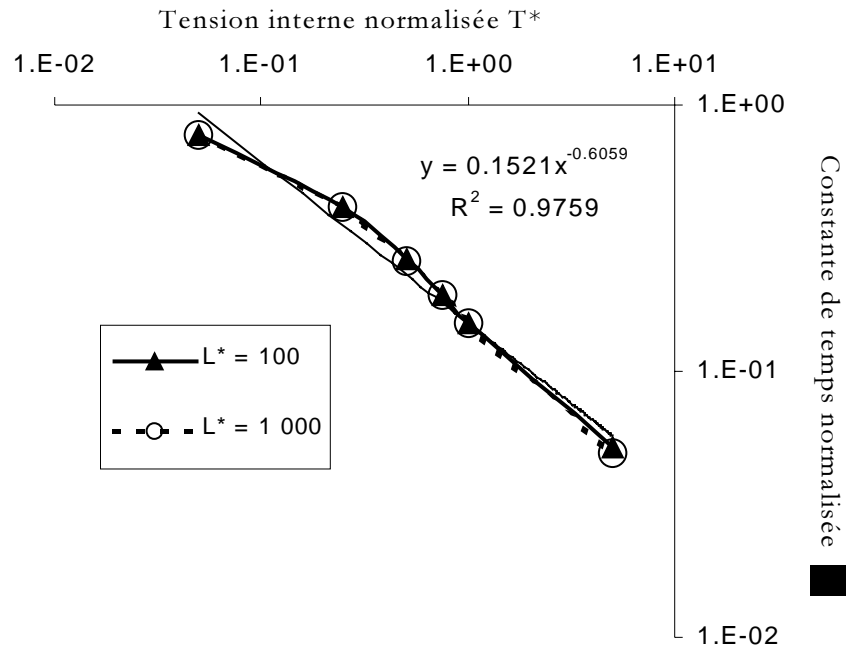


Figure D8 : Variation de la constante de temps normalisée (τ^*) en fonction de la tension normalisée (T^*) pour deux valeurs de L^* ($L^* = 100$ et $L^* = 1000$) soumis à des tests en cisaillement, pour une déformation initiale $\epsilon_i = 30\%$.

a) Rôle de la taille de la structure

Les figures D4 et D5 montrent que le module de viscosité normalisé (η^*) du MTV est proportionnel à l'inverse du carré de la longueur normalisée ($\eta^* \propto L^{-2*}$) ce qui signifie que le module de viscosité de la structure diminue d'un ordre de grandeur quand la taille de la structure augmente de 2 ordres de grandeur. Cette dépendance reste vraie quels que soient le type de force appliquée, la tension interne et le niveau de déformation globale du modèle de tensegrité viscoélastique (voir figures D4 à D6). Ces caractéristiques de proportionnalité et d'invariance sont également observées sur le module normalisé d'élasticité E^* (voir figure D6).

On peut également noter que la constante de temps définie comme le rapport entre les modules d'élasticité et de viscosité ($\tau^* = \eta^*/E^*$) se révèle indépendante de la taille du MTV étudié (L^*).

b) Rôle de la tension interne de la structure

Les figures D7 et D8 montrent que le module de viscosité normalisé (η^*) déterminé en cisaillement, n'est pas significativement dépendant de la tension interne du MTV ($\eta^* \propto T^{*+0,1}$), alors que la constante de temps (τ^*) diminue comme l'inverse de la racine carrée de la tension interne ($\tau^* \propto T^{*-0,6}$) quand T^* augmente. Donc, plus la tension interne d'un modèle de tenségrité viscoélastique est importante, plus sa réponse mécanique s'avère rapide alors que ses propriétés visqueuses ne sont pas significativement modifiées. De fait, le module d'élasticité (E^*) sur le MTV étudié ici apparaît approximativement proportionnel à la racine carrée de T^* , comme déjà trouvé par Wendling et al. (à savoir : $E^* \propto T^{*+0,5}$) pour des conditions de liaison et d'effort différentes [Wendling et coll. 2000b].

Pour résumer, l'augmentation du niveau de tension interne d'un modèle de tenségrité viscoélastique tend à le rigidifier et à le « solidifier » sensiblement.

c) Comparaison avec les résultats en statique avec des modèles équivalents purement élastiques : rôle des conditions d'ancrage

Les dépendances déterminées dans la présente étude pour le module d'élasticité normalisé sont en accord avec les études effectuées sur les mêmes structures de tenségrité à 30 éléments ainsi que sur des structures de tenségrité un nombre d'éléments différent et un comportement est strictement élastique, bien que les études aient été conduites dans des conditions différentes en termes d'efforts appliqués et d'attachement des nœuds [Wendling et coll. 1999, 2000a, 2000b,

2002]. Les précédents travaux ont montré l'origine spatiale et géométrique des modèles de tenségrité [Kebiche et coll. 1999 ; Wendling et coll. 1999]. La présente étude, qui la seule apportant une analyse quantitative des propriétés viscoélastiques et structurales (élasticité, viscosité, constante de temps) des modèles de tenségrité, contribue ainsi à documenter sur l'origine géométrique de la non linéarité de leur comportement viscoélastique.

Il est, en effet, intéressant de noter que les présents résultats, obtenus en élasticité dans des conditions d'ancrage particulières, diffèrent de ceux obtenus par les autres auteurs, dans des conditions d'ancrage de la structure différentes. Dans les présentes conditions d'effort (les forces sont appliquées suivant une des trois directions des barres) et de liaison (4 nœuds fixés), le MTV se rigidifie quand la déformation augmente (E^* croît quand ε_i croît). Par contraste, lorsque les forces sont appliquées à 45° par rapport à la direction des barres et que trois nœuds sont fixés, la structure de tenségrité s'assouplit avec la déformation (E^* diminue quand ε_i augmente, Wendling et coll. 1999). De même, l'ordre de grandeur évalué pour E^* est de 10^{-3} pour la présente étude alors qu'il était de 10^{-4} dans les études effectuées par Wendling et al., dans des conditions d'effort et de liaison différentes [Wendling et coll. 1999]. Cette comparaison des relations E^*-T^* et E^*-L^* permet de quantifier le rôle des conditions de liaison sur le comportement mécanique des modèles de tenségrité en général.

A noter que Stamenovic et al. ont déterminé un coefficient de Poisson négatif sur un modèle de tenségrité élastique équivalent au MTV mais dans des conditions de chargement différentes, à savoir une traction de 2 barres parallèles, les autres nœuds étant tous libres [Stamenovic et coll. 1999]. Dans ces conditions la structure a tendance à « gonfler », cette extension multidirectionnelle étant alors responsable de la valeur négative du module de Poisson trouvé par ces auteurs. Dans les présentes conditions d'étude (4 nœuds fixes et traction dans la

direction d'une barre), la structure ne subit pas une telle extension latérale, d'où le maintien du coefficient de Poisson dans des valeurs positives (voir tableau DT1).

I-1-3) Récapitulatif

Dans le tableau DT2 ci-dessous, est résumé l'ensemble des valeurs trouvées à partir des simulations pour les relations des propriétés viscoélastiques globales normalisées du MTV (E^* , η^* , τ^*) en fonction du niveau de déformation globale initiale (ϵ_i) ainsi que des paramètres adimensionnels locaux (L^* , T^*), en traction et en cisaillement. Les effets du réarrangement structural et/ou des paramètres locaux sur les propriétés viscoélastique du MTV sont d'autant plus marqués que les valeurs des coefficients de dépendance sont élevés, indiquant des modifications dans les processus de rigidification (augmentation de E^*) et d'assouplissement (diminution de E^*), d'épaississement (augmentation de η^*) et de dilution (diminution de η^*) ainsi que de fluidification (augmentation de τ^*) et de solidification (diminution de τ^*).

	Traction		Cisaillement		L*		T*	
	$\varepsilon_i = 5\%$	$\varepsilon_i = 50\%$	$\varepsilon_i = 5\%$	$\varepsilon_i = 50\%$	Traction	Cisaillement	Traction	Cisaillement
E^*	0,0016 Rigidification	0,0026	0,0004 Rigidification	0,0006	$\propto L^{*-2}$ Assouplissement	$\propto L^{*-2}$	$\propto T^{*0,3}$ Rigidification	$\propto T^{*0,7}$
τ^*	0,22 Fluidification	0,47	0,72 Solidification	0,40	$\propto L^{*0}$ Sans effet	$\propto L^{*0}$	$\propto T^{*-0,2}$ Solidification	$\propto T^{*-0,6}$
η^*	0,0003 Epaississement	0,0012	0,0003 Dilution	0,0002	$\propto L^{*-2}$ Dilution	$\propto L^{*-2}$	$\propto T^{*0,1}$ Effet non significatif	

Tableau DT2 : Synthèse des évolutions prédites dans les propriétés viscoélastiques des MTV et obtenues par simulations numériques de tests de fluage en traction et en cisaillement.

I-2 – Simulations de tests de fluage sur le MTV en grandes déformations

Après avoir procédé à une validation de l'application de la méthode NSCD à l'étude du MTV (voir Annexe A5), une série de tests de fluage en grandes déformations directes a été simulée à l'aide du code LMGC en appliquant une force de traction de grande amplitude sur le modèle de tenségrité viscoélastique. La déformation globale finale (ε_f) est obtenue lorsque la solution du problème viscoélastique a convergé vers un état stable d'équilibre de la structure sous chargement.

La figure D9 ci-dessous présente la variation de la constante de temps τ^* en fonction de l'état déformé final ε_f .

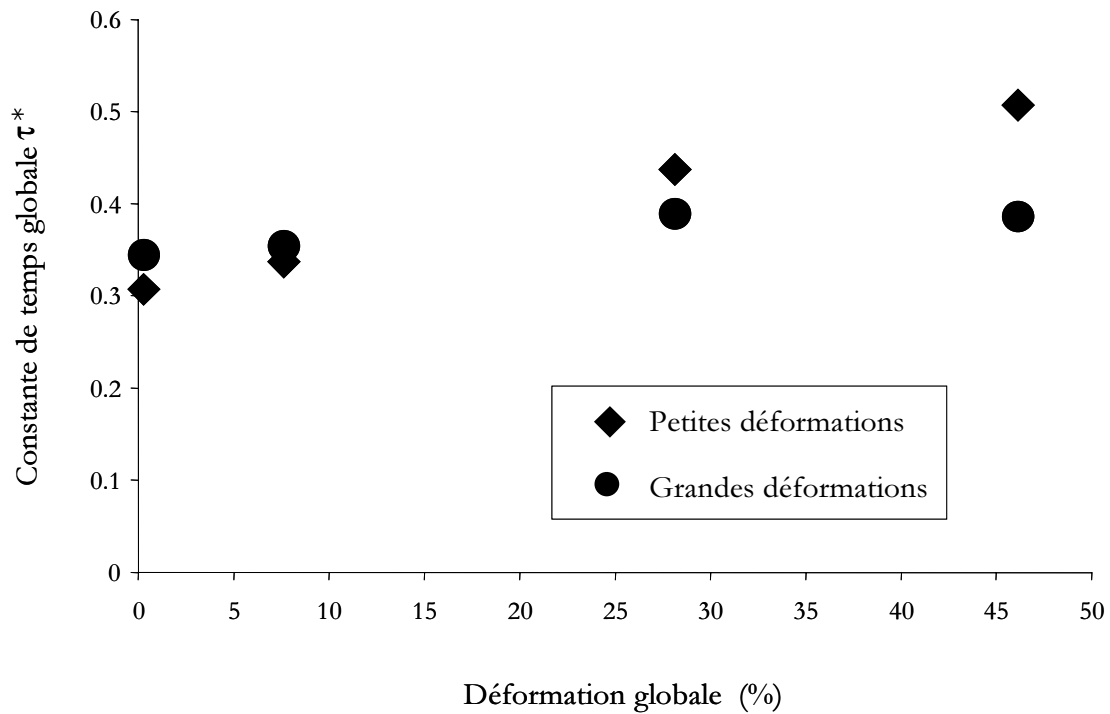


Figure D9 : Comparaison des constantes de temps globales normalisées du MTV déterminées respectivement en grandes déformations directes (symboles ronds) et en petites déformations successives aboutissant aux mêmes niveaux de déformations globales appliquées directement (losanges), pour des tests de fluage en traction.

Grandes déformations τ (s)	Petites déformations τ (s)	Déformation ε (%)
3,47	3,1	0,15
3,57	3,4	7,5
3,92	4,4	28
3,89	5,1	46

Table DT4 : Récapitulatif des constantes de temps déterminées lors des simulations des tests de fluage (traction) en grandes déformations directes et en petites déformations successives sur le MTV aboutissant aux mêmes niveaux de déformation globale.

La figure D9 ainsi que la table DT4 ne montrent pas de modification significative dans les valeurs des constantes de temps issus des simulations en petites déformations successives et en grandes déformations directes. Ceci est aussi vrai pour le module d'élasticité du MTV lequel, par définition, est le même, qu'il soit déterminé à un niveau de déformation finale globale directe ε_f

ou par une succession de N petites déformations ε_j aboutissant à une déformation ε_i correspondant à ε_f ($\sum_{j=1}^N \varepsilon_j = \varepsilon_i = \varepsilon_f$). En effet, cette succession de N petites déformations ε_j est obtenue par l'application de N forces incrémentales F_j dont la somme correspond à la même valeur de force appliquée totale F_f appliquée directement pour obtenir la grande déformation globale ε_f ($\sum_{j=1}^N F_j = F_f$). Par suite, le module de viscosité, défini comme le produit entre la constante de temps et le module d'élasticité reste aussi inchangé, que le MTV soit sollicité en grandes déformations directes ou en petites déformations successives aboutissant au même niveau de déformation globale. Par conséquent, si l'anisotropie dans la distribution des tensions élémentaires lors du processus de réarrangement structural du MTV influence ses propriétés viscoélastiques, son apparition avant ou après chargement a peu d'influence. Autrement dit, les propriétés viscoélastiques déterminées en petites déformations, après une déformation initiale donnée ε_i , correspondent aux propriétés viscoélastiques tangentes (ou apparentes) du MTV sollicité directement en grandes déformations à un niveau donné ε_f correspondant à ε_i . Ce résultat, déjà vérifié pour le module d'élasticité [Kebiche et coll. 1999 ; Wendling et coll. 1999], est démontré par la présente étude pour la constante de temps et le module de viscosité du MTV.

I-3 – Simulations d'oscillations imposées

I-3-1 – Dépendance des propriétés viscoélastiques en fonction de la fréquence imposée

Les résultats présentés dans les figures D10 à D17 établissent, les dépendances des propriétés viscoélastiques (amplitude, E^* , η^* , τ^*) des MTV étudiés en dynamique (c'est à dire,

sous sollicitations harmoniques) en fonction de la fréquence imposée (de 0,0001 à 100 Hz). Les effets d'inertie sont ici minimisés par le choix de masses très faibles (ordre de grandeur $\sim 10^{-2}$ kg) au regard des rigidités des éléments constitutifs (ordre de grandeur $\sim 10^7$ Pa pour les câbles et 10^{10} Pa pour les barres), c'est à dire une fréquence propre très supérieure à la gamme de fréquences utilisées ici (c'est à dire une fréquence propre de l'ordre de 10^5 Hz déterminée en considérant les câbles et de 10^6 Hz par les barres alors que la plus grande fréquence imposée est de 10^2 Hz).

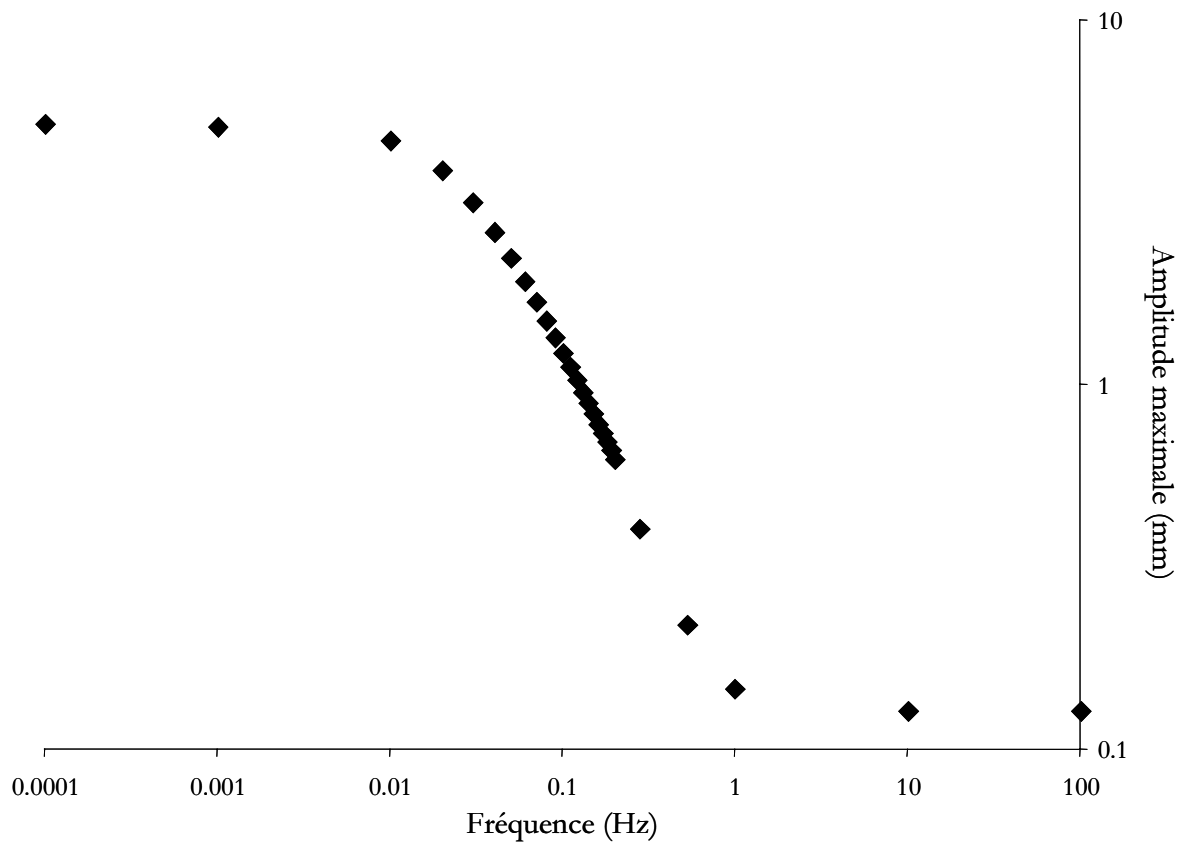


Figure D10A : Evolution de l'amplitude maximale d'oscillations (déplacement nodal) en fonction de la fréquence imposée de chargement cyclique d'un MTV ($T^* = 0,25$ et $L^* = 100$) autour de l'état de référence.

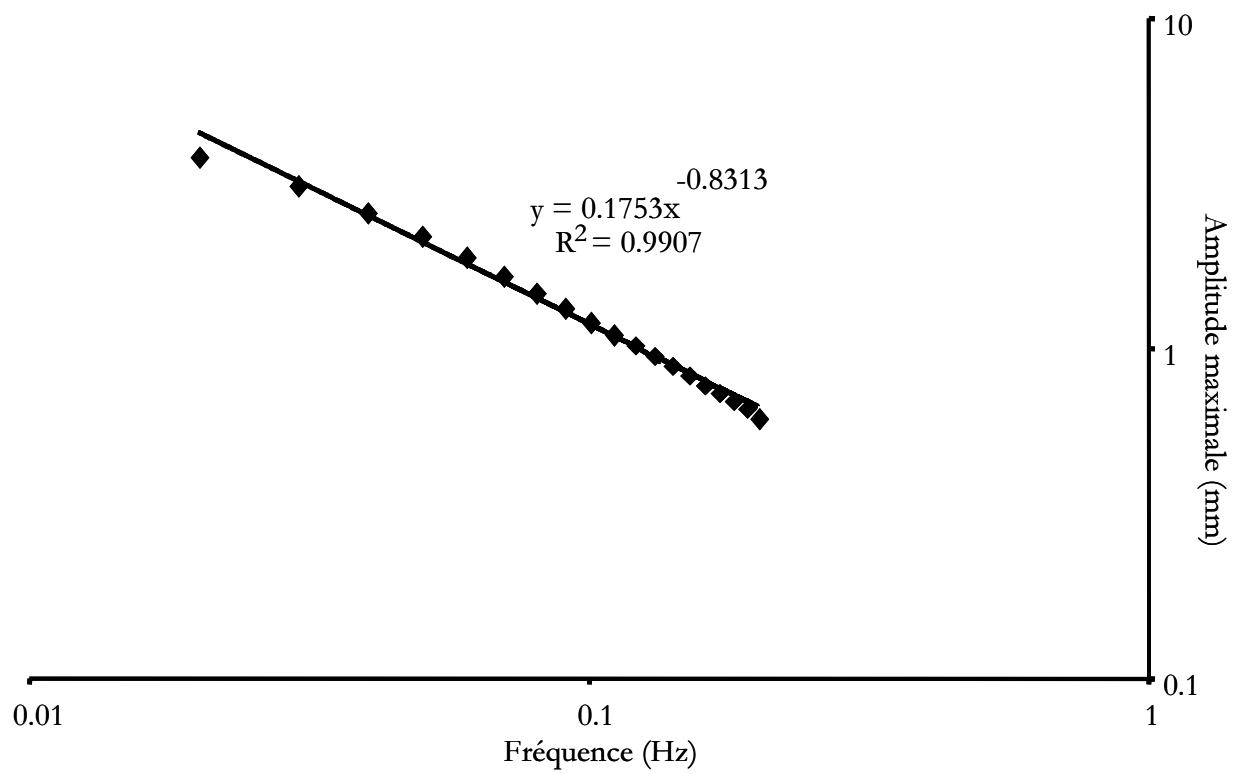


Figure D10B : Corrélation par une fonction puissance de la courbe en (A) dans la gamme de [0,02 à 0,2 Hz] encadrant la fréquence préférentielle (0,1 Hz) des câbles (constante de temps des câbles = 10 s, voir encore l'annexe A1).

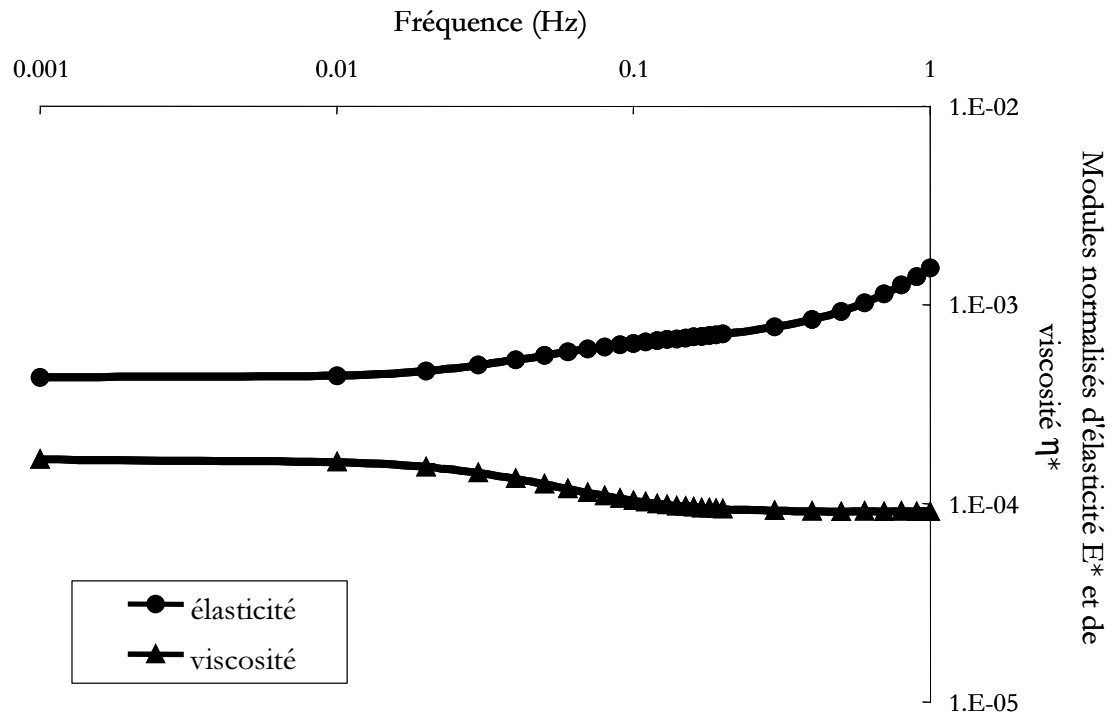


Figure D11A : Evolution des modules globaux normalisés d'élasticité et de viscosité en fonction de la fréquence imposée de chargement cyclique du MTV ($\Gamma^* = 0,25$ et $L^* = 100$) autour de l'état de référence.

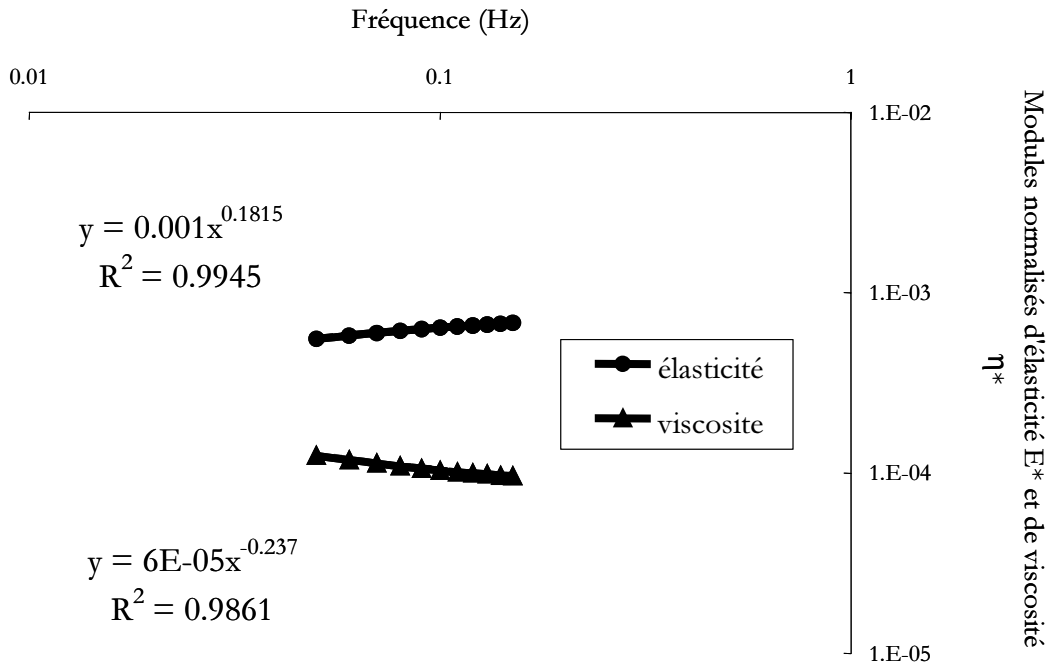


Figure D11B : Corrélation par une fonction puissance des courbes en (A) dans la gamme de [0.05 à 0.15 Hz] encadrant la fréquence préférentielle de 0,1 Hz des câbles (constante de temps des câbles = 10 s).

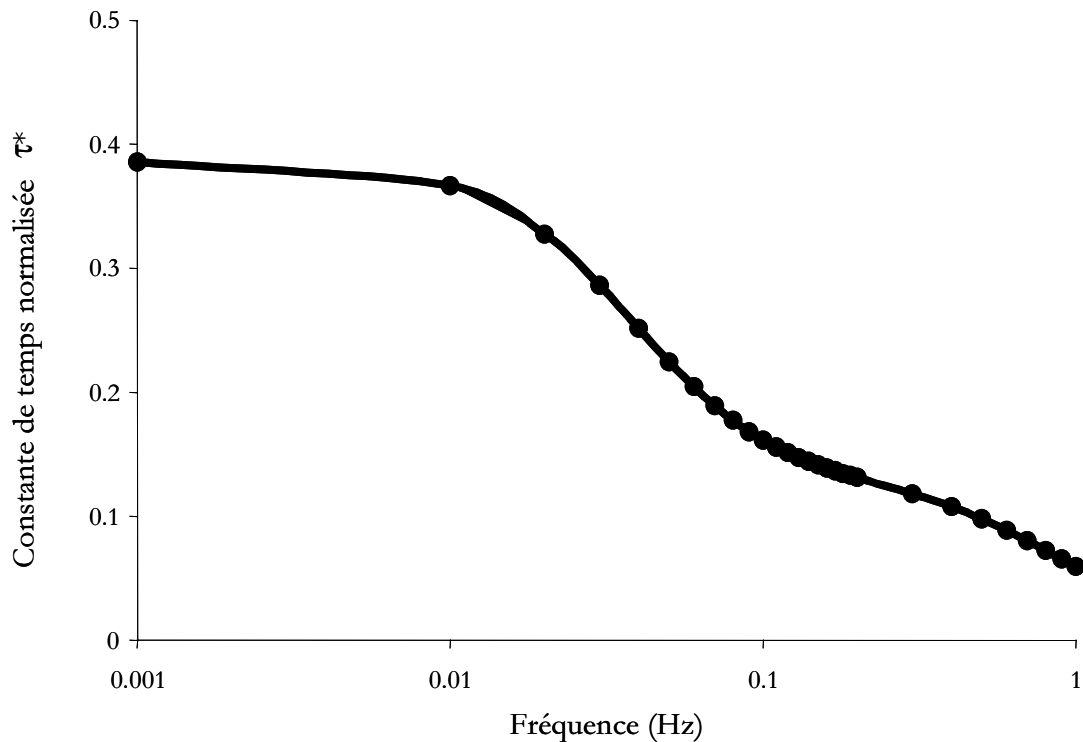


Figure D12A : Evolution de la constante de temps en fonction de la fréquence imposée de chargement cyclique du MTV ($T^* = 0,25$ et $L^* = 100$) autour de l'état de référence.

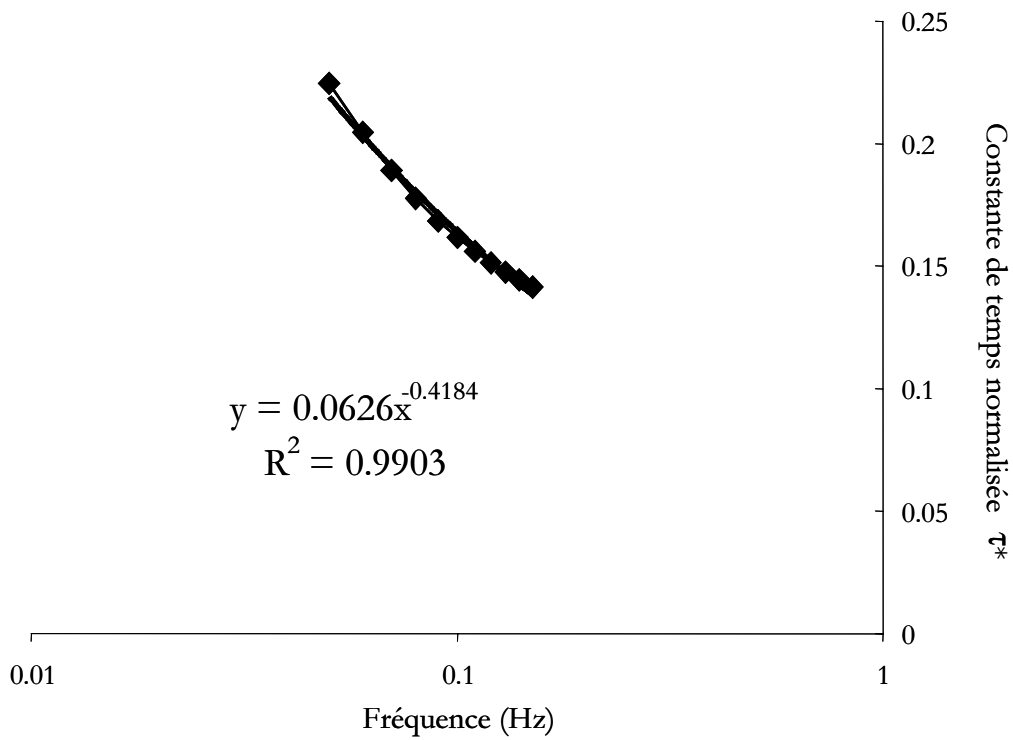


Figure D12B : Corrélation par une fonction puissance de la courbe en (A) dans la gamme de [0,05 à 0,15 Hz] encadrant la fréquence équivalente de 0,1 Hz des câbles (constante de temps des câbles = 10 s).

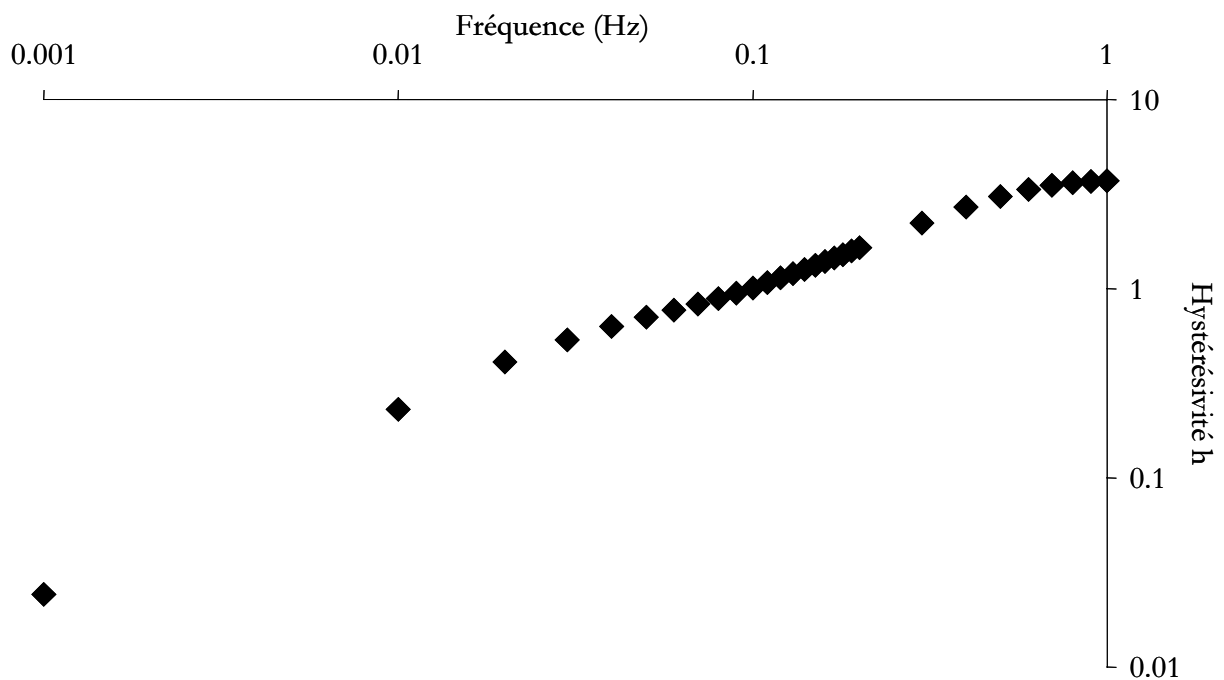


Figure D13A : Evolution de l'hystérésivité h ($= \tau \times \omega \equiv \tau \times 2\pi f$) en fonction de la fréquence imposée de chargement cyclique du MTV ($T^* = 0,25$ et $L^* = 100$) autour de l'état de référence.

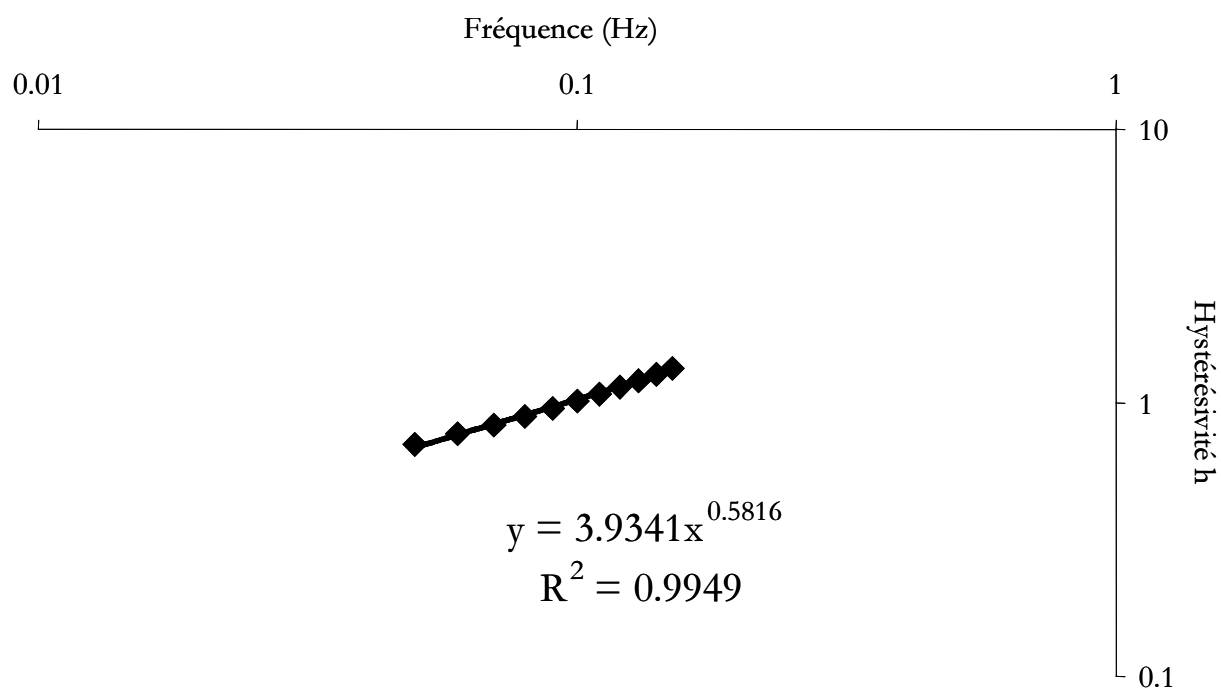


Figure D13B : Corrélation par une fonction puissance de la courbe en A) dans la gamme de [0,05 à 0,15 Hz] encadrant la fréquence préférentielle de 0,1 Hz des câbles (constante de temps des câbles = 10 s).

Les figures D11 à D13 présentent une inflexion ou inversion de tendance autour d'une fréquence « préférentielle » $f_p = 0,1$ Hz correspondant à l'inverse de la constante de temps des câbles ($\tau_c = 10$ s). En effet, lorsqu'une force sinusoïdale est appliquée à un solide viscoélastique avec une fréquence imposée d'au moins un ordre supérieur à sa fréquence préférentielle, celui-ci n'a pas le temps de dissiper (par effets visqueux) toute l'énergie nécessaire pour parvenir à l'équilibre (en fin de chaque cycle). Les propriétés visqueuses ne sont alors pas totalement « exprimées » par le solide viscoélastique et cela se traduit par une amplitude d'oscillations réduite, donc par les mesures de la valeur la plus faible pour le module de viscosité et la constante de temps ainsi que de la plus haute valeur pour le module d'élasticité et l'hystérésivité (voir la partie des courbes correspondant à des fréquences ≥ 1 Hz, sur les figures D11 à D13). A l'inverse, si la force appliquée oscille à une fréquence d'au moins un ordre inférieure à la fréquence

préférentielle du solide viscoélastique, celui-ci parvient à dissiper toute l'énergie, les propriétés viscoélastiques se trouvant totalement exprimées, et à atteindre l'équilibre à chaque instant ce qui rend alors le chemin de cette dissipation énergétique inaccessible à l'étude. Cela se traduit ainsi par la mesure des valeurs les plus hautes pour l'amplitude d'oscillations, le module de viscosité et la constante de temps ainsi que par la mesure des valeurs les plus basses pour le module d'élasticité et l'hystérésivité, définie comme le produit entre la constante de temps et la pulsation $\omega (= 2\pi f)$ imposée (voir la partie des courbes correspondant à des fréquences ≤ 0.01 Hz, sur les figures D11 à D13 et se référer à l'Annexe A6 pour la définition de l'hystérésivité ainsi qu'à l'Annexe A1 pour le comportement mécanique en fréquence du solide viscoélastique de type Voigt).

Il est d'ailleurs à noter que dans chacune de ces deux gammes de fréquence (≤ 0.01 Hz et ≥ 1 Hz) l'amplitude (maximale) d'oscillations, la constante de temps et les modules d'élasticité et de viscosité du MTV apparaissent peu significativement dépendants de la fréquence imposée, seule l'hystérésivité étant dans toute la gamme de fréquences testées (de 0.001 à 100 Hz) significativement dépendante de la fréquence imposée.

A l'opposé, dans la gamme couvrant un ordre de grandeur inférieur et supérieur à la fréquence préférentielle f_p des câbles, c'est à dire [0.01 et 1 Hz], l'amplitude d'oscillations ainsi que les propriétés viscoélastiques du MTV montrent des dépendances marquées en fonction de la fréquence. C'est, en effet, dans une telle gamme de sollicitations (autour de f_p) que sont le mieux révélées les propriétés mécaniques d'un solide viscoélastique puisque la vitesse du chargement appliqué est proche de la vitesse de sa propre réponse mécanique.

	Loi puissance de la fréquence imposée
Amplitude maximale d'oscillations	$\propto f^{-0,83}$
Module d'élasticité E*	$\propto f^{+0,18} \Rightarrow$ rigidification faible
Module de viscosité η^*	$\propto f^{-0,24} \Rightarrow$ dilution modérée
Constante de temps τ^*	$\propto f^{-0,42} \Rightarrow$ solidification
Hystérésivité h	$\propto f^{+0,58}$

Table DT5 : Récapitulatif des dépendances associées aux lois puissance des propriétés viscoélastiques du MTV

autour de la fréquence préférentielle f_p des câbles ($\tau_c = 10$ s), c'est à dire dans l'intervalle [0.01 et 1 Hz].

La table T5 regroupe les différentes lois puissance caractérisant les dépendances des propriétés mécaniques des modèles de tenségrité viscoélastiques testés. Il apparaît que l'augmentation de la fréquence imposée d'oscillations, dans la gamme proche de la fréquence préférentielle, a pour effet de révéler un triple processus (i) de rigidification, (ii) de dilution et (iii) de solidification, qui pourrait constituer une signature comportementale supplémentaire et spécifique des structures de tenségrité en général. En d'autres termes, plus la fréquence imposée augmente et plus les effets élastiques sont grands devant des effets visqueux, en diminution, la structure de tenségrité présentant alors une réponse dynamique de plus en plus rapide.

I-3-2 –Rôle des paramètres locaux L* et T* sur les propriétés viscoélastiques du MTV sous sollicitation harmonique

Dans le but de préciser le rôle des éléments structuraux sur les modules de viscosité et d'élasticité, ces dépendances ont été analysées dans sous chargement cyclique. Les figures D19 et D20 montrent que les propriétés viscoélastiques globales des MTV testés à la fréquence

préférentielle des câbles ($f_p = 0,1$ Hz) dépendent non proportionnellement (ou non linéairement) de la tension interne normalisée T^* et de la longueur normalisée L^* de façon similaire aux relations déterminées en fluage (voir tableau DT2).

a) Relations E^*-T^*

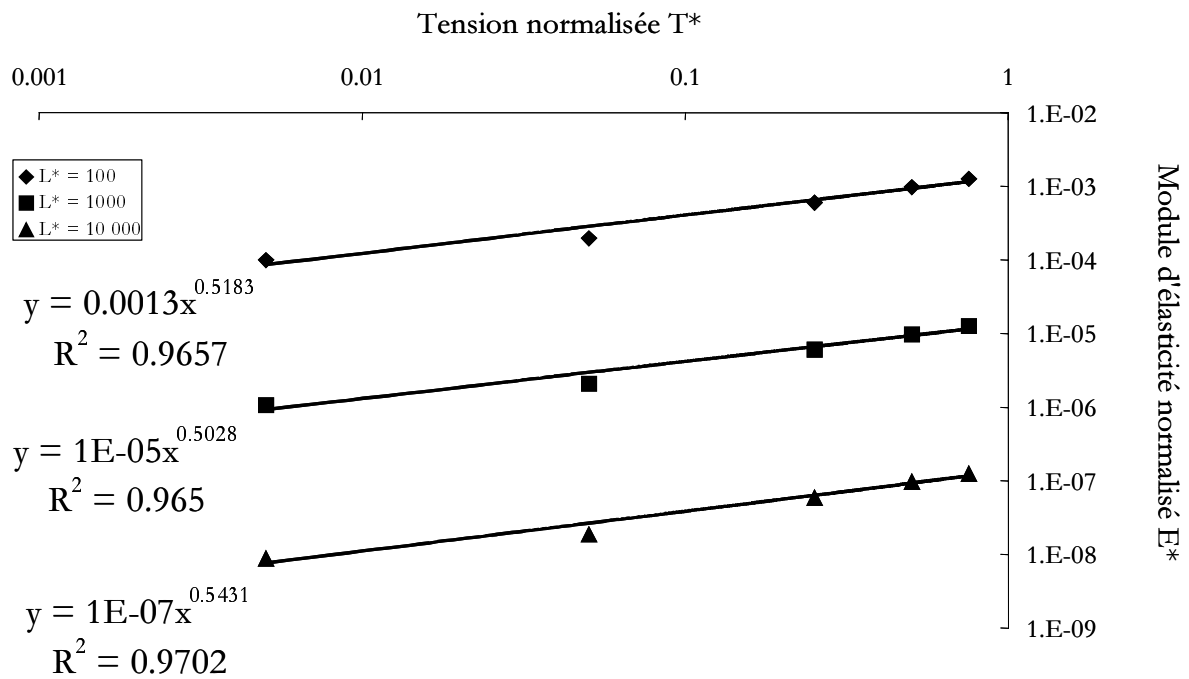


Figure D14 : Variation du module d'élasticité normalisé en fonction de la tension interne normalisée T^* pour différentes valeurs de longueur normalisée L^* du MTV testé à la fréquence préférentielle $f_p = 0.1$ Hz des câbles.

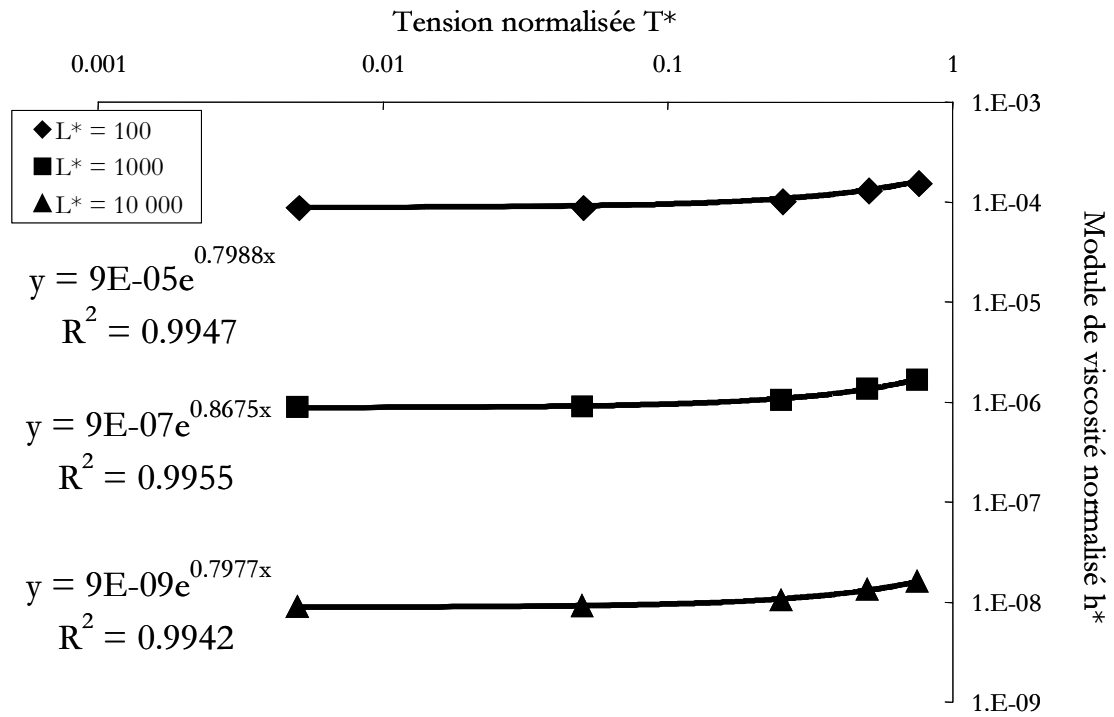


Figure D15 : Variation du module de viscosité normalisé η^* en fonction de la tension interne T^* pour différentes valeurs de L^* de MTV testés en oscillations forcées à la fréquence $f_p = 0,1$ Hz. Les courbes de correspondance sont issues de fonctions exponentielles, R^2 donne le niveau de corrélation.

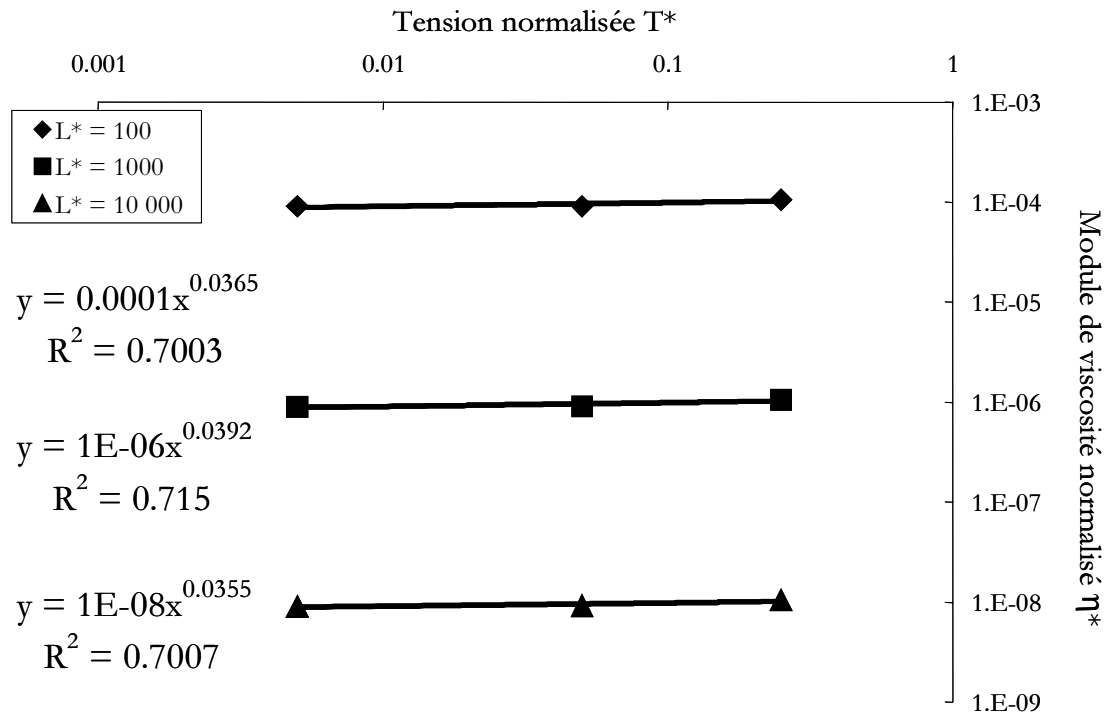


Figure D16 : variation du module de viscosité normalisé η^* pour différentes valeurs de L^* , en fonction des plus petites valeurs de tension interne T^* testées ($< 0,25$), avec courbes de lissage suivant des lois puissances de T^* . Les courbes de correspondance sont issues de fonctions puissances, R^2 donne le niveau de corrélation.

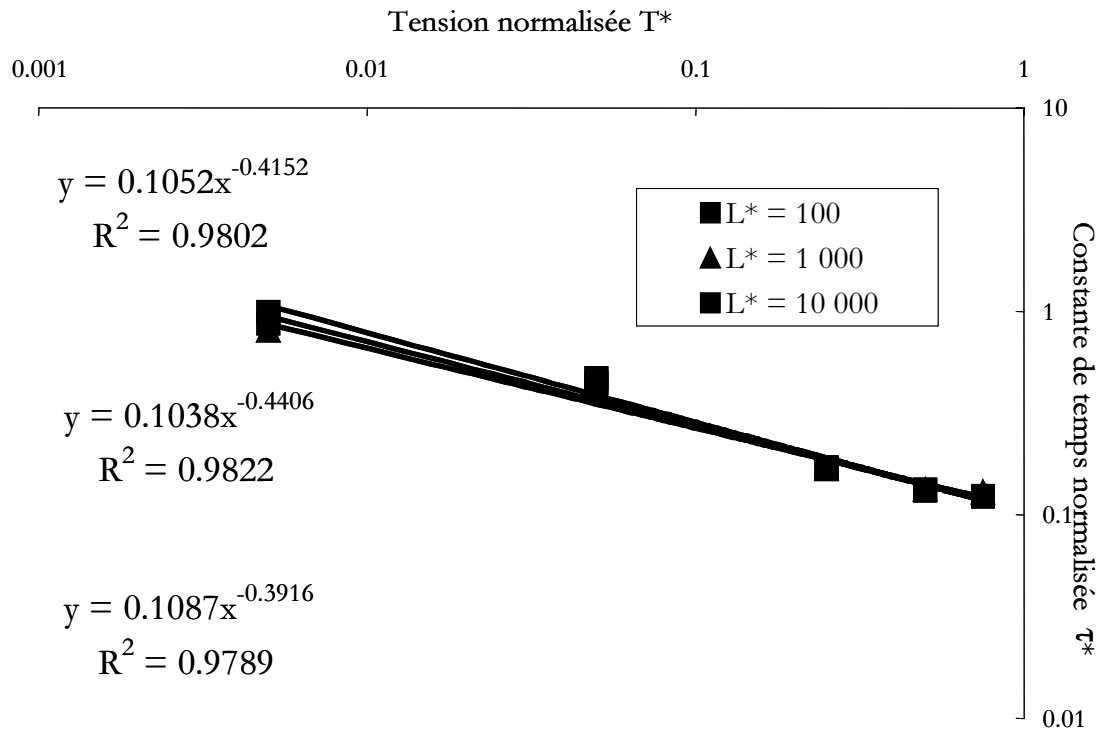


Figure D17 : Evolution de la constante de temps normalisée t^* en fonction de la tension interne T^* pour différentes valeurs testées de L^* de MTV soumis à des oscillations imposées à la fréquence préférentielle $f_p = 0,1$ Hz. Les courbes de correspondance sont issues de fonctions puissances, R^2 donne le niveau de corrélation.

Les résultats présentés par les figures D14 à D17, en termes de modules normalisés d'élasticité E^* et de constante de temps normalisée τ^* du MTV en fonction de la tension interne normalisée T^* ($E^* \propto T^{*+0,5}$ et $t^* \propto T^{*-0,4}$), obtenus en oscillations imposées, ne contredisent pas ceux obtenus en fluage (figures D9 à D13 et tableau DT2). Comme en fluage, le module de ne dépend pas de façon significative de la tension interne, en particulier pour les plus petites valeurs testées ($T^* \leq 0,25$, voir figure D17). Toutefois, les courbes d'ajustement exponentielles montrées en figure D16 semblent indiquer que cette dépendance pourrait s'avérer plus significative à grandes valeurs de T^* ($\geq 0,50$). Ainsi, comme en fluage, lorsqu'un MTV est soumis à des oscillations imposées, l'élévation de son niveau de tension interne a pour effet de le rigidifier et de le solidifier légèrement. Toutefois, l'apport des tests en oscillations forcées est de montrer que l'augmentation de la tension interne d'un modèle de tenségrité viscoélastique tend à minimiser la

part relative d'énergie dissipée au cours de la déformation du MTV. En effet, l'hystérésivité h représentant par définition le rapport entre énergies dissipée et énergie stockée [Fredberg et coll. 1989], l'influence de la tension interne T^* est semblable ($h \propto T^{*-0,4}$). En fait, h traduit le « coût énergétique » que doit déployer le système pour se déformer et atteindre un équilibre. De façon importante, l'augmentation de T^* correspond ainsi à une minimisation de ce « coût énergétique » pour les MTV soumis à des efforts oscillants à fréquence imposée, tandis que la taille de la structure (L^*) n'influe en rien ce « coût » (h indépendant de L^*).

b) Relation E^*-L^* ou effet d'échelle

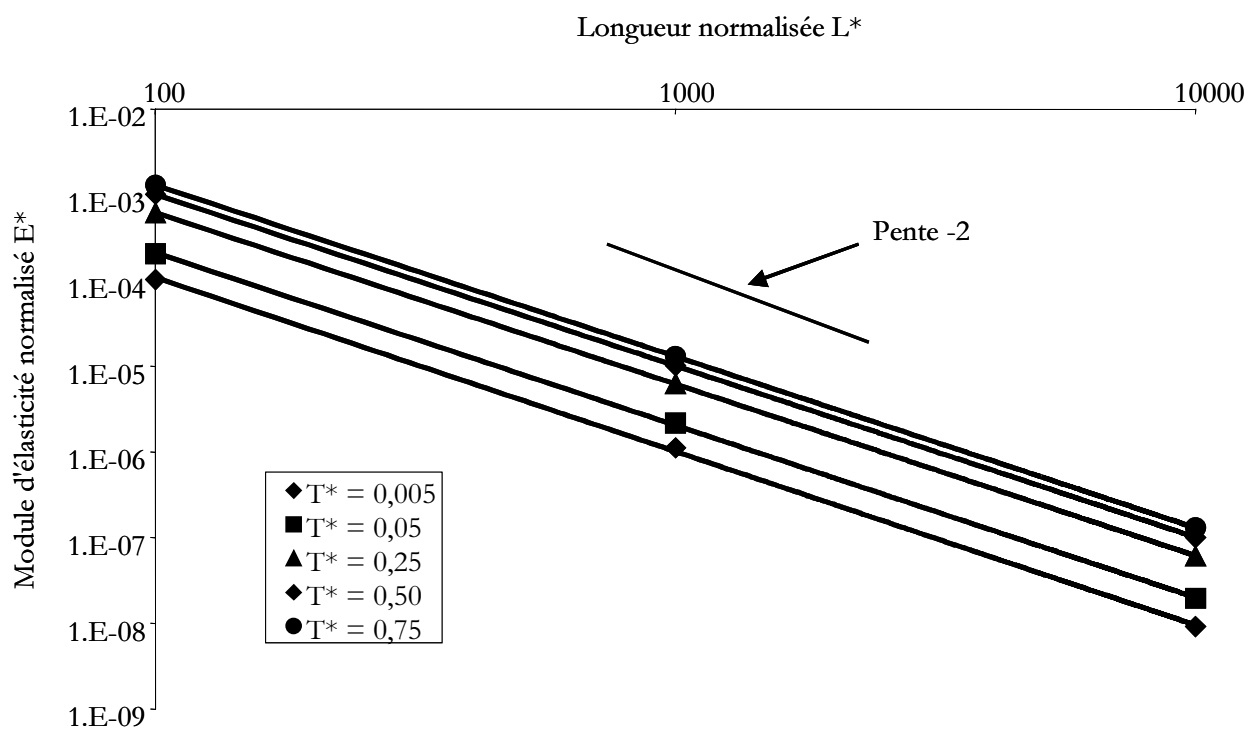


Figure D18 : Evolution du module d'élasticité normalisé E^* en fonction de la longueur normalisée L^* pour différentes valeurs testées de T^* de MTV soumis à des oscillations imposées à la fréquence $f_p = 0,1$ Hz.

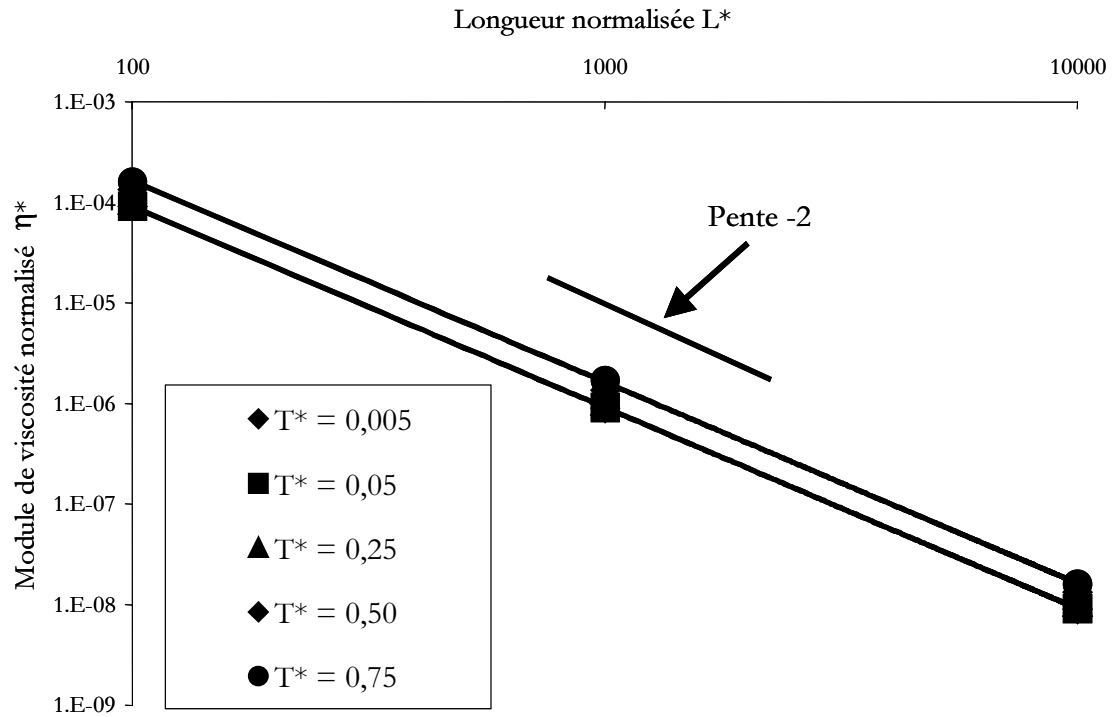


Figure D19 : Evolution du module de viscosité normalisé η^* en fonction de la longueur normalisée L^* pour différentes valeurs testées de T^* de MTV soumis à des oscillations imposées à la fréquence $f_p = 0,1$ Hz.

Par ailleurs, les figures D18 et D19 indiquent que les modules normalisés d'élasticité et de viscosité des MTV soumis à des oscillations imposées dépendent de l'inverse du carré de la longueur normalisée ($\propto L^{*-2}$) tandis que la constante de temps normalisée, définie comme le rapport entre ces deux modules, s'avère indépendante de L^* . Ces dépendances restent vraies quelle que soit la valeur de la tension interne normalisée T^* . Ainsi, lorsqu'un MTV est soumis à des oscillations imposées à une fréquence déterminée, l'augmentation de la taille de la structure a un double effet de (i) l'assouplir et (ii) la diluer.

II – Résultats expérimentaux sur le modèle physique de tensegrité viscoélastique

Le modèle physique de tensegrité viscoélastique a été soumis à des sollicitations cycliques en déplacement imposé à diverses vitesses et diverses amplitudes à partir de son état de référence ainsi qu'autour d'un état de déformation initiale (machine INSTRON).

La structure de tensegrité étudiée expérimentalement est représentée dans la photographie ci-dessous.



Figure D20 : Photographie du modèle physique de tensegrité viscoélastique à 30 éléments testé en vitesses imposées sur la machine INSTRON.

Cette structure de tensegrité à 30 éléments est constituée de 6 barres en titane, présentant un bon compromis entre une grande rigidité et une masse minimisée, et 24 câbles. Ces derniers doivent avoir tout à la fois une viscosité marquée et une rigidité relativement faible vis à vis des

éléments barres, tout en étant suffisante pour supporter de grandes tensions imposées par le montage ainsi que supporter des forces importantes lors des chargements de la structure. Dans ce but, le matériau choisi pour les éléments câbles est constitué d'un polymère synthétique couramment utilisé dans l'industrie automobile pour fabriquer des durites non tressées [Module d'élasticité $E_c \approx 0,5$ MPa, module de viscosité $\eta_c \approx 25$ MPa.s et constante de temps $\tau_c \approx 50$ s, déterminés avec la machine INSTRON]. La longueur (L_b) des barres est de 20 cm. Dans le but réduire au maximum des éventuels effets de dissipation d'énergie et d'éviter que les câbles en polymères ne se plastifient par cisaillement au niveau de leurs liaisons avec les barres, les tubes sont percés de part en part vers leurs extrémités. La distance entre les trous de chaque tube est de 18 cm ; ce sera la valeur retenue pour la longueur « efficace » des barres de la structure de tenségrité, celle des câbles à l'état de référence étant alors $L_c = (\sqrt{6}/4) \cdot L_b \approx 11$ cm (voir encore l'équation B1 de la Partie B Méthode). Le réseau des câbles étant monté, un piton vient butter sur ceux-ci à chaque extrémité des tubes, évitant ainsi le glissement des éléments câbles par rapport aux barres. Avant montage, la longueur à vide des câbles ayant été choisie de 8 cm, ils ont donc subi pour le montage une elongation définissant la valeur de la tension normalisée à l'état de référence de la structure de tenségrité : $T^* \approx 0,27$.

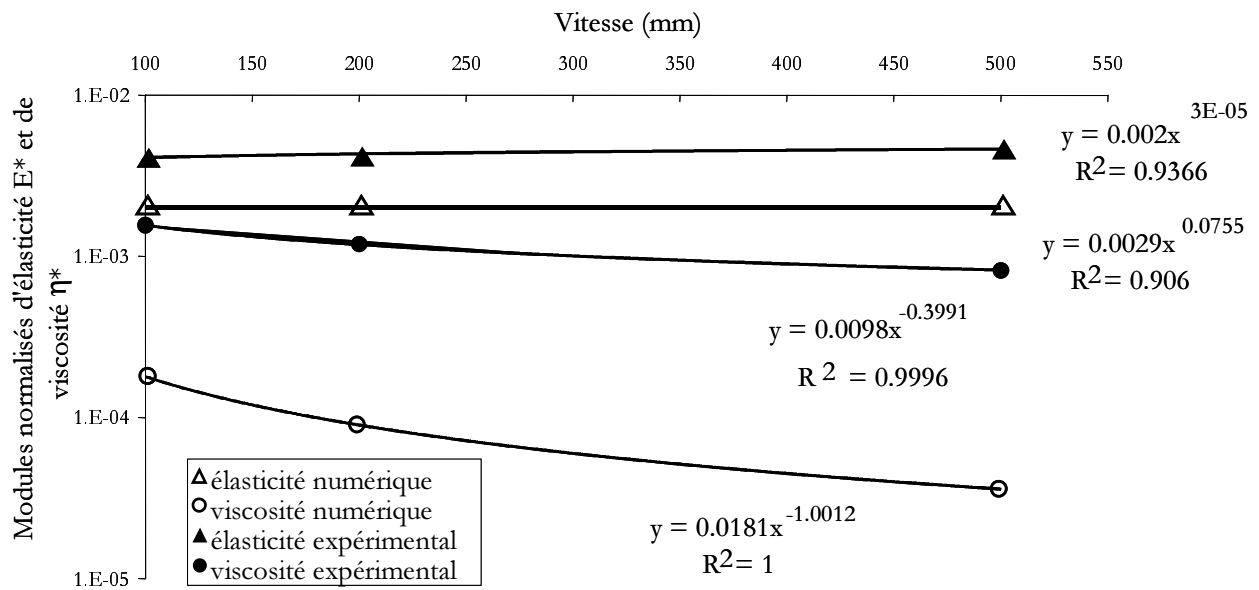


Figure D21 : Modules normalisés d'élasticité et de viscosité, déterminés par les modèles numérique et théorique de tenségrité viscoélastique en vitesses imposées.

La figure D21 ci-dessus permet de comparer les propriétés viscoélastiques du MTV déterminées expérimentalement ainsi que par simulations numériques. En termes quantitatifs, les modules d'élasticités normalisés numériquement et expérimentalement sont concordant (de l'ordre de 10^{-3} – 10^{-2}) tandis que le module de viscosité normalisé déterminé expérimentalement est d'un ordre supérieur au module de viscosité théorique. Par ailleurs, en termes qualitatifs, le module d'élasticité apparaît inchangé avec la variation de la vitesse imposée, tandis que le module de viscosité diminue lorsque la vitesse augmente pour chacune des deux méthodes d'évaluation. Toutefois, les simulations numériques laissent apparaître que η^* est proportionnel à l'inverse de la vitesse imposée tandis que les essais expérimentaux aboutissent à une dépendance moindre du module de viscosité normalisé en l'augmentation de la vitesse ($\eta^* \propto V^{-0,4}$, voir figure D21).

Ainsi, si ces essais expérimentaux permettent une validation de la mesure théorique des propriétés élastiques du MTV, il semble que cela reste encore à confirmer pour l'évaluation des propriétés visqueuses. Néanmoins, ces différences quantitatives n'empêchent pas la bonne

corrélation qualitative, à savoir la décroissance du module de viscosité avec l'augmentation de la vitesse imposée, observée aussi bien numériquement qu'expérimentalement

III – Synthèse

En continuité avec les travaux antérieurs portant sur la détermination des propriétés élastiques des structures de tenségrité [Mohri et coll. 1993, Coughlin et coll. 1997, Kebiche et coll. 1999, Wendling et coll. 1999, 2000a, Stamenovic et coll. 1996], la présente étude a permis une première caractérisation de la réponse mécanique des modèles de tenségrité viscoélastiques soumis à des chargements effectués en conditions statiques (fluage) et dynamiques (oscillations forcées). Les présents résultats autorisent ainsi l'établissement d'une loi unificatrice des relations de proportionnalité entre les propriétés viscoélastiques des MTV et les principaux paramètres dont elles dépendent :

- (i) le niveau de déformation globale du MTV c'est à dire la réorganisation structurale de ses éléments constitutifs,
- (ii) le type d'effort appliqué,
- (iii) les paramètres locaux que sont la tension interne T^* et la longueur normalisés L^*
- (iv) la fréquence imposée dans le cas d'oscillations imposées. A noter que les lois puissance de T^* et de L^* déterminées à une fréquence fixée (f_p) correspondent à celles déterminées en fluage.

En effet, quelque soit le mode de chargement (forces constantes ou oscillantes) et le type d'effort appliqué au MTV, le module d'élasticité normalisé E^* est proportionnel respectivement à la racine carrée de la tension interne normalisée ($E^* \propto T^{*+0,5}$) et à l'inverse du carré de la

longueur normalisée L^* ($E^* \propto L^{*-2}$). De même, le module normalisé du MTV est indépendant de la tension interne tandis qu'il est lui aussi proportionnel à l'inverse du carré de L^* ($\eta^* \propto L^{*-2}$) que ce en fluage ou en oscillations imposées. Enfin, la constante de temps normalisée t^* , de même que l'hystérésivité h , sont approximativement proportionnelles à l'inverse de la racine carrée de la tension interne ($t^* \propto T^{*-0,4}$) et restent inchangées quelle que soit la valeur de L^* , que les efforts imposés soient constants ou harmoniques.

En d'autres termes, les modèles de tenségrité viscoélastiques sont soumis à des processus de rigidification et de solidification lorsque leur niveau de tension interne augmente, quelque soit le mode (statique ou dynamique) de sollicitation mécanique. En outre, le fait d'augmenter la longueur des éléments d'un MTV tend à assouplir la structure et à minimiser les effets visqueux tandis que le temps de réponse mécanique à une charge externe reste inchangé. Il est à noter que la rigidification associée à la solidification du MTV par augmentation de sa tension interne semble en accord avec la minimisation de l'énergie dissipée en cours de déformation (diminution de h). Ce résultat semble cohérent avec l'idée que plus une structure est pré-tendue, plus elle est stable et, en conséquence, moins elle aura à libérer d'énergie au cours de sa déformation. Par ailleurs, les propriétés viscoélastiques suivent des lois de dépendances de la fréquence imposée (en oscillations imposées) qui n'avaient jusqu'alors jamais été établies auparavant : $E^* \propto f^{+0,18}$, $\eta^* \propto f^{-0,24}$, $\tau^* \propto f^{-0,42}$, $h \propto f^{+0,58}$. Ainsi, l'augmentation de la fréquence d'oscillations imposées f induit des processus de rigidification, de dilution et de solidification dans les structures de tenségrité, avec des effets élastiques prenant le pas sur les effets dissipatifs lorsque f croît.

Le présent modèle de tenségrité viscoélastique ne permet cependant pas d'étude en relaxation des contraintes du fait de sa construction à partir d'éléments de type Voigt, pour lesquels la relaxation est instantanée. L'implémentation d'un modèle plus complexe, à partir de composants de type « solide viscoélastique standard » ou solide viscoélastique de Kelvin, reste à

faire pour analyser les mécanismes de la relaxation au sein de la structure d'un MTV. De plus, les tests effectués en oscillations imposées ont été effectués uniquement à partir de l'état de référence de la structure, sans déformation initiale ($\epsilon_i = 0$), ne permettant donc pas une analyse en fréquence de l'effet du réarrangement spatial des éléments constitutifs sur les propriétés viscoélastiques globales du MTV.

Partie E : Discussion générale

Les présents résultats numériques, portant sur la caractérisation du comportement dynamique (hors effets inertiels) des modèles de tenségrité viscoélastiques (MTV), vont être utilisés pour comprendre la réponse viscoélastique des cellules adhérentes soumises à des micromanipulations. Il s'agit d'une part de cellules épithéliales alvéolaires adhérentes à un support de type collagène et testées par la technique de magnétocytométrie et, d'autre part, d'autres types cellulaires (notamment des macrophages ainsi que des cellules endothéliales et musculaires lisses) d'études expérimentales extraites de la littérature [Ragsdale et coll. 1997 ; Valberg et coll. 1985, 1987 ; Nemoto 1982 ; Laurent et coll. 2002a, Wang et coll. 1994 ; Wang 1998 ; Maksym et coll. 2000 ; Stamenovic et coll. 2002]. En particulier, il existe actuellement un débat portant sur l'origine et la nature des propriétés visqueuses de la cellule adhérente [Ingber et coll. 2000], à savoir : la viscosité cellulaire provient-elle plutôt du fluide cytosolique visqueux (le cytosol) et/ou de ses interactions (contraintes de cisaillement) avec les organites (solides) cytoplasmiques dont les filaments du CSQ [Fung 1981 ; Heidemann et coll. 1999] ? Les propriétés visqueuses de la cellule adhérente trouvent-elles plutôt leur origine au sein de la structure même du cytosquelette [Wang et coll. 1994 ; Maksym et coll. 2000] ? La nature de cette viscosité cellulaire est-elle alors de type fluide, conférée par les propriétés visqueuses mêmes du cytosol ? Est-ce le cytosquelette qui fournit à la cellule une viscosité de type solide, par les propriétés visqueuses des filaments du CSQ, à l'instar des polymères comme par exemple les caoutchoucs synthétiques [Janmey 1991], ou sont-ce des changements de phase (passage d'un état à un autre) dus à la dynamique des connectivités moléculaires entre organites cytoplasmiques, à l'image des milieux vitreux mous et des gels de polymères, qui sont responsables de la réponse viscoélastique cellulaire [Fabry et coll. 2001 ; Forgacs 1995] ? Les fortes similitudes, montrées dans les résultats obtenus sur le présent MTV et les cellules testées, constituent pour la première fois un ensemble d'arguments suggérant

que la viscoélasticité structurale du cytosquelette a un rôle à jouer pour les propriétés mécaniques de la cellule (paragraphe I). Les mécanismes régissant la déformation cellulaire sont, de plus, discutés par une étude comparative entre le MTV et un autre modèle structural de cytosquelette privé de tension interne et issu de la théorie des mousses (paragraphe II). Cette étude comparative précise l'importance de l'architecture multi-compartimentée du cytosquelette (CSQ) [Laurent et coll. 2002b] ainsi que l'influence de la façon, spécifique ou non du CSQ, d'appliquer les contraintes et les déformations lors de mesures expérimentales effectuées sur cellules vivantes. En outre, les lois de dépendance des modules d'élasticité et de viscosité du présent MTV en fonction de sa longueur normalisée (E^* et $\eta^* \propto L^{*-2}$) pourraient contribuer à expliquer la grande diversité observée dans les résultats expérimentaux (issus de la littérature) par un effet d'échelle de la taille de la sonde expérimentale utilisée (paragraphe III).

I – Rôle de la viscoélasticité structurale dans le comportement mécanique de la cellule adhérente

L'importance cruciale de la forme et de la structure de la cellule adhérente en interaction avec son microenvironnement immédiat (la matrice extracellulaire et les cellules voisines) dans ses grandes fonctions biologiques, étant reconnue depuis une trentaine d'années, le nombre d'études expérimentales (par micromanipulations cellulaires) ne cesse d'augmenter pendant que de plus en plus de modèles théoriques sont développés [Butler et coll. 1991 ; Evans et coll. 1989 ; Fredberg et coll. 1989 ; Fung 1981 ; Heidemann et coll. 1999 ; Hochmuth et coll. 1987 ; Laurent et coll. 2002a ; Mathur et coll. 2000 ; Nemoto et coll. 1982 ; Ragsdale et coll. 1997 ; Satcher et coll. 1996 ; Sato et coll. 1990 ; Thoumine et coll. 1997 ; Valberg et coll. 1985 ; Wang et coll. 1994 ; Yamada et coll. 2000]. Il a ainsi été établi que le cytosquelette confère à la cellule son aspect structural, en opposition avec un milieu continu, qui est prédominant dans sa réponse mécanique lorsqu'une

contrainte externe ou interne est appliquée (voir encore Partie A). Parmi les nombreux modèles cellulaires développés à ce jour, il apparaît que les modèles de tenségrité sont les seuls à considérer à la fois : (i) l'aspect structural du cytosquelette, (ii) les interactions entre les différents types de filaments constituant le CSQ, (iii) la tension interne au cytosquelette résultant de ces interactions, (iii) l'adhésion cellulaire en un nombre fini de points focaux d'adhésion, ainsi que (iv) la réorganisation structurale des filaments cytosquelettiques au cours de la déformation cellulaire induite par une contrainte appliquée (Partie A). Les modèles de tenségrité ont ainsi permis d'apporter, plus que d'autres modèles, des éléments de compréhension sans précédent dans cette réponse mécanique de la cellule d'origine structurale. En particulier, le rôle de la tension interne et son effet sur la rigidité cellulaire, ainsi que les processus de rigidification observés au cours de l'augmentation de la contrainte appliquée, trouvent une explication commune par le concept de tenségrité [Wendling et coll. 2000b ; Wang et coll. 1994]. Fondamentalement, ce concept suggère que la réponse mécanique cellulaire serait dominée par la tension interne et la réorganisation structurale du cytosquelette [Stamenovic et coll. 1996 ; Ingber et coll. 1985]. Néanmoins, un certain nombre d'autres mécanismes, jouant un rôle sur la réponse mécanique de la cellule, restent fort mal connus. En particulier, une discussion subsiste, concernant la nature des propriétés viscoélastiques de la cellule adhérente et notamment en termes d'énergie dissipée [Ingber et coll. 2000]. En effet il est observé par diverses techniques expérimentales un retard temporel dans la réponse mécanique (ou une dissipation d'énergie) des cellules dans différentes conditions dynamiques [Butler et coll. 1991 ; Evans et coll. 1989 ; Heidemann et coll. 1999 ; Hochmuth et coll. 1987 ; Laurent et coll. 2000, 2002a ; Mathur et coll. 2000 ; Nemoto et coll. 1982 ; Ragsdale et coll. 1997 ; Satcher et coll. 1996 ; Sato et coll. 1990 ; Thoumine et coll. 1997 ; Valberg et coll. 1985 ; Wang et coll. 1994 ; Yamada et coll. 2000]. La contribution du réarrangement spatial des éléments du cytosquelette sur le comportement viscoélastique des cellules adhérentes, à l'image de son effet sur la rigidité cellulaire, n'avait à ce jour jamais été

démonstré ; la présente étude établit pour la première fois une vue quantifiée de ces effets et les fondements du concept de viscosité structurale cellulaire.

En effet, bien que la viscosité cellulaire soit mise en évidence dans de nombreuses études par micromanipulation de cellules vivantes [Butler et coll. 1991 ; Evans et coll. 1989 ; Heidemann et coll. 1999 ; Hochmuth et coll. 1987 ; Laurent et coll. 2000, 2002a ; Mathur et coll. 2000 ; Nemoto et coll. 1982 ; Ragsdale et coll. 1997 ; Satcher et coll. 1996 ; Sato et coll. 1990 ; Thoumine et coll. 1997 ; Valberg et coll. 1985 ; Wang et coll. 1994 ; Yamada et coll. 2000], la nature exacte des mécanismes régissant la dissipation visqueuse reste encore mal connue. Certains auteurs estiment que ces processus visqueux sont associés à des contraintes de cisaillement au sein du fluide cytoplasmique, le cytosol [Fung 1981 ; Heidemann et coll. 1999]. Pour d'autres, élasticité et viscosité cellulaires proviennent du réseau de filaments d'actine au sein de la structure du CSQ qui est alors caractérisée par une mousse ou un gel de polymères [Satcher et coll. 1996 ; Forgacs 1995 ; Elson 1988]. Selon cette approche, les mesures dynamiques récemment effectuées sur des cellules musculaires lisses suggèrent que les contraintes de friction engendrent une dissipation de l'énergie mécanique à travers la cellule sans toutefois provenir de mouvements fluides du cytosol mais plutôt du couplage avec les contraintes élastiques associées aux déformations du cytosquelette [Maksym et coll. 2000]. Ainsi, l'origine physique de la dissipation intracellulaire reste une question ouverte pour laquelle aucune étude n'a, à ce jour, proposé d'explication définitive [Ingber et coll. 2000]. La réorganisation spatiale des filaments du CSQ en constitue un aspect qui pourrait s'avérer fondamental. Parallèlement, une autre question se pose concernant l'importance de la tension interne dans la réponse viscoélastique cellulaire, à l'instar de son influence sur les propriétés purement élastiques des cellules vivantes démontrée par les précédents travaux [Wendling et coll. 1999, 2000a, 2000b].

Pour les raisons énumérées ci-dessous, les présents résultats suggèrent que la contribution de la redistribution spatiale des filaments cytosquelettiques peut être analysée sur la base du modèle structural de tenségrité viscoélastique. En accord avec le fait que la fraction volumétrique des constituants structuraux est constamment plus petite que le volume total occupé par le MTV, les résultats théoriques estiment que les propriétés mécaniques globales de la cellule sont quantitativement inférieures aux propriétés locales des filaments [Wendling et coll. 1999, 2000a, 2000b]. Ainsi, les observations expérimentales antérieures sont remarquablement en accord avec ce résultat puisque les valeurs mesurées de modules d'élasticité (jusqu'à 10^4 – 10^5 Pa, voir figure 12 dans Maksym et coll. 2000) et de viscosité (jusqu'à 10^3 – 10^4 Pa.s, voir la présente figure E4) sont de plusieurs ordres inférieures aux valeurs déterminées pour les filaments d'actine en termes d'élasticité ($\sim 10^8$ Pa, Kojima et coll. 1994) et de viscosité ($\sim 10^4$ – 10^5 Pa.s, Janmey et coll. 1988, 1991).

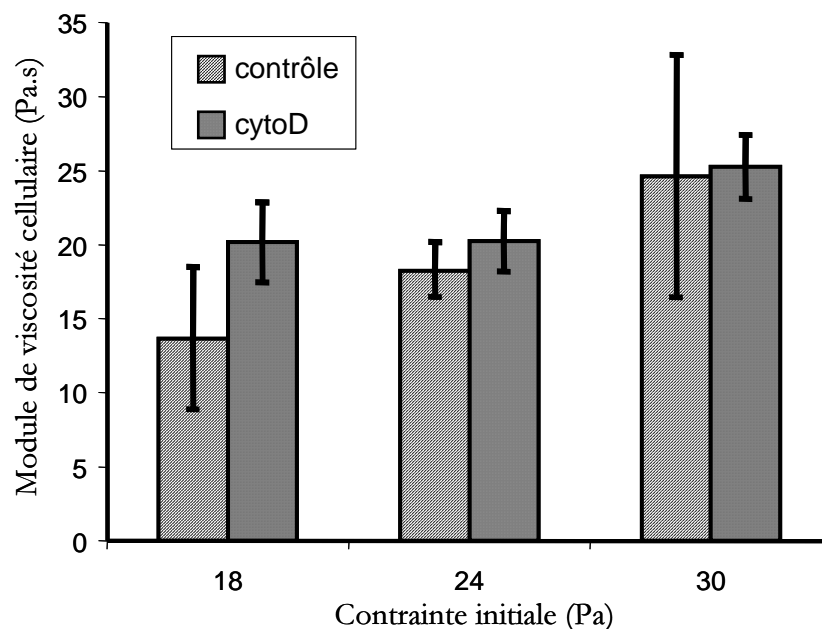


Figure E1 : Module de viscosité cellulaire déterminé par magnétocytométrie (en conditions quasi-statiques : fluage, avec équilibre atteint au bout de 1 minute) sur des cellules épithéliales (lignée A 549) avant (en mauve) et pendant le traitement à la cytochalasine D (en bleu), pour différents niveaux de contrainte appliquée.

De plus, les présents résultats obtenus par le MTV peuvent constituer une base d'analyse du rôle de la tension interne dans la réponse viscoélastique des cellules adhérentes. Les résultats prédisent, en effet, que l'augmentation du niveau de tension interne à la structure cytosquelettique a pour effet d'élever le module d'élasticité ($E^* \propto T^{*+0,5}$) et de diminuer la valeur de la constante de temps ($\tau^* \propto T^{*-0,4}$) mesurés tandis que le module de viscosité s'en trouve globalement peu perturbé ($\eta^* \propto T^{*+0,1}$, voir Partie D « Résultats »). Une explication mathématique sur cette double influence de la tension interne qui est importante sur les propriétés purement élastiques mais insignifiante sur les propriétés visqueuses, a été formulée pour le MTV en section I-3 de la Partie C Méthode. Toutefois, la concordance biologique d'un tel résultat restait à ce jour encore floue. Dans une étude précédente effectuée par magnétocytométrie en conditions quasi-statiques (correspondant à des tests de fluage) sur des cellules épithéliales alvéolaires (A549) en culture, l'altération de la tension interne au CSQ avait été obtenu en traitant les cellules à la cytochalasine D [Wendling et coll. 2000b]. Cette drogue a pour effet de stopper le processus de polymérisation à une extrémité des filaments d'actine, lesquels se dépolymérisent en continu à l'autre extrémité. Il a été considéré que l'un des effets était la baisse résultante de la tension interne qui induit en retour une diminution du module d'élasticité cellulaire mesuré [Wendling et coll. 2000b]. Ces résultats expérimentaux ont été ré-analysés dans le but d'en déduire les valeurs correspondantes du module de viscosité cellulaire, lesquelles sont présentées sur la figure E1 ci-dessus. Comme cela est prédit par le MTV, il semble qu'à chaque niveau de force appliqué, le module de viscosité mesuré ne soit pas significativement affecté par la diminution de la tension interne à la structure du CSQ (voir figure E1).

Des résultats similaires avaient déjà été montrés par Wang, dans une étude également effectuée par magnétocytométrie (test de fluage), sans toutefois que le niveau de force appliqué ne fut changé [Wang 1998]. Il est à noter que l'application de plusieurs niveaux de chargement

(tels qu'indiqué dans la figure E1 ainsi que dans Wendling et coll. 2000b), non seulement permet d'étendre les résultats de Wang, mais surtout autorise une étude de la réponse viscoélastique du cytosquelette en termes de mécanismes liés à son niveau de déformation. En effet, à l'image du MTV soumis à un effort de traction, l'extension du CSQ lors d'un test de magnétocytométrie, entraîne la structure cytosquelettique dans (i) un processus de rigidification (augmentation de la rigidité) déjà mis en évidence [Wendling et coll. 1999, 2000b] mais aussi (ii) un processus d'épaississement (augmentation du module de viscosité) quantifié ici pour la première fois par le concept de tenségrité. De plus, la diminution observée de la rigidité cellulaire accompagnée d'un effet non significatif sur les propriétés visqueuses après traitement par la cytochalasine D, induit un mécanisme de fluidification (augmentation de la constante de temps), les effets visqueux devenant de plus en plus marqués devant les effets élastiques. Ainsi, en extrapolant une situation extrême où, par l'utilisation de grandes concentrations de cytochalasine, la dépolymérisation de l'actine (composant cytosquelettique le plus dense dans le cytoplasme) serait complète, le CSQ serait alors privé d'une partie essentielle de son aspect structural ; la cellule perdrait ainsi une part considérable de ses propriétés de type « solide » viscoélastique pour adopter un comportement mécanique se rapprochant plus de celui d'un « fluide » viscoélastique. Ceci a été observé par Laurent [Laurent et coll. 2000] qui a montré que les cellules épithéliales alvéolaires en suspension, dépourvue de structure cytosquelettique interne et ne disposant que d'une faible tension corticale [Laurent et coll. 2002b], « s'écoulent » comme un fluide viscoélastique dans la micropipette dans laquelle elles sont aspirées [Laurent et coll. 2000]. A l'inverse, lorsque la cellule adhère, son CSQ se structure au sein du cytoplasme ce qui induit une augmentation de la tension interne ; la cellule entre alors dans des processus de rigidification et de solidification, comme le montrent les résultats obtenus par MTC [voir la figure E1 et Wendling et coll. 2000b]. En effet, les mêmes cellules épithéliales adhérentes, dont le cytosquelette prend ainsi la forme d'une structure fortement pré-tendue, montrent une rigidité plus importante et un temps de réponse mécanique

plus faible lorsqu'elles sont testées par la technique de magnétocytométrie que soumises (en suspension) à une aspiration par micropipette [Laurent et coll. 2000].

Par ailleurs, dans une autre étude de fluage par magnétocytométrie, Wang et Ingber ont suggéré que l'augmentation de l'adhésion cellulaire provoque une hausse du niveau de tension interne pouvant induire une élévation du module de viscosité mesuré [Wang et coll. 1994]. Toutefois, les résultats présentés en figure D3 (Partie D Résultats) montrent qu'en traction, le module de viscosité du MTV augmente quand la déformation initiale s'élève (avant le test de fluage proprement dit) ; cette augmentation du niveau de déformation initiale peut refléter l'augmentation de l'adhésion cellulaire. En d'autres termes, ce renforcement de la tension interne observé par Wang et Ingber pourrait aussi être attribué à une augmentation de l'hétérogénéité de la répartition des efforts de tension (et de compression) au sein des filaments du CSQ (à l'image d'un MTV de plus en plus déformé), de même qu'à d'autres facteurs tels que l'élévation du nombre de fibres de tension activées et de la force qu'elles développent, dans des cellules plus adhérentes.

En outre, des expérimentations récemment effectuées sur cellules musculaires lisses au moyen de billes sous oscillations imposées, [Stamenovic et coll. 2002] ont montré que l'énergie « restituable » (G') représentant le module élastique et l'énergie dissipée (G'') représentant le module de viscosité (défini en divisant G'' par la pulsation imposée : $\eta = G''/\omega$) augmentent linéairement avec le niveau de précontrainte cellulaire (P) modifié par traitement pharmacologique en utilisant des drogues permettant de relaxer ou d'activer l'appareil contractile de la cellule [Stamenovic et coll. 2002]. Une telle dépendance linéaire du module de perte (c'est à dire, $G'' \propto P$) apparaît différente de la prédiction donnée par le MTV (c'est à dire, $\eta \propto T^{*+0,1}$), si l'on considère que la précontrainte (P) et la tension normalisée (T^*) sont liées. En effet, le présent paramètre adimensionnel T^* , provient de la normalisation de la tension des câbles ($T_c^{(t)}$) par leurs propriétés physiques ($T^* = T_c^{(t)} / (ES)_c$) et définit ainsi l'état d'autocontrainte de la structure ; T^*

peut alors être rapproché de la définition de la précontrainte (P) du CSQ vue par Stamenovic et collaborateurs. Ces derniers ont toutefois noté que la dépendance de G'' en fonction de P était 4 fois moins importante que la dépendance de G' en P [Stamenovic et coll. 2002]. Cette moindre dépendance de G'' en fonction de la précontrainte (P) comparé à G' n'est pas discordante avec les différences observées pour le MTV en ce qui concerne les relations entre les modules viscoélastiques et la tension interne normalisée : $E^* \propto T^{*+0,5}$ et $\eta^* \propto T^{*+0,1}$. Ainsi, les propriétés élastiques sont beaucoup plus affectées par des changements du tonus cellulaire que les propriétés visqueuses. Ce résultat est confirmé si l'on effectue un lissage des courbes expérimentales (de la figure 5(A) dans Stamenovic et coll. 2002) en utilisant des lois puissances. Les lois mathématiques obtenues avec un coefficient de corrélation $R^2 \geq 0,9$ sont : $G'' = 5,64 \cdot P^{+0,39}$ et $G' = 9,46 \cdot P^{+0,50}$, ce qui montre le bon accord entre les lois de comportement expérimentales et les prédictions du MTV, notamment pour le module d'élasticité et, dans une moindre proportion, pour les propriétés visqueuses. Il est à noter que les valeurs de précontrainte utilisées par Stamenovic et collaborateurs sont limitées dans leur variation (une décade) ce qui justifie le choix de régressions linéaires, tandis que la présente tension interne dans le MTV varie de plus qu'un ordre de grandeur (de 0,05 à 0,75).

Toutefois l'étude effectuée par Stamenovic et collaborateurs et la présente étude diffèrent fondamentalement dans la définition de la précontrainte. En effet, à l'image des précédents travaux de Wendling [Wendling et coll. 1999, 2000a, 2000b] la précontrainte est ici définie par T^* à partir de l'état initial d'allongement des éléments constitutifs de la structure de tenségrité. A l'inverse, la définition donnée par Stamenovic et collaborateurs pour la précontrainte P correspond à un paramètre dimensionnel global provenant de la force résultante (par unité de surface) exercée par tous les éléments sous tension du CSQ sur un substrat malléable, calculée à travers la section moyenne de la cellule adhérente étudiée [Wang et coll. 2001 ; Stamenovic et coll. 2002]. Plus généralement, les prédictions obtenues par le MTV doivent être pondérées par la

définition de la précontrainte ainsi que par sa valeur. En outre, la prise en considération d'autres mécanismes possibles discutés par Stamenovic et collaborateurs comme le remodelage du cytosquelette et son aspect temporel, les propriétés rhéologiques non linéaires des réseaux filamenteux du CSQ, les contraintes de friction plausibles entre filaments, la cinétique donc les constantes de temps des couplages actine-myosine ainsi que de possibles effets de dissipation énergétique au niveau des connections entre filaments du CSQ, peut contribuer à expliquer les différences mesurées (étude de Stamenovic et al., 2002) et les effets non significatifs trouvés lors du traitement pharmacologique des cellules testées sur leurs propriétés élastiques (présente étude). Concernant les propriétés non linéaires des filaments cytosquelettiques, Wendling et collaborateurs ont déjà montré que la réponse élastique globale d'une structure de tensegrité élémentaire ne diffère pas fondamentalement, que les lois de comportement soient prises linéaires ou non [Wendling et coll. 2000a] ; il est de même possible d'envisager que le comportement viscoélastique global du MTV ne serait pas fondamentalement changé pourrait si le modèle MTV incorporait des non linéarités dans la composante visqueuse de ses constituants, bien qu'un tel travail reste à documenter et à effectuer . En outre, les aspects temporels ou dissipatifs associés au remodelage cytosquelettique comme aux couplages moléculaires ne sont pas considérés dans la présente étude (les liaisons entre les éléments constitutifs sont constantes et de type rotule parfaite) ; la prise en compte, par un MTV plus complexe, des temps caractéristiques de ces processus cytoplasmiques, dont en particulier ceux de l'appareil contractile cellulaire (actine-myosine) et du remodelage cytosquelettique, apporterait des composantes supplémentaires en termes de constantes de temps au comportement viscoélastique global du MTV dont le comportement en fréquence serait modifié (hystérésivité constante), à l'image de ce qui est observé pour le CSQ et discuté dans le paragraphe suivant [Maksym et coll. 2000].

En effet, les résultats expérimentaux obtenus en conditions dynamiques, par application de forces oscillantes à des cellules adhérentes montrent un certain nombre de point commun

avec les dépendances en fréquence des propriétés viscoélastiques obtenues pour le présent MTV. En effet, Maksym et collaborateurs ont obtenu des lois de dépendance en fréquence ($E \propto f^{+0,20}$ et $\eta \propto f^{-1}$, Maksym et coll. 2000) en appliquant la technique de MTC oscillante à des cellules musculaires lisses dans l'intervalle de fréquence [0,05 Hz ; 0,4 Hz]. Ces lois semblent comparables aux prédictions du MTV, en particulier en termes de propriétés élastiques, pour lequel il a été obtenu : $E \propto f^{+0,18}$ et $\eta \propto f^{-0,24}$. Concernant les propriétés visqueuses, la puissance théorique (-0,24) diffère cependant quelque peu de celle obtenue expérimentalement (-1 par Maksym et coll.) ce qui pourrait s'expliquer par le fait que contrairement à la structure du CSQ, le présent MTV est composé d'un seul type d'éléments viscoélastiques (les câbles) ayant tous les mêmes caractéristiques géométriques et mécaniques. De fait, il est probable que la viscosité cellulaire mesurée expérimentalement soit issue de filaments d'actine ainsi que de fibres de tension n'ayant pas tous les mêmes dimensions et n'étant pas tous présents dans les mêmes régions cytoplasmique. Toutefois, malgré l'accord imparfait entre les lois de dépendances théorique et expérimentales en termes de module de viscosité, celles-ci montrent la même diminution de η quand f augmente ($\eta \propto f^{-1}$ pour le CSQ et $\eta \propto f^{-0,24}$ pour le MTV). Cet effet de la fréquence sur les propriétés viscoélastiques de la structure cytosquelettique, mesuré sur différents types cellulaires par diverses techniques qui sollicitent spécifiquement le CSQ, correspond ainsi notablement aux processus parallèles de rigidification et de dilution caractéristiques des structures viscoélastiques de tensesgrité lorsqu'elles sont soumises à des oscillations forcées. Cependant, les mesures expérimentales effectuées par magnétocytométrie oscillante [Maksym et coll. 2000], montrent que l'hystérésivité h du CSQ est indépendante de la fréquence, contrairement au MTV dont l'hystérésivité augmente avec la fréquence. Cette grande différence peut s'expliquer en considérant la structure multi-compartimentée du cytosquelette. En effet, d'après la définition de l'hystérésivité ($h = \tau \cdot \omega$, voir la fin du paragraphe I-2 du chapitre précédent), le fait qu'un système mécanique ait une hystérésivité constante lorsque la fréquence (donc la pulsation ω) varie, signifie

qu'à chaque fréquence imposée f_i correspond l'expression d'une constante de temps τ_i spécifique ($h = \tau_i \cdot \omega_i = \tau_j \cdot \omega_j$). Deux raisons sont ici proposées pour expliquer une telle constance de l'hystérésivité lorsque la fréquence imposée varie : d'une part, il peut être considéré qu'un tel système mécanique se réduise à un matériau (solide ou fluide) dont la constante de temps ne serait pas une constante mais une variable proportionnelle à l'inverse de la fréquence et, d'autre part, il peut être envisager qu'un tel système mécanique soit constitué d'une multitude d'éléments dont chacun posséderait ses propres propriétés viscoélastiques (en l'occurrence, chacun assorti d'une constante de temps spécifique fixe). Selon chacune de ces deux hypothèses, ce système mécanique montrerait alors une hystérésivité constante dans la gamme de fréquence imposée correspondante à ces différentes valeurs de constante de temps des constituants. Concernant le premier postulat, il n'a pas été possible de trouver dans la littérature de matériau (qu'ils soit fluide ou solide) présentant une telle dépendance en fréquence de la constante de temps. Concernant la seconde hypothèse, elle s'appuie sur la dépendance des propriétés mécaniques d'un solide viscoélastique basé sur le modèle élémentaire de Voigt. En effet, selon ce concept, il existe une fréquence préférentielle pour laquelle un tel solide révèle l'ensemble de ses propriétés viscoélastiques (cette fréquence est l'inverse de la constante de temps du solide viscoélastique, voir annexe A1). Par suite, si l'on considère une association (en série) de deux modèles de Voigt ayant chacun sa propre fréquence préférentielle (f_i et f_j) donc deux pulsations préférentielles (ω_i et ω_j), ce sera alors à l'une de ces deux fréquences que l'association des deux modèles révélera le plus ses propres propriétés viscoélastiques, l'hystérésivité déterminée alors aurait la même valeur à ces deux fréquences ($h = \tau_i \cdot \omega_i = \tau_j \cdot \omega_j$). Ainsi, un modèle de tenségrité viscoélastique constitué de câbles ayant des constantes de temps différentes, l'ensemble de ces dernières variant dans un intervalle donné (noté $[x ; y]$ s), afficherait une hystérésivité constante dans l'intervalle de fréquences correspondant (ici $[1/y ; 1/x]$ Hz). De même, il est possible d'envisager plusieurs structures de tenségrité, disposant de câbles ayant une constante de temps spécifique pour chaque

structure et constituant ainsi, par assemblage, un « supra » modèle de tenségrité viscoélastique. Ce dernier, soumis à des oscillations forcées dans une gamme de fréquence correspondant à ses multiples constantes de temps montrerait là encore une hystérésivité constante dans cette gamme. Par conséquent, les présents résultats théoriques obtenus avec le MTV et leurs différences par rapport aux mesures expérimentales, en termes d'hystérésivité, confirment l'importance de considérer le cytosquelette comme une structure très hétérogène, constituée de plusieurs sous-structures apportant chacune sa propre contribution à la réponse mécanique globale cellulaire [Mathur et coll. 2000 ; Yamada et coll. 2000 ; Laurent et coll. 2002b].

Le présent travail éclaire une nouvelle application des structures de tenségrité, à savoir l'étude de la viscosité structurale et de la réponse dynamique cellulaire. Pour cela, des modèles de tenségrité plus complexes que le présent à 30 éléments sont nécessaires et restent à développer. Précisément, il va être vu ci-dessous, un autre type de modèle structural de cytosquelette issu de la théorie des mousses, constituées d'un assemblage d'alvéoles élémentaires.

II – Comparaison avec un autre modèle structural de la réponse mécanique cellulaire

L'importance significative de l'origine structurale dans les propriétés viscoélastiques de la cellule adhérente étant étayée par le présent MTV, une étude comparative avec un modèle structural de cytosquelette basé sur la théorie des mousses (modèle de solide alvéolaire) a été effectuée afin de mieux situer le MTV dans son application à l'étude théorique des mécanismes prédominant la réponse viscoélastique de la structure cytosquelettique. Ce modèle de solide alvéolaire a précédemment été utilisé par Satcher et Dewey pour l'analyse théorique des propriétés mécaniques du cytosquelette de cellules endothéliales [Satcher et coll. 1996]. Par ailleurs, Stamenovic et collaborateurs [Stamenovic et coll. 1999] ainsi que Wendling et

collaborateurs [Wendling et coll. 2000a] ont effectué deux études comparatives séparées entre les modèles de tenségrité et le modèle de mousses. D'une part, le MTV constitue un modèle de la réorganisation spatiale des filaments du CSQ comme processus gouvernant la déformation globale de la structure pré-tendue du cytosquelette. D'autre part, sur la base de la théorie des mousses, le CSQ est incarné par un solide alvéolaire dont la déformation globale est affine de la déformation d'une alvéole unitaire ; cette déformation alvéolaire résulte elle-même de l'extension (notamment lorsque le solide est sollicité en traction) ou du fléchissement (en compression) individuel des piliers qui bâtissent l'alvéole, comme indiqué sur la figure E2 ci-dessous [Gibson et coll. 1988] :

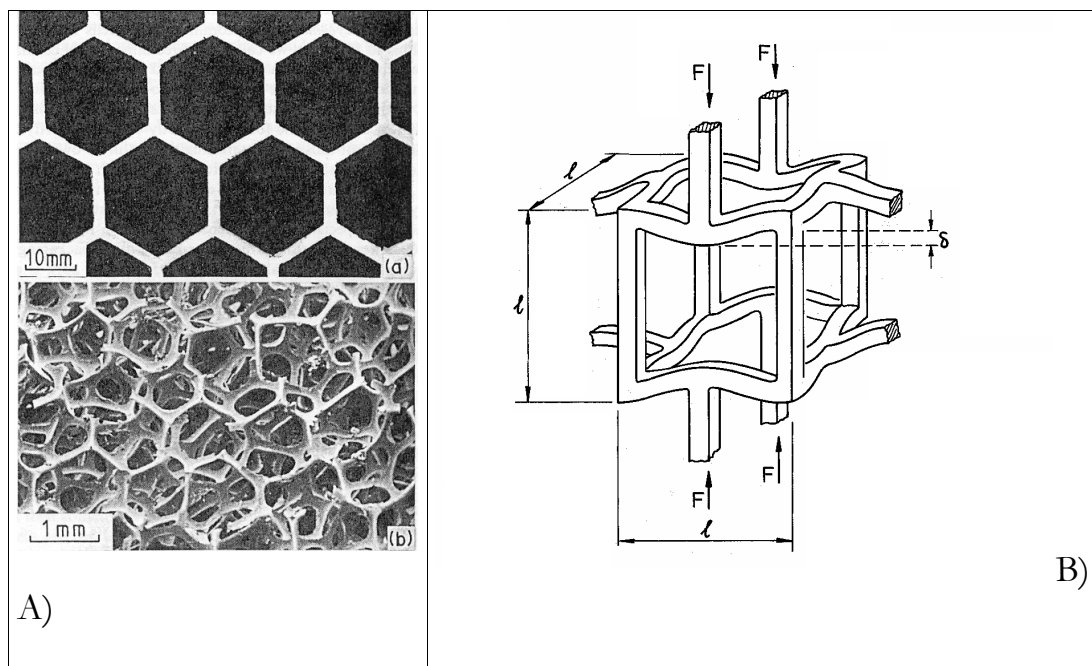


Figure E2 : (A) Illustration du modèle de mousse composée d'un arrangement structuré et périodique d'alvéoles hexagonales unitaires équivalentes (a) et photographie d'un solide alvéolaire tridimensionnel (b). La déformation globale de la mousse est affine de la déformation d'une alvéole unitaire. (B) représentation d'une unité alvéolaire soumise à un effort de compression (représenté par les forces notées F) et dont le fléchissement individuel (identifié par la déformation δ) de ses piliers gouverne la déformation de l'alvéole. Reproductions d'après Gibson et coll. 1988.

Dans une précédente étude comparative entre un modèle de tenségrité purement élastique équivalent au MTV (6 barres et 24 câbles) et un solide alvéolaire, Stamenovic et collaborateurs ont montré que chacun de ces modèles parvient à prédire un module d'élasticité cellulaire correspondant à des valeurs expérimentales déterminées sur cellules vivantes : pendant que le modèle de tenségrité prévoit un module d'élasticité cellulaire compris entre 10^1 et 10^2 Pa, le solide alvéolaire estime une valeur comprise entre 10^3 et 10^4 Pa [Stamenovic et coll. 1999]. Quoique quantitativement différentes, ces estimations ont été effectuées en considérant pour chaque modèle les mêmes propriétés physiques des filaments d'actine : un module d'Young de l'ordre de 10^8 Pa et un rayon de 4,25 nm [Stamenovic et coll. 1999]. Ainsi, il apparaît que les prévisions issues du modèle de tenségrité concordent, en termes d'élasticité, avec les résultats expérimentaux obtenus par les techniques de magnétocytométrie, d'aspiration par micropipette et de pinces optiques. A l'opposé, les prédictions issues du modèle de solide alvéolaire correspondent aux résultats expérimentaux, obtenus notamment par rhéométrie par magnétisation, microplaques et microscopie à force atomique [Stamenovic et coll. 1999]. En outre, Wendling et collaborateurs ont montré des effets d'échelle différents sur les modules d'élasticité globaux normalisés des deux types de modèles : $E^* \propto L^{*-2}$ pour la structure de tenségrité et $E^* \propto L^{*-4}$ pour le modèle de mousse [Wendling et coll. 2000a]. Ces différences en terme d'effet d'échelle de la structure ont permis aux auteurs d'estimer que l'élasticité cellulaire proviendrait d'un fin réseau de microfilaments interconnectés tous les 10^{-2} μm selon le modèle de mousses, tandis que le modèle de tenségrité prédit que les propriétés élastiques de la cellule est associée à un réseau de filaments d'une longueur de 2 μm à 5 μm [Wendling et coll. 2000a]. Suivant une approche similaire à ces travaux, la présente étude comparative s'est basée sur l'analyse du module de viscosité ainsi que de la constante de temps cellulaires prédits par chacun des deux modèles (les modalités du calcul de ces propriétés viscoélastiques cellulaires prédites par solide alvéolaire et par le MTV sont présentées en Annexe A7).

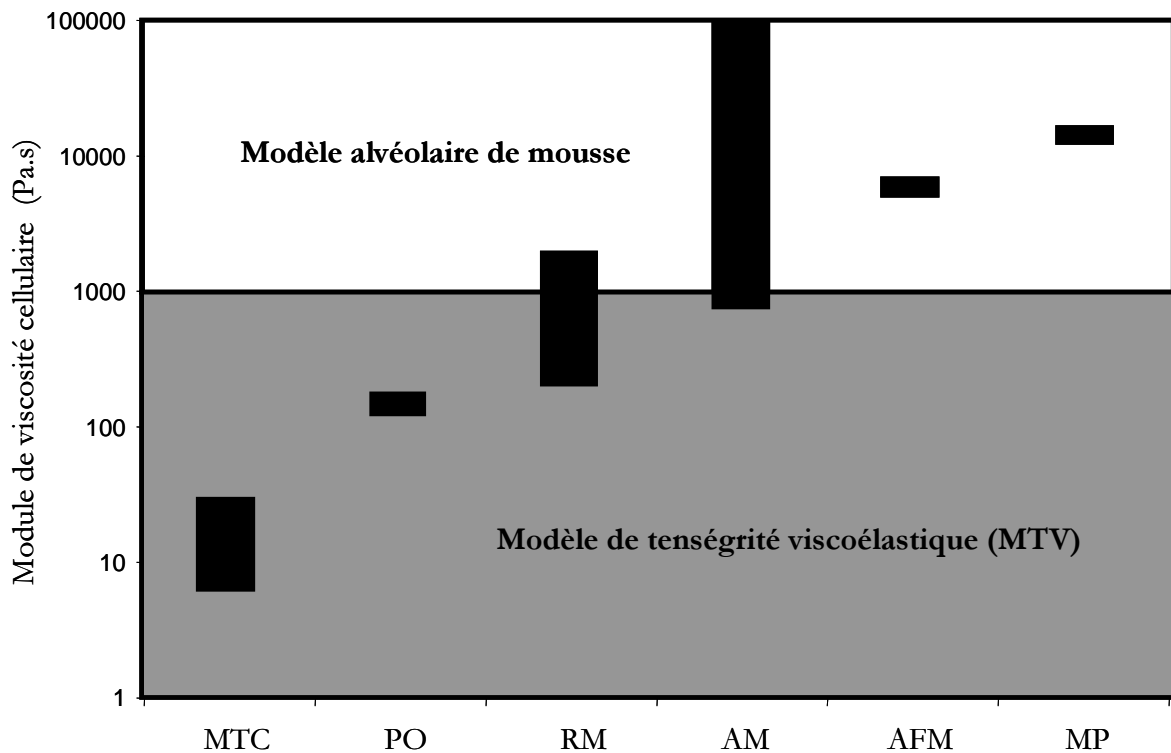


Figure E3 : Graphique représentant le module de viscosité cellulaire prédit par les modèles viscoélastiques de tenségrité et de solide alvéolaire, ainsi que les modules de viscosité évalués expérimentalement par magnétocytométrie (MTC) [Laurent et coll. 2002a ; Maksym et coll. 2000 ; Wang et coll. 1993 ; Wang et coll. 1998], pinces optiques (PO) [Laurent et coll. 2002a], rhéométrie par magnétisation (RM) [Bausb et coll. 1999 ; Nemoto 1982 ; Valberg et coll. 1985, 1987], aspiration par micropipette (AM) [Laurent et coll. 2000 ; Sato et coll. 1990 ; Thoumine et coll. 1997b], microscopie à force atomique (AFM) [Wu et coll. 1998] et microplaques (MP) [Thoumine et coll. 1997a].

	Module de Young (Pa) [Stamenovic et coll. 1999]	Constante de Temps (s)	Module de Viscosité (Pa.s)
Modèle Alvéolaire de Mousse	$\sim 10^3 - 10^4$	$\sim 10^0 - 10^1$	$\sim 10^3 - 10^5$
Modèle de Tenségrité	$\sim 10^1 - 10^2$	$\sim 10^{-1} - 10^1$	$\sim 10^0 - 10^3$

Table ET1 : Tableau récapitulatif des valeurs des modules d'élasticité et de viscosité ainsi que de la constante de temps cellulaires, prédites par d'une part le modèle de tenségrité et d'autre par le modèle de solide alvéolaire.

D'après les résultats obtenus et résumés dans la table ET1, la constante de temps du CSQ prédite par le solide alvéolaire est égale à la constante de temps déterminée pour les filaments d'actine (c'est à dire de l'ordre de 10^0-10^1 s, valeur extraite de Palmer et coll. 2001 ; voir encore l'équation A7-1 de l'annexe A7) tandis que le MTV prévoit une constante de temps globale inférieure (de 10^{-1} à 10^1 s). Par suite et en considérant les précédents résultats de Stamenovic et collaborateurs, il vient un module de viscosité cellulaire dans l'intervalle [10^3-10^5 Pa.s] prédit par le modèle de solide alvéolaire (voir équation A7-2 de l'annexe A7) et dans l'intervalle [10^0-10^3 Pa.s] prévu par le MTV (voir équation A1-4 de l'annexe A1). Comme pour les propriétés élastiques de la cellule, le solide alvéolaire prédit une viscosité cellulaire correspondant aux valeurs expérimentales obtenues par microplaques, microscopie à force atomique et aspiration par micropipette, le MTV prédit des valeurs en accord avec celles déterminées par micromanipulations cellulaire par magnétocytométrie, pinces optiques rhéométrie par magnétisation (voir figure E3).

Afin d'expliquer ces différences en termes de pronostic des propriétés élastiques de cellules vivantes, Stamenovic et collaborateurs ont postulé que le modèle de tenségrité convient plutôt pour l'estimation de résultats issus de techniques expérimentales dans lesquelles les forces appliquées entraînent de petites déformations cellulaires provenant essentiellement du

déplacement des constituants cytosquelettiques. A l'inverse, le modèle de solide alvéolaire serait plutôt en accord avec les résultats issus de techniques où sont appliquées de grandes déformations aux cellules, dont le processus serait fondamentalement gouverné par les déformations individuelles des filaments du CSQ [Stamenovic et coll. 1999]. Toutefois, ces auteurs n'ont pas considéré la façon avec laquelle les forces sont appliquées à la cellule testée, notamment si ces forces sont spécifiques ou non de la structure hautement polymérisée du cytosquelette. Il semble en effet primordial de constater que dans les techniques citées ci-dessus, dont les mesures peuvent être prédites en termes de module de viscosité par le solide alvéolaire (micropipette, microscopie à force atomique et microplaques), les efforts mécaniques sont appliqués à la surface cellulaire sans systématisation d'un lien avec le cytosquelette. A l'inverse, dans les techniques correspondant aux prédictions du MTV (magnétocytométrie, pinces optiques et rhéométrie par magnétisation), les forces mécaniques sont directement appliquées à la structure cytosquelettique via des microbilles directement connectées aux filaments d'actine ou aux récepteurs transmembranaires (les intégrines) eux-même intimement liés au CSQ.

Ainsi, concernant l'aspiration par micropipette, Satcher et Dewey estiment que la réponse mécanique cellulaire provient essentiellement de la déformation locale du réseau de microfilaments, provenant elle-même du fléchissement individuel des filaments d'actine [ref]. Lors des micromanipulations par microplaques, c'est un chargement global (compression ou traction) qui est appliqué à la cellule dont la déformation proviendrait plutôt de déformations globales des différents compartiments cellulaires comme la noyau et le cytoplasme [Henon et coll. 1999 ; Caille et coll. 2001]. Ainsi, dans la mesure effectuée par cette technique, il semble difficile voire impossible de différencier la réponse de la structure du CSQ des autres composants cellulaires. Enfin, par l'utilisation de la microscopie à force atomique, une force (compression) très localisée est appliquée au niveau de la membrane cellulaire. L'indentation de la sonde est alors localisée au sommet de la face apicale (proche du noyau) ou vers le bord cellulaire (filopode ou lamellipode) et peut déformer un seul filament cytosquelettique [Mathur et coll. 2000 ; Charras

et coll. 2002]. En effet, Mathur et collaborateurs ont pu observer que la réponse mécanique cellulaire est très variable et semble dépendre de la forme cellulaire ainsi que de la localisation précise de la sonde. Il est d'ailleurs à noter, à ce propos, que la majorité des études cellulaires effectuées par microscopie à force atomique a essentiellement porté sur la reconnaissance de la topographie membranaire ainsi que sur des mesures de rigidités locales, permettant de dresser de véritables cartes du réseau cytosquelettique sous-membranaire [Charras et coll. 2002 ; Mathur et coll. 2000a, 200b ; Wu et coll. 1998]. Par conséquent, il apparaît que les forces appliquées à la cellule par ces trois techniques expérimentales ci-dessus ne sont probablement pas totalement et spécifiquement appliquées à la structure hautement polymérisée du CSQ. En outre, de telles mesures de réponse viscoélastique cellulaire pourraient grandement refléter une accommodation locale de la cellule à la contrainte appliquée, en accord avec de précédents résultats obtenus par application de forces de façon non spécifique des mécanorécepteurs transmembranaires [Heidemann et coll. 1999].

Par contraste, lors de micromanipulations cellulaires par magnétocytométrie et par pinces optiques, les efforts mécaniques (principalement des forces de traction) sont appliqués directement au CSQ via des billes spécifiquement attachées aux récepteurs transmembranaires tels que les intégrines [Laurent et coll. 2002a]. De façon analogue, par la technique de rhéométrie par magnétisation, les forces (traction) sont directement appliquées aux filaments d'actine eux-mêmes à travers des billes auxquelles ils sont connectés [Valberg et coll. 1985, 1987]. Ainsi, et comme cela avait déjà été suggéré dans les précédentes études de la tenségrité cellulaire [Ingber et coll. 1985 ; Ingber 1993 ; Stamenovic et coll. 1996 ; Wang et coll. 1993 ; Wendling et coll. 1999], la structure globale du CSQ semble prédominer les propriétés viscoélastiques des cellules testées par magnétocytométrie, pinces optiques et rhéométrie par magnétisation, par l'application de forces de traction spécifiques. En analysant en parallèle les propriétés mécaniques et l'hétérogénéité structurale du CSQ de cellules adhérentes testées par magnétocytométrie, Laurent a pu identifier

deux sous-domaines cytosquelettiques ayant chacun une réponse viscoélastique spécifique : un fin réseau sous-membranaire de courts filaments d'actine (le cytosquelette cortical) qui semble plutôt répondre mécaniquement à des petites contraintes locales (comme lors de l'endocytose) et un plus large et plus profond réseau composé de filaments plus hautement polymérisés comme les fibres de tension (le cytosquelette cytosolique) qui relie des régions éloignées du CSQ [Laurent et coll. 2002b]. Cette étude confirme l'idée que la réponse élastique de cellules vivantes est gouvernée par la tension interne ainsi que par les déplacements des filaments composant ces deux sous-structures du CSQ, comme autant de MTV connectés et soumis à un même chargement externe [Laurent et coll. 2002b].

Néanmoins, les présentes prédictions en termes de module de viscosité cellulaire issues des deux modèles (solide alvéolaire et MTV) diffèrent quelque peu des prévisions calculées par Stamenovic et collaborateurs. En effet, ces derniers ont suggéré d'attribuer les différences entre techniques à l'amplitude de déformation des cellules testées : le solide alvéolaire prédit des valeurs d'élasticité cellulaire correspondant aux mesures effectuées par des techniques expérimentales supposant l'application de grandes forces de compression, comme les microplaques, le « pointage » cellulaire (cell poking), la microscopie à force atomique et la rhéométrie par magnétisation, le fléchissement individuel des filaments étant alors rendu responsable du mécanisme de la « résistance » cellulaires à de grandes compressions. A l'inverse, ces auteurs ont suggéré que le modèle de tenségrité prédit des valeurs de module d'élasticité cellulaire correspondant aux mesures effectuées par des techniques supposant de faibles forces appliquées, comme la magnétocytométrie et l'aspiration par micropipette (une seule valeur issue de Sato et coll. 1990), la tension interne et l'architecture du CSQ étant alors supposée prédominer la réponse élastique cellulaire [Stamenovic et coll. 1999]. Toutefois, la présente étude comparative entre les deux modèles de CSQ, prend aussi en compte l'échelle des différentes sous-structures

cytosquelettiques ainsi que les conditions d'application des forces, permettant ainsi de proposer de nouvelles explications des différences dans les mesures expérimentales.

En effet, il est ici suggéré que lors de l'aspiration par micropipette, le CSQ cortical est probablement grandement déformé par des forces de compression, tandis que les forces appliquées ne sont pas spécifiquement appliquées à la structure du CSQ. En d'autres termes, les mesures des propriétés viscoélastiques cellulaires correspondantes pourraient principalement refléter la réponse mécanique locale d'une sous-structure du CSQ plutôt que de la totalité du cytosquelette. Il apparaît, en effet, que plus le diamètre de la micropipette utilisée est faible, plus le module d'élasticité mesuré est important : Sato et collaborateurs ont utilisé une micropipette d'un diamètre de 4 μm pour évaluer une élasticité cellulaire de l'ordre de 10^2 Pa, Laurent et collaborateurs ont aspiré des cellules épithéliales par une micropipette d'un diamètre de 3,8 μm et mesuré un module d'élasticité d'environ $3 \cdot 10^2$ Pa, et Thoumine et Ott ont utilisé une micropipette de 2,8 μm de diamètre pour trouver une élasticité de $1,8 \cdot 10^4$ Pa [Sato et coll. 1990 ; Laurent et coll. 2000 ; Thoumine et coll. 1997]. Ainsi, plus la micropipette a un large diamètre, plus le sous-domaine cellulaire expérimenté doit être de grande dimension : Thoumine et Ott ont vraisemblablement mesuré les propriétés mécaniques d'une petite sous-structure (corticale) du CSQ, soumise ainsi à des déformations locales, en accord avec les propriétés viscoélastiques du modèle de solide alvéolaire, tandis que Sato et collaborateurs ont vraisemblablement aspiré un plus large sous-domaine cellulaire, incluant de grandes fibres de tension, soumis ainsi à des déplacements spatiaux, en accord avec les valeurs de module d'élasticité cellulaire prédites par le modèle de tenségrité.

Par ailleurs, la valeur du module d'élasticité cellulaire mesurée par rhéométrie par magnétisation, rapportée par Stamenovic et collaborateurs, semble être surestimée par les prédictions issues du solide alvéolaire [Stamenovic et coll. 1999]. Par cette technique, la localisation des billes utilisées, au sein du cytoplasme, n'est pas bien contrôlée. De plus, Valberg

et Feldman ont déjà montré que la taille de la bille peut influencer fortement la mesure des propriétés viscoélastiques cellulaires, en particulier si leur diamètre est inférieur aux dimensions caractéristiques du maillage du réseau cytosquelettique les entourant ; les mesures correspondantes peuvent alors refléter les propriétés mécaniques non seulement de la structure du CSQ mais aussi du fluide (cytosol) dans lequel la bille baigne [Valberg et coll. 1987].

Les différences exposées dans la présente étude comparative, en termes de mécanismes gouvernant la déformation du cytosquelette, ne doivent toutefois pas être envisagées comme opposées mais comme complémentaires. En effet, la réponse mécanique cellulaire globale implique très probablement une combinaison de nombreux mécanismes, à différentes échelles et diverses localisations au sein de la cellule, y compris des déformations individuelles (flambements) de certains filaments du CSQ, complémentaires (et mécaniquement connectées) à des déplacements spatiaux de certains filaments du CSQ qui peuvent jouer alternativement des rôles différents. Ceci pourrait alors expliquer pourquoi certaines mesures expérimentales sont en accord soit avec les prédictions du solide alvéolaire soit avec les prévisions du modèle de tenségrité, mais aussi avec les prédictions des deux modèles à la fois comme cela est le cas dans les techniques d'aspiration par micropipette ou de rhéométrie par magnétisation. Enfin, d'autres paramètres peuvent aussi avoir un rôle fondamental dans l'évaluation expérimentale de la réponse viscoélastique de cellules vivantes, comme par exemple la localisation, le type et l'amplitude de la force qui leur est appliquée.

III – Effet d'échelle de la taille de la sonde comme explication possible des divergences observées dans les résultats expérimentaux obtenus par micromanipulations cellulaires

Les valeurs de module de viscosité cellulaire publiées dans la littérature varient de plusieurs ordres de grandeur (de quelques Pascals-secondes à près de 10^6 Pa.s pour les cellules adhérentes, comme indiqué en figure E4). Pour expliquer une telle diversité de résultats, les raisons suivantes sont généralement avancées : (i) le type cellulaire, (ii) l'état d'adhésion de la cellule, ainsi que (iii) les conditions expérimentales d'étude (mode de chargement, vitesse d'application des forces, etc. Voir encore Partie A, section II-1-1). Selon Valberg et Feldman, une autre cause possible est le diamètre des billes utilisées comme sonde d'investigation expérimentale : en particulier, si la taille de la bille est beaucoup plus petite que la dimension du maillage du réseau de filaments du CSQ, la mesure risque d'être perturbée par les contraintes de cisaillement du fluide environnant (le cytosol) sur la bille [Valberg et coll. 1987]. Récemment, Maksym et collaborateurs ont montré que la valeur mesurée du module d'élasticité cellulaire décroît lorsque la taille de la sonde expérimentale croît, quelle que soit la géométrie de cette dernière (par exemple, une sphère en magnétocytométrie ou un cône en microscopie à force atomique ; voir figure 12 de Maksym et coll. 2000]. Les présents résultats en termes de dépendance des modules d'élasticité et de viscosité cellulaire pourraient ainsi apporter des éléments de réponse pour expliquer cet effet d'échelle de la taille de la sonde sur les propriétés viscoélastiques cellulaires expérimentalement évaluées.

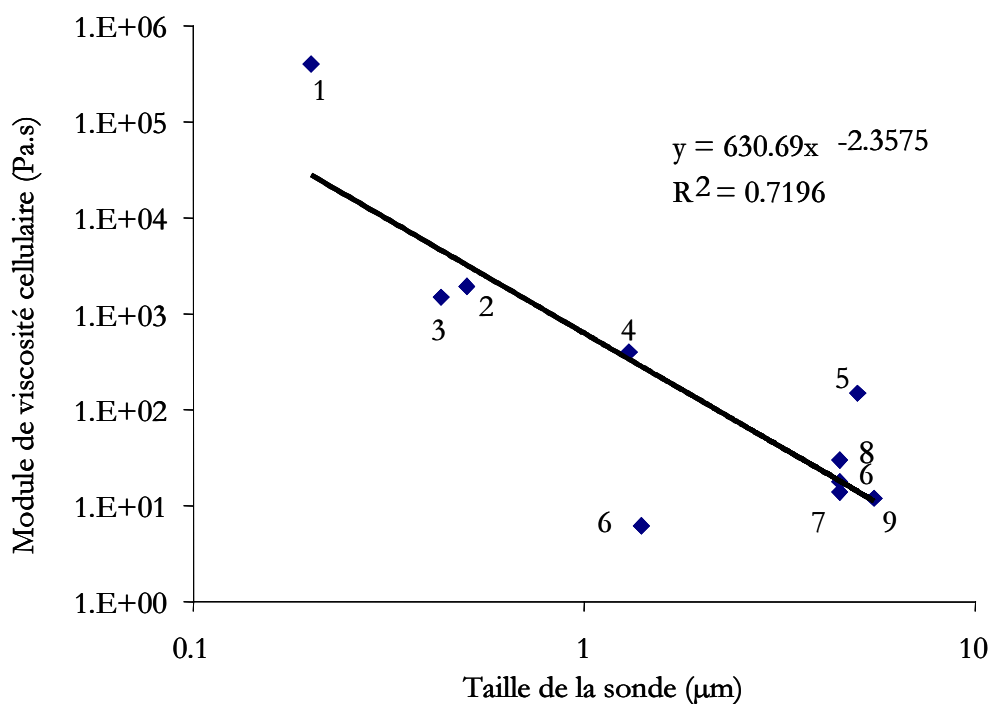


Figure E4 : Graphique regroupant les valeurs de module de viscosité cellulaire (en ordonnées) déterminées sur divers types de cellules adhérentes par différents dispositifs expérimentaux en fonction de la taille de la sonde utilisée. Par ordre numérique : Ragsdale et coll. 1997¹, Valberg et coll. 1985², 1987³, Nemoto 1982⁴, Laurent et coll. 2002a⁵, Wang et coll. 1994⁶, la présente étude⁷ (voir figure E1), Wang 1998⁸, Maksym et coll. 2000⁹.

Dans la figure E4 ci-dessus, sont regroupées sur un même graphique les valeurs de module de viscosité strictement évaluées par des techniques spécifiques du cytosquelette de cellules adhérentes issues de la bibliographie (magnétocytométrie [Wang et coll. 1994⁶ ; Wang 1998⁸ ; Maksym et coll. 2000⁹], rhéométrie par magnétisation [Nemoto 1982⁴ ; Valberg et coll. 1985², 1987³], pinces optiques [Laurent et coll., 2002a⁵] et mesure de la déformation cellulaire par microscopie fluorescente [Ragsdale et coll., 1997¹]) ainsi que le résultat (noté par l'indice 7 dans la figure E4) présent issu de la figure E1, en fonction de la taille de la sonde utilisée. Les valeurs reportées dans ce graphique ont été obtenues sur différents types cellulaires : des fibroblastes (numéro 1 sur la figure E4), des macrophages du poumon (numéros 2 à 4 sur la figure E4) ainsi que des cellules endothéliales (numéros 6 et 8 sur la figure E4), épithéliales

(numéros 5 et 7 sur la figure E4) et musculaires lisses (numéro 9 sur la figure E4). Il apparaît sur cette figure une nette tendance à l'évaluation d'une valeur de module de viscosité cellulaire d'autant plus basse que la taille caractéristique de la sonde expérimentale est grande, quels que soient le banc de mesure utilisé et le type de cellule testée (voir figure E4). En postulant que le diamètre de la bille est représentatif de la dimension de la partie de cytosquelette sollicitée mécaniquement, cet effet d'échelle sur le module de viscosité mesuré peut trouver des éléments d'explication par l'effet d'échelle typique du MTV, en terme de lois puissances déterminées ici : $E^* \propto L^{*-2}$ et $\eta^* \propto L^{*-2}$.

En effet, la présente définition de la longueur normalisée L^* en divisant la longueur variable des éléments par leur rayon constant (voir chapitre B, section IV) est particulièrement adaptée à la considération d'une sous-structure cytosquelettique de taille déterminée. Les deux sous-structures que sont le CSQ cortical et le CSQ cytosolique diffèrent exclusivement dans la longueur de leurs composants, le diamètre des microfilaments (5 nm), des microtubules (30 nm), des filaments intermédiaires (11 nm) ainsi que des fibres de tension (100 nm) restant constant (voir encore les sections I-1 et I-2-1 de la partie A) ; ceci permet ainsi de déterminer une longueur normalisée caractéristique de chaque sous-domaine du cytosquelette. Suivant ce principe, formulé pour une analyse des résultats expérimentaux exposés en figure E4, associant le MTV à une sous-structure du CSQ dont la dimension correspond au diamètre de la bille, il apparaît que l'augmentation (inversement, la diminution) de la taille de la bille peut être prise en compte par l'amplification de la longueur normalisée L^* du MTV.

Dans le but de tenter une estimation mathématique de la dépendance des valeurs expérimentales de viscosité cellulaire données dans le graphique de la figure E4, un lissage de courbe suivant une loi puissance a été effectué. Le coefficient de corrélation calculé se révèle faible ($R^2 \sim 0,72$, figure E4) ce qui indique qu'il faudrait un nombre plus grand de valeurs expérimentales. Toutefois, le but ici est essentiellement de proposer une tendance moyenne concernant des valeurs issues de travaux différant en termes de types de cellules et de conditions

expérimentales. Ainsi, la puissance de la loi montrée en figure E4 (c'est à dire $-2,4$) peut être comparée à celle déterminée pour le MTV (c'est à dire -2), en dépit de la relativement faible corrélation. Similairement, la diminution du module d'élasticité cellulaire mesuré expérimentalement relative à l'augmentation de la taille de la sonde expérimentale (présentée dans la figure 12 de Maksym et coll. 2000) correspond à la dépendance du module d'élasticité en fonction de la longueur normalisée, déterminée pour le présent MTV : $E^* \propto L^{*-2}$.

En résumé, la répercussion de la dimension de la sonde expérimentale sur la mesure des propriétés viscoélastiques des cellules adhérentes, peut trouver un élément d'explication dans l'effet d'échelle spécifiquement observé pour les modèles de tenségrité viscoélastiques ainsi que pour les techniques rentrant dans le champ des sollicitations spécifiques du CSQ ($E^* \propto L^{*-2}$ et $\eta^* \propto L^{*-2}$). Par conséquent, le MTV, développé et mécaniquement caractérisé dans la présente étude, pourrait aboutir sur un modèle unificateur pour l'analyse des différents résultats expérimentaux, obtenus sur divers types cellulaires testés par des techniques de mesure distinctes.

Conclusion générale

La présente étude a permis d'élaborer un modèle mathématique et mécanique d'une structure de tenségrité viscoélastique à 30 éléments, visant à caractériser la contribution structurale et temporelle des éléments du cytosquelette dans la réponse mécanique des cellules adhérentes. Ce nouveau modèle étend au domaine temporel (ou fréquentiel) l'étude des modèles de tenségrité jusqu'alors limitée aux conditions purement élastiques (Stamenovic de Boston University (groupe de Harvard) et S. Wendling (notre groupe de l'Université Paris 12)). Cette modification du modèle est importante si l'on considère que de nombreux phénomènes physiologiques et physiopathologiques, prenant naissance au niveau cellulaire, dépendent de façon critique du caractère temporel et spatial de la structure cellulaire, qui semble fortement intriqué avec les processus moléculaires. Cette étude considère, à l'instar des travaux antérieurs effectués sur des structures purement élastiques, que la contribution de la redistribution spatiale des éléments au comportement mécanique global de la cellule adhérente est essentielle à sa fonction biologique. Ainsi, il est notoire que la plupart des grandes fonctions cellulaires impliquent des processus actifs et synchronisés pour lesquels le rôle des facteurs mécaniques reste à préciser : la locomotion cellulaire met en jeu des processus d'attachement et de détachement au niveau des points d'adhérence associé à un remodelage continu du cytosquelette dans lequel le réarrangement spatial des éléments joue un rôle fondamental bien que mal connu. La mécanotransduction, qui implique la transmission sélective des informations depuis le microenvironnement cellulaire jusqu'au noyau via les mécanorécepteurs transmembranaires et le cytosquelette, met en jeu l'organisation spatiale des polymères du cytosquelette. Sur le plan de la pathologie pulmonaire, l'asthme par exemple se caractérise comme une hypersensibilité des voies aériennes dont l'effet visible est un rétrécissement excessif et brutal des petites bronches mais dont les mécanismes ne sont pas connus. Le couplage actine-myosine des cellules musculaires

lisses (CML) de ces bronches serait profondément perturbé entraînant un remodelage (plasticité) important dans l'architecture du cytosquelette des CML. D'une façon générale, l'étude de la dynamique et de la réactivité des assemblages biologiques est en passe de concentrer les efforts de recherche de nombreuses équipes, à l'interface des domaines de la physique, de la mécanique, de la chimie et de la biologie. Dans ce cadre, le présent modèle de description du réarrangement spatial peut être vu comme une contribution à un modèle plus vaste de la réponse dynamique des assemblages biologiques. La normalisation des lois de comportement viscoélastique du modèle de tensegrité, telle que réalisée dans ce travail, tout en s'inscrivant dans la continuité des travaux du groupe, permet d'envisager la transposition des résultats aux différentes échelles où ont lieu les divers processus biomécaniques.

Le modèle de tensegrité utilisé ici est basé sur le réarrangement spatial d'éléments viscoélastiques prétendus, en auto-équilibre avec des éléments quasi-rigides en compression. La nouveauté du modèle réside dans la prise en compte du caractère viscoélastique des éléments conduisant à l'introduction, dans l'équation générale (matricielle) du système, d'une matrice d'amortissement global (représentant les propriétés visqueuses des éléments et associée au vecteur des vitesses de déplacement des nœuds de la structure) en complément de la matrice de rigidité (représentant les propriétés élastiques des éléments et associée au déplacement des nœuds). Comme précédemment, la démarche numérique s'imposait vu la difficulté de construire ce genre de structure et surtout d'en faire varier les paramètres essentiels. A la liste des similitudes comportementales déjà observées entre les structures de tensegrité et les modèles cellulaires, à savoir : (i) une structure tridimensionnelle constituée de différents types d'éléments, véritable charpente déformable conférant ses propriétés mécaniques et sa forme à la structure cellulaire par la réorganisation spatiale des éléments constitutifs, (ii) l'auto équilibre interne entre des forces de tension et des efforts de compression conférant la tension interne, (iii) l'adaptation à la contrainte induite par le réarrangement spatial (les propriétés des éléments sont constantes et identiques) et (iv) le rôle des éléments des points de liaison au substrat. Résultat tout à fait important, le modèle

de ténacité viscoélastique (MTV) révèle de nouvelles similitudes entre les structures de ténacité et le comportement cellulaire.

De grandes similarités ont été observées entre les résultats issus des simulations effectuées sur le MTV et ceux expérimentalement obtenus sur des cultures de cellules testées par des techniques de micromanipulation spécifiques du CSQ. Ainsi, la présente étude a permis d'affiner le rôle de la tension interne et de la réorganisation structurale des filaments cytosquelettiques dans la réponse viscoélastique cellulaire. En outre, il a été montré pour la première fois de fortes correspondances dans les réponses mécaniques des modèles de ténacité, d'une part, et des cellules testées expérimentalement, d'autre part, en termes de relation entre les propriétés viscoélastiques mesurées et la fréquence de chargement. Il a ainsi été possible d'établir pour la première fois la part significative d'une origine structurale et d'une nature solide (matérielle) dans la réponse viscoélastique de la cellule vivante.

Au delà de ces questions fondamentales portant sur les mécanismes qui régissent la réponse viscoélastique cellulaire, le présent MTV apporte encore des éléments de réponse pour expliquer les divergences observées dans les valeurs des propriétés viscoélastiques mesurées expérimentalement sur cellules en culture. En effet, le lien établi ici entre la taille de la sonde expérimentale utilisée sur la valeur des modules d'élasticité et de viscosité cellulaires pourrait trouver une explication dans l'effet d'échelle typique des MTV. De ce fait, et dans l'hypothèse où un tel effet d'échelle de la taille de la sonde sur la mesure des propriétés viscoélastiques de cellules testées expérimentalement serait vérifié, le présent MTV pourrait servir de base à un modèle de mécanique cellulaire unificateur.

Toutefois, dans une telle optique, il subsiste encore un certain nombre d'évolutions à apporter au présent modèle de ténacité viscoélastique. En effet, le MTV a été développé ici sans tenir compte de certaines propriétés mécaniques comme la plasticité possible de filaments du

CSQ et leur endommagement consécutivement à l'application de forces de grande intensité, ainsi que le possible remodelage du CSQ ou de certaines parties du CSQ, qui pourraient expliquer le côté partiel du recouvrement observé en magnétocytométrie [Laurent et coll. 2000, 2002a]. De plus, les lois de comportement utilisées ici peuvent sembler « trop » simplistes au regard de la réalité biologique ; l'intégration de lois de comportement non linéaires (hyper viscoélasticité de type « Pioletti » [Pioletti et coll. 1995, 1998], considération du flambement possible des microtubules et/ou des fibres de tension [Brodland et coll. 1990 ; Kurachi et coll. 1995 ; Coughlin et coll. 1997 ; Costa et coll. 2002]), par exemple, pourrait être envisagée.

De même, le présent MTV, construit à partir de l'assemblage de 30 éléments, reste architecturalement et structurellement quelque peu éloigné de la réalité biologique. En effet, le présent MTV ne prend pas en compte les filaments intermédiaires et ne peut, de fait, servir à l'analyse de leur rôle dans le comportement mécanique cellulaire global. En outre, il faudrait dans une perspective de développements supplémentaires du MTV, respecter aussi les densités cytoplasmiques des trois types de composants du CSQ ainsi que l'organisation architecturale multi compartimentée des différents sous-réseaux qui le forment. De même, le présent MTV s'avère trop « statique » au regard des processus dynamiques biologiques observés, tels que le remodelage cytosquelettique qui passe par des changements en termes de connectivités moléculaires des filaments du cytosquelette et dont les temps caractéristiques restent à prendre en compte par le modèle.

Par ailleurs, les présentes conditions d'étude (aussi bien numériquement qu'expérimentalement) sont, elles aussi, assez éloignées de la réalité : des expérimentations ainsi que des simulations où seraient appliqués des efforts mécaniques plus réalistes pourraient permettre d'aboutir à des analyses de la réponse mécanique cellulaire ainsi qu'à des prédictions sur cette réponse plus proches de la réalité physiologique.

Plus généralement, dans le but de se rapprocher davantage de la réalité biologique de la cellule adhérente et de permettre ainsi une analyse plus fine de la réponse mécanique cellulaire et des mécanismes qui la gouvernent, un modèle plus complexe basé sur le présent MTV pourrait aussi prendre en compte les interrelations mécaniques du cytosquelette avec d'autres éléments comme le noyau, la membrane cellulaire, la phase fluide du cytoplasme (le cytosol) ou encore le couplage actine–myosine (véritables moteurs moléculaires de la cellule) et leur organisation architecturale au sein du cytoplasme, qui représentent tout autant d'éléments qui pourraient avoir un rôle dans la réponse mécanique cellulaire, ce qui reste toutefois à documenter davantage.

Publications:

- Articles:

CAÑADAS P., LAURENT V.M., ODDOU C., ISABEY D. and WENDLING S. A Cellular Tensegrity Model to Analyze the Structural Viscoelasticity of the Cytoskeleton. *Journal of Theoretical Biology*, 2002, **218**: 155-173.

LAURENT V.M., CAÑADAS P., PLANUS E., FODIL R., ASNACIOS A., WENDLING S. and ISABEY D. Tensegrity Behavior of Cortical and Cytosolic Cytoskeletal Components in Twisted Living Adherent Cells. *Acta Biotheoretica*, 2002, **50(4)**: 331-356.

LAURENT V.M., FODIL R., CAÑADAS P., PLANUS E. and ISABEY D. Specific Mechanical Responses of Cortical and Cytosolic Cytoskeleton in Living Adherent Cells. *JSME International Journal*, 2002, series C, **45(4)**: 897-905.

WENDLING S., CAÑADAS P., ODDOU C. and MEUNIER A. Interrelations Between Elastic Energy and Strain in a Tensegrity Model; Contribution to the Analysis of the Mechanical Response in Living Cells. *Computer Method in Biomechanics and Biomedical Engineering*, 2002, **5(1)**: 1-6.

WENDLING S., CAÑADAS P. and CHABRAND P. Toward a generalized tensegrity model describing the mechanical behavior of the cytoskeleton structure. *Computer Methods in Biomechanics and Biomedical Engineering*, 2003, **1**: 1-8.

- Congrès:

CAÑADAS P., ISABEY D., ODDOU C. and WENDLING S. (2000). Time Response of a Viscoelastic Tensegrity Model to Approach Cell Dynamical Response, *XXV^{ème} Congrès de la Société de Biomécanique et XI^{ème} Congrès de la Société Canadienne de Biomécanique* (SB-SCB, ed.), Vol. **108(1)**: 170. *Arch. Physiol. Biochem.* (Swets & Zeitlinger), Montréal (Québec, Canada).

ODDOU C., WENDLING S., CAÑADAS P. and GEIGER D. (1999). Biomechanics of Cell Mechanosensors and Tissue Transduction, *Lecture notes of the ICB seminars on Biomechanics of musculoskeletal system and medical robotics* (K. Kedzior & A. Morecki Eds) pp. 209–218. *Polish Academy of Sciences & International Centre of Biocybernetics Publications*, Warsaw (Poland).

ODDOU C., CAÑADAS P., ISABEY D. and WENDLING S. (2000). A Critical Review of Cell Rheological Data, *The Second China-France-Denmark Symposium on Biomechanics and Biorheology*. Shanghai (China).

WENDLING S., CAÑADAS P., LAURENT V.M., PLANUS E., FODIL R., ODDOU C. and ISABEY D. (2000). Tensegrity model to describe the coupling between elastic energy and deformation of cells twisted by magnetic probes, *XXV^{ème} Congrès de la Société de Biomécanique et XI^{ème} Congrès de la Société Canadienne de Biomécanique* (SB-SCB, ed.), **108(1)**: 9. *Arch. Physiol. Biochem.* (Swets & Zeitlinger), Montréal (Québec, Canada).

WENDLING S., CAÑADAS P., MEUNIER A. and ODDOU C. (2000). Couplages entre énergie mécanique de déformation, formes et fonctions de la cellule soumise à des contraintes variées, *Proceedings of the Conference Mécanotransduction 2000*, (GAMAC, TEC & DOC ed.), pp 137-148. *Matériaux et Structures des sciences de l'ingénieur et du vivant*, Paris (France).

CAÑADAS P., WENDLING S., PLANUS E., LAURENT V.M., FODIL R., ASNACIOS A., ODDOU C. and ISABEY D. (2001). Apport des modèles de tensegrité en mécanique cellulaire, *XXI^{ème} Séminaire de la Société Française de Biologie Théorique* (14 juin 2001), Paris (France).

CAÑADAS P., ISABEY D., ODDOU C. and WENDLING S. (2001). Scale Effect and Internal Tension Dependence of a Viscoelastic Tensegrity Structure : a Model of Cytoskeleton Dynamic Response, *XXVI^{ème} Congrès de la Société de Biomécanique* (S. d. Biomécanique, ed.), **109:106**. Arch. Physiol. Biochem.(Swets & Zeitlinger), Marseille (France).

CAÑADAS P., ODDOU C., ISABEY D. and WENDLING S. (2001). Viscoelasticity properties of a tensegrity model; application to dynamical response of living cells, *5th International Conference on Cellular Engineering. Proceedings*. Aachen (Germany).

VILLAUTREIX M., CAÑADAS P., CHABRAND P. and WENDLING S. (2001). General Relationships Between Shape, Stiffness and Internal Tension of Tensegrity Structures; Contribution to the Analysis of the Mechanical Response of Living Cells, *5th International Symposium of Computer Method in Biomechanical and Biomedical Engineering*. Roma (Italy).

WENDLING S., CAÑADAS P., LAURENT V.M., PLANUS E., FODIL R., CHABRAND P., ISABEY D. (2002). Increasing Number of Interconnected Elements in Tensegrity Models Induces a Structural Softening Consistent with Cortical Cytoskeleton Function. *IVth World Congress of Biomechanics*, Calgary (Canada).

CAÑADAS P., LAURENT V.M., FODIL R., PLANUS E., WENDLING S. and ISABEY D. (2002). Assessment of Structural Viscoelasticity of Cytoskeleton by Tensegrity Model. *IVth World Congress of Biomechanics*, Calgary (Canada).

FODIL R., LAURENT V.M., CAÑADAS P., PLANUS E. and ISABEY D. (2002). Actin Structure and Mechanical Properties of Cortical and Cytosolic Cytoskeleton in Twisted Living Adherent Cells. *XXVII^{ème} Congrès de la Société de Biomécanique*, Valenciennes (France).

- Soumissions

CAÑADAS P., LAURENT V.M., CHABRAND P., ISABEY D. and WENDLING-MANSUY S. (Soumis 01/2003). Mechanisms Governing the Viscoelastic Responses of Living Cells Assessed by Foam and Tensegrity Models. *Medical & Biological Engineering & Computing*. Soumis le 24/01/2003 – Version corrigée soumise le 26/06/2003.

ANNEXE A1 – Élément rhéologique de type « Voigt »

I – Définition du modèle rhéologique dit de « Voigt »

Soit un élément unidimensionnel selon le modèle de « Voigt » (un élément élastique représentant un module d'élasticité E en parallèle avec un amortisseur représentant un module de viscosité η) comme indiqué sur le schéma ci-dessous (figure A1-1) :

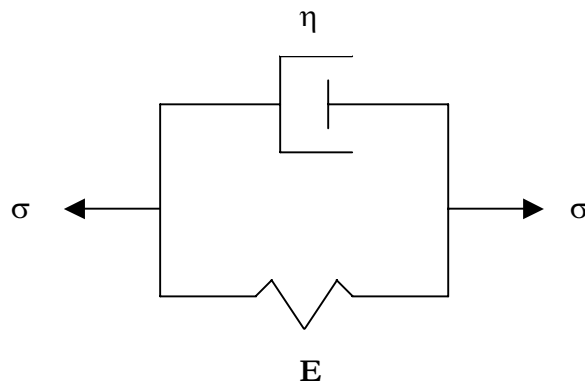


Figure A1-1 : Représentation schématique par analogie avec les circuits électriques du modèle rhéologique de solide viscoélastique de type Voigt.

Sa loi de comportement est :

$$\sigma = E \varepsilon + \eta \dot{\varepsilon} \quad (\text{A1-1})$$

Ce modèle rhéologique, donc unidimensionnel, peut servir de base à un modèle de milieu continu isotrope tridimensionnel possédant la même loi de comportement. Ceci se traduit alors, en termes de force – déplacement, par :

$$\mathbf{F} = \mathbf{K} \mathbf{U} (t) + \mathbf{C} \dot{\mathbf{U}} (t) \quad (\text{A1-2})$$

Avec :

$\mathbf{F} = \mathbf{S}_0 \cdot \sigma$ où \mathbf{S}_0 est la section constante de l'élément et \mathbf{F} la force appliquée correspondant à la contrainte σ ,

$\mathbf{K} = (\mathbf{E}\mathbf{S}_0)/\mathbf{L}_0$ où \mathbf{L}_0 est la longueur initiale de l'élément et \mathbf{K} est la « matrice » de rigidité de l'élément, associée au module d'élasticité \mathbf{E} ,

$\mathbf{C} = (\eta\mathbf{S}_0)/\mathbf{L}_0$ où \mathbf{C} est la « matrice » d'amortissement de l'élément, associée au module de viscosité η ,

$\varepsilon = \Delta\mathbf{L}/\mathbf{L}_0 = (\mathbf{L} - \mathbf{L}_0)/\mathbf{L}_0 = \mathbf{U}/\mathbf{L}_0$ où \mathbf{L} est la longueur « actuelle » et \mathbf{U} représente le déplacement auquel est associée la déformation ε .

II – Cas où \mathbf{F} est une force constante au cours du temps (test de fluage)

On applique une force constante \mathbf{F} (ou une contrainte constante σ) et on observe comment réagit le système considéré en termes de déplacement \mathbf{U} (ou de déformation ε) en fonction du temps t . Dans ce cas, l'équation (A1-2) est donc une équation différentielle du 1^{er} ordre à second terme constant. Ainsi, la solution $\mathbf{U}(t)$ de cette équation (A1-2) s'écrit :

$$\mathbf{U} (t) = \frac{\mathbf{F}}{\mathbf{K}} \left(1 - e^{-\frac{t}{\tau}} \right) + \mathbf{U}_0 \quad (\text{A1-3})$$

Avec la constante de temps du système mécanique considéré τ donnée par :

$$\tau = \frac{\eta}{E} \quad (\text{A1-4})$$

U_0 est une constante d'intégration et si l'on considère qu'à l'instant initial $t=0$ le déplacement était nul ($U(t=0) = 0 = U_0$) alors l'équation (A1-3) se réduit à :

$$U(t) = \frac{F}{K} \left(1 - e^{-\frac{t}{\tau}} \right) \quad (\text{A1-5})$$

La représentation graphique de cette dernière équation (A1-5) est :

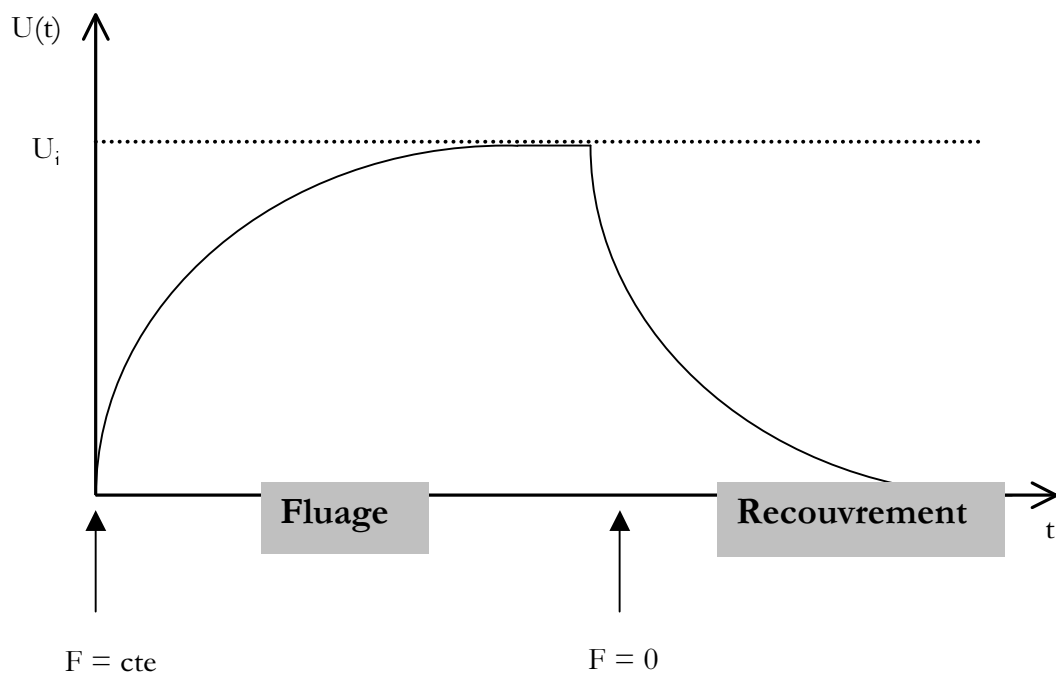


Figure A1-2 : Représentation graphique du déplacement (U) en fonction du temps (t) pour un test de fluage appliqué à un solide viscoélastique de type Voigt (équation A1-5). U_i marque la limite vers laquelle converge le déplacement $U(t)$ quand t tend vers l'infini et correspond à la solution du problème purement élastique équivalent (étude en statique).

Lorsque l'on applique la force constante F_i le système se met à réagir (déplacement) ; toutefois, le déplacement observé $U(t)$ montre un retard dans le temps dans la réponse mécanique du système soumis à ce type d'effort. Ce retard exprime les effets visqueux représentés par la constante de temps τ – elle-même reliée à l'amortissement C (qui est fonction du module de viscosité η) comme indiqué par la relation (A1-4) – et est à relier à la vitesse de déplacement (déformation) $\dot{U}(t)$. En pratique, la constante de temps τ est l'abscisse (donc le temps) du point d'intersection entre l'asymptote à l'origine et l'asymptote à l'infini ($U(t=\infty) = U_i$) de la courbe $U=U(t)$. En effet, la solution en déplacement converge vers une valeur finie U_i lorsque le temps t tend vers l'infini, correspondant à la solution du problème équivalent en élasticité pure linéaire ($F_i=KU_i$) c'est à dire lorsque la vitesse de déplacement est nulle (Equation A1-5). De même, la pente de l'asymptote à l'origine indique la vitesse initiale de réaction du système, donc l'importance plus ou moins grande des effets visqueux dans la réponse mécanique à la force appliquée. Plus la pente est petite, plus la vitesse est petite, plus le système tarde à réagir et plus les effets visqueux sont prédominants. A l'inverse, plus cette pente est grande, plus la vitesse est grande et moins ces effets visqueux sont importants, ou autrement dit, plus le système réagit vite plus il a une réponse mécanique se rapprochant du cas purement élastique. L'expression de la vitesse de déplacement (ou de déformation) en fonction du temps est alors (en remarquant que l'on a pour un « élément Voigt » $\tau = \frac{\eta}{E} \equiv \frac{C}{K}$) :

$$\dot{U}(t) = \frac{F}{C} e^{-\frac{t}{\tau}} \quad (A1-6)$$

Dont la représentation graphique est :

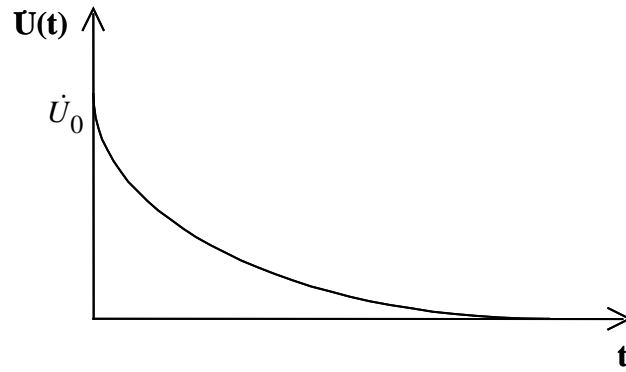


Figure A1-3 : Représentation graphique de la vitesse de déplacement (\dot{U}) en fonction du temps t . \dot{U}_0 correspond à la vitesse à l'origine est correspond au rapport F/C (voir équation A1-6).

Ainsi, par un simple essai de fluage, il est possible de déterminer une constante de temps τ et un module d'élasticité E ; par suite il vient le module de viscosité η .

III – Cas où F est une force fonction du temps (caractérisation en fréquence)

III-1 – Cas général

L'équation (A1-2) s'écrit, dans le cas d'une force dépendant du temps :

$$F(t) = K U(t) + C \dot{U}(t) \quad (A1-7)$$

C'est une équation différentielle du premier ordre à second membre non constant. Cette équation s'écrit aussi sous la forme suivante :

$$\left\{ \begin{array}{l} \dot{U}(t) = \frac{F(t)}{C} - \frac{K}{C} U(t) \equiv G(t) - \frac{1}{\tau} U(t) \\ \text{avec } G(t) = \frac{F(t)}{C} \text{ et } \tau = \frac{\eta}{E} \equiv \frac{C}{K} \end{array} \right. \quad (\text{A1-8})$$

La solution générale du problème (A1-8) est alors :

$$U(t) = e^{-\frac{t}{\tau}} \cdot \left[\int_0^t \left(e^{+\frac{s}{\tau}} \cdot G(s) ds \right) + U_0 \right] \quad (\text{A1-9})$$

Où U_0 est une constante d'intégration qui, comme pour le cas de l'équation différentielle à second membre constant du paragraphe précédent, est nulle si l'on considère que le déplacement est nul à l'instant initial ($U_0 = U(t=0) = 0$). Ainsi, en revenant à l'écriture initiale du problème et dans l'hypothèse $U_0 = 0$, on a :

$$U(t) = \frac{e^{-\frac{t}{\tau}}}{C} \cdot \int_0^t \left(e^{+\frac{s}{\tau}} \cdot F(s) ds \right) \quad (\text{A1-10})$$

C'est la solution analytique générale de l'équation (A1-7). Il est à remarquer que, si la force appliquée est constante, il est immédiat, à partir de l'équation (A1-10), d'obtenir de nouveau la formulation (A1-2) du paragraphe précédent.

III-2 – Autre écriture de la solution du problème en vue d'une généralisation pour le cas particulier de forces fonctions trigonométriques du temps

Soient l'équation générale (A1-10) et $\mathbf{I}(t)$ son terme intégrale :

$$\mathbf{I}(t) = \int_0^t e^{\frac{s}{\tau}} \cdot \mathbf{F}(s) ds \quad (\text{A1-11})$$

En procédant à une première intégration par parties, on obtient après simplifications :

$$\mathbf{I}(t) = \left(\tau e^{\frac{t}{\tau}} \mathbf{F}(t) - \tau \mathbf{F}(0) \right) - \tau \int_0^t e^{\frac{s}{\tau}} \cdot \mathbf{F}'(s) ds \quad (\text{A1-12})$$

De même, soit $\mathbf{J}(t)$ le membre « intégrale » de l'équation (A1-12) ; en intégrant de nouveau par parties il vient :

$$\mathbf{J}(t) = \left(\tau e^{\frac{t}{\tau}} \mathbf{F}'(t) - \tau \mathbf{F}'(0) \right) - \tau \int_0^t e^{\frac{s}{\tau}} \cdot \mathbf{F}''(s) ds \quad (\text{A1-13})$$

Ainsi, en injectant (A1-13) dans l'équation (A1-12) on a :

$$\mathbf{I}(t) = \tau \left[e^{\frac{t}{\tau}} (\mathbf{F}(t) - \tau \mathbf{F}'(t)) + (\tau \mathbf{F}'(0) - \mathbf{F}(0)) + \tau \int_0^t e^{\frac{s}{\tau}} \cdot \mathbf{F}''(s) ds \right] \quad (\text{A1-14})$$

Cette écriture apparaît à première vue beaucoup moins « judicieuse » que celle proposée à travers l'équation (A1-10). Toutefois, elle permet d'obtenir une commodité de calculs nettement supérieure dans des cas très précis des forces-fonctions sinusoïdales et exponentielles du temps t .

En effet, dans ces cas existent des relations remarquables entre la fonction proprement dite et ses dérivées premières et secondes, comme explicité au paragraphe suivant.

III-3 – Cas où la force est une sinusoïde

Soit un élément « Voigt » sollicité mécaniquement par une force extérieure $F(t)$ sinusoïdale, d'amplitude et fréquence contrôlées :

$$F(t) = F_0 \sin(\omega t) \equiv F_0 \sin(2\pi f t) \quad (A1-15)$$

Avec la pulsation ω de sollicitation liée à la fréquence de sollicitation f par la relation $\omega = 2\pi f$.

Ainsi, on peut écrire les égalités suivantes :

$$\begin{cases} F(t) = F_0 \sin(\omega t) \\ F'(t) = \omega F_0 \cos(\omega t) \equiv \omega F\left(t + \frac{\pi}{2\omega}\right) \\ F''(t) = -\omega^2 F_0 \sin(\omega t) \equiv -\omega^2 F(t) \end{cases} \quad (A1-16)$$

Donc, en remplaçant dans (A1-14) l'expression de la dérivée seconde de $F(t)$ ci-dessus, il vient :

$$I(t) = \tau \left[e^{\frac{t}{\tau}} (F(t) - \tau F'(t)) + (\tau F'(0) - F(0)) - \omega^2 \tau I(t) \right] \quad (A1-17)$$

Soit :

$$I(t) = \frac{\tau \left[e^{\frac{t}{\tau}} (F(t) - \tau F'(t)) + (\tau F'(0) - F(0)) \right]}{1 + (\tau \omega)^2} \quad (A1-18)$$

Ou encore, en posant : $h = \tau \times \omega$:

$$I(t) = \frac{\tau F_0 \left[e^{\frac{t}{\tau}} (\sin(\omega t) - h \cos(\omega t)) + h \right]}{1 + h^2} \quad (A1-19)$$

D'où l'expression finale du déplacement en fonction du temps :

$$U(t) = \frac{e^{-\frac{t}{\tau}} F_0 \left[e^{\frac{t}{\tau}} (\sin(\omega t) - h \cos(\omega t)) + h \right]}{C (1 + h^2)} \quad (A1-20)$$

La représentation graphique de (A1-20) est montrée ci-dessous avec un choix arbitraire de fréquences variant entre 0,001 et 10 Hz :

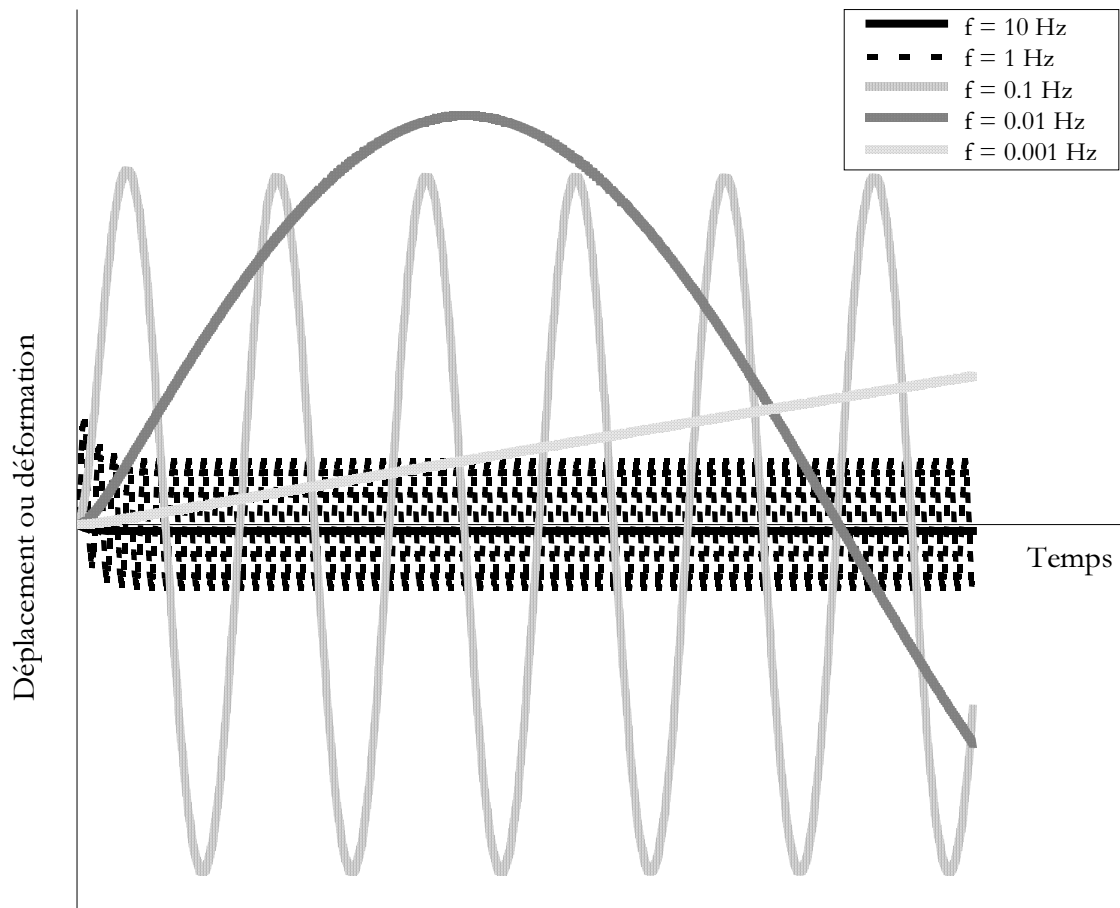


Figure A1-4 : Représentation graphiques du déplacement (ou de la déformation) subit par un solide viscoélastique de type Voigt, soumis à des oscillations imposées à différentes fréquences.

La figure (A1-4) ci-dessus montre que l'amplitude des oscillations dépend de la fréquence imposée : plus cette dernière est grande, plus l'amplitude maximale d'oscillations est petite, l'augmentation de la fréquence imposée ayant donc pour effet de « rigidifier » en apparence le solide de Voigt. Ceci s'explique par le fait que la vitesse de chargement influe considérablement la mesure des propriétés viscoélastiques d'un tel solide. En particulier, il existe une fréquence préférentielle (f_p) autour de laquelle un élément Voigt exprime complètement ses propriétés viscoélastiques. Si la fréquence imposée, donc la vitesse du chargement appliqué, est plus grande que cette fréquence particulière, le solide n'a pas le temps de dissiper toute son énergie au cours de sa déformation à chaque cycle, ce qui a pour effet de rendre le solide en apparence plus

« rigide » que ce qu'il paraît lors d'un test de fluage. Ceci est donc du au fait qu'il n'a pas eu le temps d'exprimer la totalité de ses propriétés viscoélastiques. A l'inverse, si la fréquence imposée, donc la vitesse du chargement appliqué, est plus petite que la fréquence préférentielle du solide viscoélastique, alors à chaque instant celui-ci aura dissipé toute l'énergie nécessaire pour arriver à l'équilibre. Ainsi, à chaque moment, le solide de Voigt a exprimé la totalité de ses propriétés viscoélastiques (en particulier les effets dissipatifs), toutefois le chemin de cette dissipation est inaccessible. Pour pouvoir étudier la réponse mécanique d'un tel solide tout en lui permettant d'exprimer au mieux ses propriétés viscoélastiques, il faut lui appliquer un chargement dont la vitesse soit proche de la propre vitesse de réponse mécanique du système étudié. Cette dernière est indiquée par la constante de temps du solide de Voigt, l'inverse de celle-ci correspondant précisément à sa fréquence préférentielle (f_p).

Il est à noter que, dans l'expression (A1-20), est mis en valeur le terme adimensionnel h appelé par Fredberg et Stamenovic *hystérésivité* [Fredberg et coll. 1989] et qui semble définir une propriété particulière pour les milieux biologiques (voir annexe A6).

III-4 – Formulation différente : dans le domaine fréquentiel

Pour la résolution du problème décrit par l'équation (A1-7) il est possible de procéder de façon différente, en se plaçant dans le domaine fréquentiel du régime « permanent » (en particulier si l'on ne désire pas analyser les effets inertiels). L'avantage est que la résolution du problème s'en trouve simplifiée dans sa formulation. C'est cette formulation qui a ainsi été utilisée pour déterminer les paramètres inconnus (module d'élasticité et constante de temps et, par suite, module de viscosité, globaux apparents du MTV).

1) Cas de forces sinusoïdales imposées

Le problème est :

$$F(t) = K U(t) + C \dot{U}(t) \quad (\text{A1-21})$$

Avec :

$$F(t) = F_0 \sin(\omega t) \equiv F_0 \sin(2\pi f t) \quad (\text{A1-22})$$

Cette fois, le déplacement et la vitesse associée s'écrivent :

$$\begin{cases} U(t) = U_s \sin(\omega t) + U_c \cos(\omega t) \\ \dot{U}(t) = \omega U_s \cos(\omega t) - \omega U_c \sin(\omega t) \end{cases} \quad (\text{A1-23})$$

Ainsi, en remplaçant $U(t)$ et $\dot{U}(t)$ dans (A1-7) par leur expression ci-dessus il est possible d'identifier les deux paramètres U_s et U_c :

$$\begin{cases} U_s = \frac{F_0}{K(1+h^2)} \\ U_c = -\frac{h F_0}{K(1+h^2)} \end{cases} \quad (\text{A1-24})$$

Il est ainsi possible de déterminer le déplacement $U(t)$ – ainsi que la vitesse qui lui est associée $\dot{U}(t)$ – de façon plus simple que par le calcul de la solution analytique du paragraphe précédent.

Par ailleurs, il est encore à noter que l'hystérésité h est proportionnelle au rapport de U_c par U_s :

$$h = -\frac{U_c}{U_s} \quad (\text{A1-25})$$

Ceci correspond donc bien au rapport entre le terme déphasé et celui en phase avec le signal originel (force sinusoïdale) imposé à l'élément « Voigt » considéré, c'est à dire au rapport entre énergie dissipée (associée à la viscosité) et énergie stockée (associée à l'élasticité).

2) Cas de déplacements sinusoïdaux imposés

Dans ce cas le déplacement et la vitesse sont définis de la façon suivante :

$$U(t) = U_0 \sin(\omega t) \quad (\text{A1-26})$$

et

$$\dot{U}(t) = \omega U_0 \cos(\omega t) \quad (\text{A1-27})$$

De façon similaire à la méthode utilisée ci-dessus, la force correspondante est donnée par :

$$F(t) = F_s \sin(\omega t) + F_c \cos(\omega t) \quad (\text{A1-28})$$

Ainsi, en procédant à une identification paramétrique on obtient :

$$\begin{cases} F_s = K U_0 \\ F_c = \omega C U_0 \end{cases} \quad (\text{A1-29})$$

Il est à noter, dans ce cas, que le nombre adimensionnel h est alors donné par :

$$h = \frac{F_c}{F_s} \equiv \omega \frac{C}{K} \equiv \omega \frac{\eta}{E} \equiv \omega \tau \quad (\text{A1-30})$$

Où l'on retrouve de nouveau cette notion de rapport entre « élément déphasé » et « élément en phase » correspondant au rapport entre effets dissipatifs dus à la viscosité et les effets élastiques d'énergie de déformation stockée en cours de sollicitation du modèle de « Voigt ». Enfin, pour un solide viscoélastique (selon Voigt) possédant une constante de temps τ unique, l'hystérésivité définie par l'équation (A1-30) augmente donc linéairement avec la fréquence, suivant le facteur de proportionnalité $2\pi\tau$ ($\omega = 2 \cdot \pi \cdot f$).

ANNEXE A2 – Etablissement du modèle mathématique pour la résolution de la solution analytique en fluage

Soit un élément \mathbf{p} comme indiqué sur la figure ci-dessous (d'après Argyris et coll. 1972) :

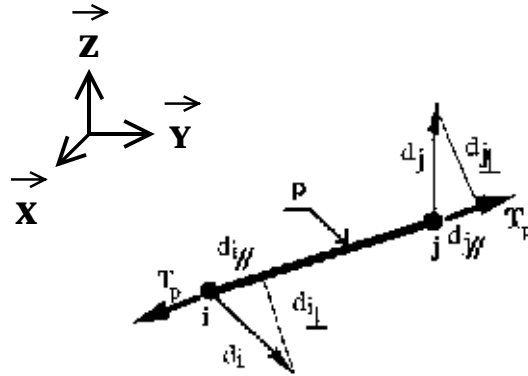


Figure A2-1 : Déplacements et forces de précontrainte pour un élément \mathbf{p} dans une base fixe $\{\mathbf{X}, \mathbf{Y}, \mathbf{Z}\}$.

La position de cet élément est définie dans la base $\{\mathbf{X}, \mathbf{Y}, \mathbf{Z}\}$ par le vecteur :

$$\{\mathbf{x}\} = \{x_i, y_i, z_i, x_j, y_j, z_j\}; \text{ dimension } (1 \times 6) \quad (\text{A2-1})$$

dans lequel $\{x_i, y_i, z_i\}$ et $\{x_j, y_j, z_j\}$ représentent les coordonnées des nœuds i et j indiqués sur la figure ci-dessus. Le positionnement de l'élément \mathbf{p} est donné par les cosinus directeurs dont le vecteur est :

$$\{\mathbf{c}\} = \frac{1}{l_p} \begin{Bmatrix} x_j - x_i \\ y_j - y_i \\ z_j - z_i \end{Bmatrix} = \frac{1}{l_p} \begin{Bmatrix} c_x \\ c_y \\ c_z \end{Bmatrix}; \text{ avec } l_p \text{ la longueur de l'élément } \mathbf{p}. \quad (\text{A2-2})$$

L'équilibre de l'élément câble est défini par la résolution des 3 équations suivantes :

Equation d'équilibre de l'élément :

$$\{F\} = [A] t_c \quad (A2-3)$$

avec $[A] = \begin{bmatrix} -\{c\} \\ \{c\} \end{bmatrix}$: la matrice d'équilibre du câble de dimension (6×1)

$\{F\}$: le vecteur des forces extérieures appliquées (6×1)

t_c : la tension interne de l'élément.

Equation de compatibilité (Hypothèse des petits déplacements) :

$$e_c = [A] \{d\} \quad (A2-4)$$

avec e_c : la variation de longueur de l'élément

$\{d\} = \{dx_i, dy_i, dz_i, dx_j, dy_j, dz_j\}$: le vecteur (1×6) des déplacements des nœuds.

Loi de comportement mécanique de l'élément :

$$F = \frac{(ES)_c}{l_c} e_c + \frac{(\eta S)_c}{l_c} \dot{e}_c \quad (A2-5)$$

Par combinaison de ces trois équations il est obtenu pour l'élément câble :

$$\{F\} = \frac{(ES)_c}{l_c} [A] \{d\} + \frac{(\eta S)_c}{l_c} [A] \{\dot{d}\} \quad (A2-6)$$

Deux matrices de rigidité sont alors définies pour chaque câble :

- une matrice de rigidité élastique $[K_E]_t$ qui dépend des propriétés mécaniques et géométriques de l'élément ainsi que de sa position dans l'espace donnée par son vecteur des cosinus directeurs :

$$[K_E]_t = \frac{E_c \cdot S_c}{l_c} \begin{bmatrix} \{c\} \{c\}^t - \{c\} \{c\}^t & \\ -\{c\} \{c\}^t & \{c\} \{c\}^t \end{bmatrix} \quad (A2-7)$$

- une matrice de rigidité géométrique, qui dépend des forces de précontrainte T_c de l'élément et de son vecteur des cosinus directeurs :

$$[K_G]_t = \frac{T_c}{l_c} \begin{bmatrix} (I_d - \{c\} \{c\}^t) - (I_d - \{c\} \{c\}^t) & \\ - (I_d - \{c\} \{c\}^t) & (I_d - \{c\} \{c\}^t) \end{bmatrix} \quad (A2-8)$$

où I_d désigne la matrice identité de dimension (3×3) , chaque nœud ayant 3 composantes suivant les 3 directions de la base fixe choisie. Les matrices de rigidité élastique et géométrique de chaque élément câble sont donc de dimension (6×6) .

De plus, une matrice d'amortissement prenant en compte la viscosité des câbles est définie par :

$$[C]_t = \frac{(\eta S)_c}{l_c} \begin{bmatrix} \{c\} \{c\}^t - \{c\} \{c\}^t & \\ -\{c\} \{c\}^t & \{c\} \{c\}^t \end{bmatrix} \quad (A2-9)$$

Il est à noter que, contrairement à la matrice de rigidité, la matrice d'amortissement des éléments câbles ne peut se décliner en la somme d'une matrice d'amortissement « visqueux » et d'une matrice d'amortissement « géométrique », la viscosité telle qu'elle a été introduite (viscosité matérielle de type « Voigt ») ne dépendant pas de l'état de précontrainte T_c du câble.

Pour les éléments barres, la démarche effectuée est la même, la matrice d'amortissement regroupant les effets visqueux étant une matrice nulle de dimension (6×6) puisque les barres

sont considérées comme étant des solides quasi-rigides ne présentant que des propriétés élastiques.

En définitive, la matrice de rigidité de chaque élément \mathbf{p} (barre et câble) s'écrit :

$$[\mathbf{K}]_{\mathbf{p}} = [\mathbf{K}_E]_{\mathbf{p}} + [\mathbf{K}_G]_{\mathbf{p}} = \begin{bmatrix} k_p & -k_p \\ -k_p & k_p \end{bmatrix} \quad (\text{A2-10})$$

avec la matrice élémentaire k_p de dimension (3×3) :

$$k_p = \begin{bmatrix} \frac{E_p S_p - T_p}{l_p} c_x^2 \frac{T_p}{l_p} & \bullet & \text{symétrie} \\ \frac{E_p S_p - T_p}{l_p} c_x c_y & \frac{E_p S_p - T_p}{l_p} c_y^2 \frac{T_p}{l_p} & \bullet \\ \frac{E_p S_p - T_p}{l_p} c_x c_z & \frac{E_p S_p - T_p}{l_p} c_y c_z & \frac{E_p S_p - T_p}{l_p} c_z^2 \frac{T_p}{l_p} \end{bmatrix} \quad (\text{A2-11})$$

La matrice de rigidité globale $[\mathbf{K}]$ de la structure se construit ainsi à partir des 30 matrices de rigidité élémentaires k_p (6 barres et 24 câbles). Elle est symétrique, de dimension (36×36) et non inversible.

L'équation matricielle finale traduisant l'équilibre des forces du modèle de tenségrité à 30 éléments est alors :

$$\{F\} = [K]\{U\} + [C]\{\dot{U}\} \quad (\text{A2-12})$$

ANNEXE A3 – Définition du problème mécanique et résolution par un code de calcul numérique utilisant la méthode NSCD

A – Généralités – Lois de la mécanique et démarche numérique pour l'utilisation de LMGC [Cambou et coll. 2001, Jean 1999]

I – Les conditions d'unilatéralité de Signorini

Considérons deux corps O et O' comme schématisés ci-dessous dans un repère local :

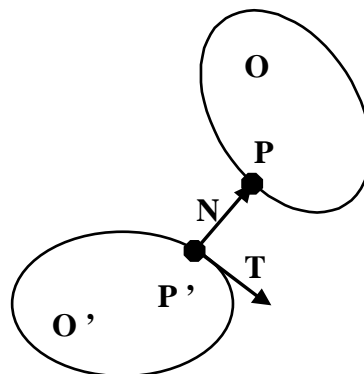


Figure A3-1 : Repère local à partir duquel est définie la notion de contact

On appelle *candidat au contact* (ou tout simplement *contact*) le couple unique composé d'un objet candidat O portant un contacteur candidat $P \in O$ et d'un objet antagoniste O' portant un contacteur antagoniste $P' \in O'$. Le vecteur $\mathbf{P}'P$ définit alors un vecteur normal unitaire \mathbf{N} , dirigé par convention depuis l'objet antagoniste vers l'objet candidat et auquel on associe deux autres vecteurs unitaires formant une base orthonormée locale dont le vecteur tangentiel \mathbf{T} , comme décrit sur la figure ci-dessus. On note, dans le but de décrire une loi de contact, les composantes

de la vitesse relative de P par rapport a O' : $\mathbf{U}=(U_T, U_N)$; les composantes de la force de réaction exercée par O' sur l'objet O : $\mathbf{R}=(R_T, R_N)$; l'interstice : $g=\overline{P'P}$.

D'une manière générale, les relations décrivant le contact unilatéral s'écrivent comme suit :

- impénétrabilité : $g \geq 0$,
- aucune attraction n'est exercée entre les objets : $R_N \geq 0$,
- la force de réaction s'annule lorsque les objets ne sont plus en contact : $g > 0 \Rightarrow R_N = 0$.

Les trois relations ci-dessus peuvent être résumées dans une unique relation complémentaire appelée *condition de Signorini* :

$$g \geq 0 \quad R_N \geq 0 \quad g \cdot R_N = 0 \quad (\text{A3-1})$$

Il est aisé de montrer qu'il est possible d'écrire la *condition de Signorini en vitesse* [Cambou et coll. 2001, Jean 1999] :

pour un temps initial t_0 , $g(t_0) \geq 0$;

$\forall t \in I$, intervalle de temps où est définie la fonction $t \rightarrow U(t)$, si $g(t) \leq 0$ alors (A3-2)

$$U_N(t) \geq 0 \quad R_N(t) \geq 0 \quad U_N(t) \cdot R_N(t) = 0.$$

Les conditions (1) et (2) peuvent être représentées dans le *graphique de Signorini* suivant :

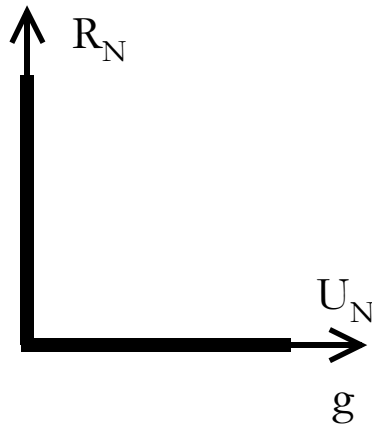


Figure A3-2 : Représentation graphique de la condition de Signorini

Remarque : le graphique ci-dessus n'est pas la représentation graphique d'une fonction, dans la mesure où R_N et g (respectivement U_N) sont indépendants, c'est à dire $R_N \neq R_N(g)$ et $g \neq g(R_N)$ (respectivement $R_N \neq R_N(U_N)$ et $U_N \neq U_N(R_N)$).

II – Les lois de Coulomb

Le frottement sec est décrit de la manière suivante : la réaction tangentielle R_T représente la force de frottement et appartient au *cône de Coulomb* :

$$\|R_T\| \leq \mu R_N \quad \text{ou} \quad R_T \in [-\mu R_N ; +\mu R_N] \quad (\text{A3-3})$$

où μ est un coefficient de frottement.

De plus, on conviendra que si la vitesse de glissement (c'est à dire la vitesse tangentielle U_T) est strictement positive alors la réaction tangentielle est de signe opposé à la réaction normale ($R_T = -\mu R_N$) tandis que si la vitesse de glissement est strictement négative alors $R_T = \mu R_N$. Ces relations peuvent être représentées par le *graphique de Coulomb* suivant :

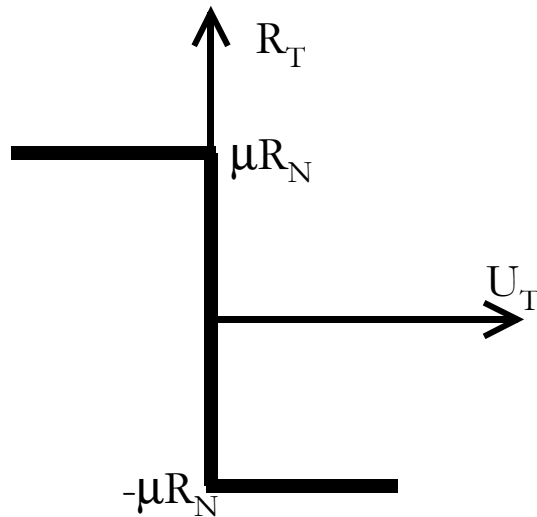


Figure A3 – 3 : Représentation graphique de la loi de Coulomb

Remarque : toutes les représentations graphiques montrées ci-dessus sont monotones et si l'on superpose à ces graphiques une droite de pente positive alors il existe un seul et unique point d'intersection avec le graphique considéré ; autrement dit, la solution d'un problème de contact considéré à partir des lois de Sinorini-Coulomb existe et est unique.

III – Relations cinématiques

La configuration d'un point matériel est donnée par la variable de Lagrange q , \dot{q} étant sa vitesse à laquelle on peut associer la réaction r . L'analyse cinématique classique peut être représentée schématiquement comme suit :

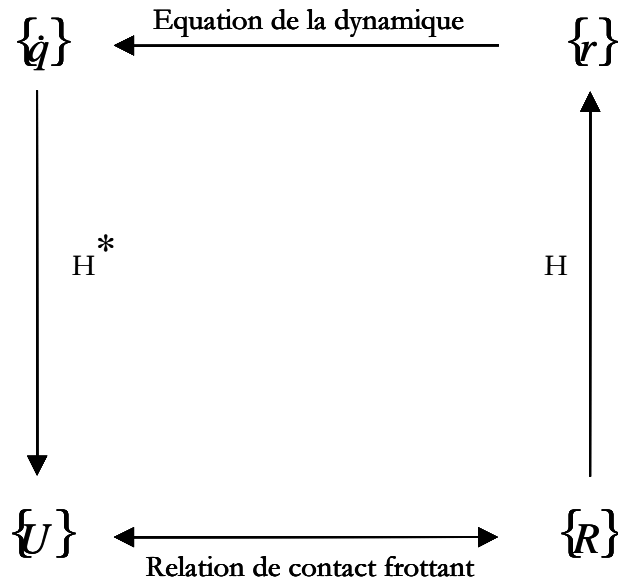


Figure A3-4 : Schéma de dualité ou analyse cinématique

où le lien entre $\{\dot{q}\}$ et $\{r\}$ est l'équation de la dynamique, le lien entre $\{U\}$ et $\{R\}$ est la « loi de Singnorini-Coulomb » (fonction réversible) et avec les relations non réversibles H^* et H qui sont définies comme suit [Cambou et coll. 2001, Jean 1999] :

$$r = H(q) \cdot R \quad \text{et} \quad U = H^*(q) \cdot \dot{q} \quad (\text{A3-4})$$

$H(q)$ et $H^*(q)$ sont des applications linéaires prenant en compte les paires de contacteurs entre candidat et antagoniste, et $H^*(q)$ est la transposée de $H(q)$. De plus, il apparaît que le schéma ci-dessus ne peut se construire que dans un sens unique, imposant un sens à la démarche de résolution numérique. Enfin, on notera pour la suite que la composante normale de la vitesse relative U est égale à la dérivée par rapport au temps de l'interstice g :

$$\dot{g} = U_N \quad (\text{A3-5})$$

IV – Equation de la dynamique

L'équation de la dynamique pour le contact non régulier s'écrit :

$$M\ddot{q} = F(q, \dot{q}, \ddot{q}) + r \quad (A3-6)$$

où $F(q, \dot{q}, \ddot{q})$ représente les efforts internes et externes. Si l'on intègre l'équation (A3-6) sur un intervalle de temps $[t_i ; t_i + h]$ où h représente le pas de temps, on a :

$$M(\dot{q}(i+1) - \dot{q}(i)) = h \int_{t_i}^{t_i+h} F ds + h \int_{t_i}^{t_i+h} r dv \quad (A3-7)$$

où ds représente la mesure au sens de Lebesgue et dv la mesure relative réelle positive pour laquelle $d\dot{q}$ possède une fonction densité. On trouve alors :

$$M(\dot{q}(i+1) - \dot{q}(i)) = h \int_{[h]} F ds + h r(i+1) \quad (A3-8)$$

D'où :

$$\dot{q}(i+1) = \dot{q}(i) + \frac{1}{M} h \bar{F} + \frac{1}{M} h r(i+1) \quad (A3-9)$$

où $r(i+1)$ est l'impulsion moyenne pendant l'intervalle de temps h et \bar{F} la résultante moyenne des efforts pendant h .

On procède de même pour le contact frottant :

$$(5) \Rightarrow g(i+1) = g(i) + hU_N(i+1) \quad (A3-10)$$

D'après (A3-4) on a :
$$U(i+1) = H^*(q) \cdot \dot{q}(i+1) \quad (A3-11)$$

Ainsi, en remplaçant dans (A3-11) l'expression de $\dot{q}(i+1)$ donnée par la relation (A3-9)

et en identifiant $r(i+1)$ avec (A3-4), on a :

$$U(i+1) = H^* \cdot \dot{q}(i) + H^* \cdot \frac{1}{M} \bar{F} + H^* \cdot \frac{1}{M} \cdot HhR(i+1) \quad (A3-12)$$

Soit :

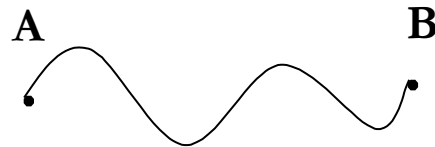
$$U(i+1) = V_{\text{libre}} + WhR(i+1) \quad (A3-13)$$

où W représente l'inverse d'une matrice de masse ($W = H^*M^{-1}H$) et V_{libre} est un terme représentant $U(i+1)$ lorsque le contact frottant n'est pas pris en compte, c'est à dire lorsque le terme $hR(i+1)$ s'annule. On se retrouve ainsi à résoudre le système d'équations linéaires formé par les relations (A3-10) et (A3-13) et dont les inconnues sont les couples ($U(i+1)$, $R(i+1)$) :

$$\begin{cases} g(i+1) = g(i) + hU_N(i+1) \\ U(i+1) = V_{\text{libre}} + WhR(i+1) \end{cases} \quad (A3-14)$$

B – Application à l'étude d'une structure de tenségrité

Considérons deux points A et B, distants de l_0 et reliés par un câble de longueur l qui peut subir une tension T mais ne pouvant s'allonger, comme indiqués sur la figure ci-dessous (ceci représente la notion de « contact à distance ») :



La condition de Signorini s'écrit dans ce cas :

$$-(l_0 - l) \geq 0 \quad T \geq 0 \quad -T(l_0 - l) = 0 \quad (\text{A3-15})$$

où k est la rigidité du câble.

Le graphique de Signorini correspondant est ainsi :

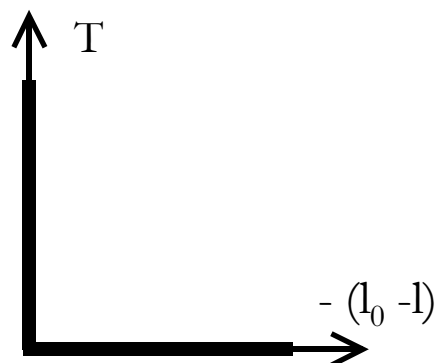


Figure A3-4 : Représentation graphique de la condition de Signorini pour un câble non étirable

Dans le cas d'une structure de tenségrité, les câbles ne travaillent qu'en traction (ils ne supportent pas la compression) et peuvent cette fois être étirés. Si l'on considère que la distance l_0 représente cette fois la longueur du câble à vide, c'est à dire pris isolément et sans application d'effort de traction, les relations entre longueur du câble l , interstice l_0 et tension T sont alors :

$$\begin{array}{ll}
 \text{si } -(l_0 - l) \geq 0 & \text{alors } -T = -k(l_0 - l) \\
 \text{si } -(l_0 - l) < 0 & \text{alors } T = 0
 \end{array} \tag{A3-16}$$

La représentation graphique de cette condition (A3-16) est ainsi :

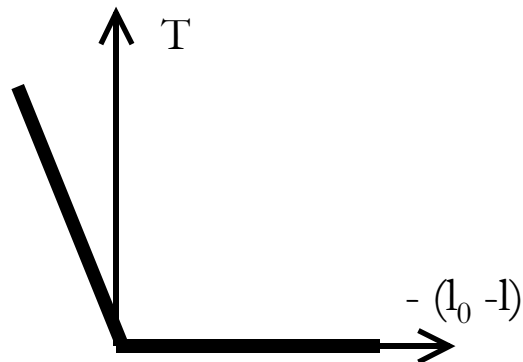


Figure A3-5 : Représentation graphique de la condition de Signorini pour un câble composant une structure de tensegrité (« câble de tensegrité »)

Pour se replacer dans un schéma classique de Signorini, il faut par conséquent effectuer le changement de variables suivant :

$$\bar{R} = T - k(l_0 - l) \quad \text{et} \quad \bar{U} = -(l_0 - l) \tag{A3-17}$$

Ainsi, la condition de Signorini et sa représentation graphique deviennent dans ce cas :

$$\bar{R} \geq 0 \quad U \geq 0 \quad \bar{R}U = 0 \tag{A3-18}$$

et

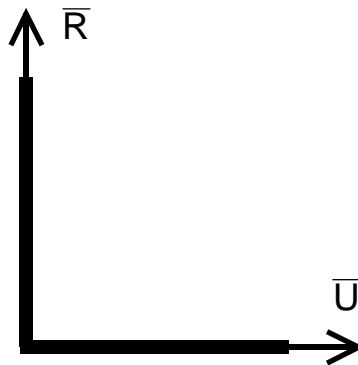


Figure A3 – 6 : Représentation graphique de la condition de Signorini pour un câble de tensegrité après changement de variable

Comme il a été dit précédemment, l'étude du comportement mécanique d'une structure de tensegrité en utilisant cette méthode de la dynamique du contact non régulier (NSCD) nécessite une modélisation numérique de la structure quelque peu originale. En effet, contrairement aux démarches classiquement utilisées [Argyris et coll. 1972 ; Motro 1990 ; Mohri et coll. 1993 ; Stamenovic et coll. 1996 ; Volokh et coll. 2000; Wendling et coll. 1999] la structure n'est ici plus modélisée du point de vue de ses éléments (câbles et barres) reliés entre eux en leur extrémités (nœuds) mais du point de vue de ses nœuds qui représentent ainsi un ensemble de corps rigides (points matériels possédant une masse m) entre lesquels les câbles et barres sont modélisés par des lois de réaction et de contact unilatéral (prises en compte dans le terme r de l'équation de la dynamique (A3-6) écrite pour le contact non régulier). Ainsi dans l'équation de la dynamique (A3-6), le terme F de représente le vecteur des efforts extérieurs appliqués aux nœuds et le terme r prend en compte les lois de comportement et la géométrie des éléments barres et câbles de la structure de tensegrité étudiée.

ANNEXE A4 : Détection Synchrone et Magnétocytométrie

Le but est ici de mesurer le champs rémanent, $b\{t\}$ issue des microbilles ferromagnétiques. Ce champ rémanent est noyé dans le bruit ($\text{bruit}\{t\}$) et dans le champ magnétique terrestre, b_M , qui sont tous deux potentiellement beaucoup plus grands que $b\{t\}$.

En supposant que le puits où se trouvent les billes est mis en rotation à la pulsation ω_m le signal vu par les sondes du magnétomètre est alors :

$$s_{vs}\{t\} = b_M + \text{bruit}\{t\} + [b\{t\} \sin\{\omega_m t + \phi_m\}] \quad (\text{A4-1})$$

La phase, ϕ_M , non-nulle provient du fait qu'à l'instant initial il n'est pas possible de positionner les billes de telle façon que leur direction magnétique soit perpendiculaire à l'axe de la direction des sondes.

A partir du signal de rotation on peut créer un signal sinusoïdal de pulsation ω_m dit de référence:

$$s_{Ref}\{t\} = a_{Ref} \cdot \sin\{\omega_m t + \phi_{Ref}\} \quad (\text{A4-2})$$

Le produit de s_{vs} par s_{Ref} donne alors :

$$s_{vs} \cdot s_{Ref}\{t\} = [b_M + \text{bruit}\{t\}] \cdot a_{Ref} \cdot \sin\{\omega_m t + \phi_{Ref}\} + [b\{t\} \cdot \sin\{\omega_m t + \phi_m\}] \cdot a_{Ref} \cdot \sin\{\omega_m t + \phi_{Ref}\} \quad (\text{A4-3})$$

soit :

$$s_{vs} \cdot s_{Ref} = \frac{1}{2} \cdot b\{t\} \cdot a_{Ref} \cdot [\cos\{(\omega_m - \omega_m) \cdot t + \phi_m - \phi_{Ref}\} + \cos\{(\omega_m + \omega_m) \cdot t + \phi_m + \phi_{Ref}\}] + [b_M + \text{bruit}\{t\}] \cdot a_{Ref} \cdot \sin\{\omega_m t + \phi_{Ref}\} \quad (\text{A4-4})$$

soit :

$$s_{vs} \cdot s_{Ref} \{t\} = \frac{1}{2} \cdot b\{t\} \cdot a_{Ref} \cdot \cos\{\phi_m - \phi_{Ref}\} + \frac{1}{2} \cdot b\{t\} \cdot a_{Ref} \cdot \cos\{2\omega_m \cdot t + \phi_m + \phi_{Ref}\} + [b_M + \text{bruit}\{t\}] \cdot a_{Ref} \cdot \sin\{\omega_m t + \phi_{Ref}\} \quad (\text{A-5})$$

En filtrant ce produit avec un filtre passe bas dont la pulsation de coupure est inférieure à ω_m et en supposant que $b\{t\}$ n'ait pas de composantes supérieures à cette fréquence de coupure on obtient :

$$\text{fpb}_{\omega_c} \{s_{vs} \cdot s_{Ref}\} = \frac{1}{2} b\{t\} \cdot a_{Ref} \cdot \cos\{\phi_m - \phi_{Ref}\} \quad [A] \quad (\text{A4-6})$$

Par ailleurs, $\text{Bruit}\{t\}$ est supposé ne pas avoir de composante autour de la pulsation ω_m .

Il est possible de faire la même chose en utilisant cette fois comme signal de référence le même signal sinusoïdal s_{Ref} mais déphasé de 90° :

$$s_{Refbis} = a_{Ref} \cdot \sin\{\omega_m \cdot t + \phi_{Ref} + \frac{\pi}{2}\} \quad (\text{A4-7})$$

Il est alors obtenu :

$$\text{fpb}_{\omega_c} \{s_{vs} \cdot s_{Refbis}\} = \frac{1}{2} b\{t\} \cdot a_{Ref} \cdot \sin\{\phi_m - \phi_{Ref}\} \quad (\text{A4-8})$$

$$\text{nota} : \left(\sin\left\{\phi_m - \phi_{Ref} - \frac{\pi}{2}\right\} = \cos\{\phi_m - \phi_{Ref}\} \right)$$

En combinant les 2 expressions des équations A4-6 et A4-8 il vient :

$$b\{t\} = \left(\frac{(2 \cdot \text{fpb}_{\omega_c} \{s_{vs} \cdot s_{Refbis}\})^2 + (2 \cdot \text{fpb}_{\omega_c} \{s_{vs} \cdot s_{Ref}\})^2}{a_{Ref}^2} \right)^{0.5} \quad (\text{A4-9})$$

et

$$\phi_m - \phi_{\text{Ref}} = \tan^{-1} \left\{ \frac{\text{fpb}_{\omega_c} \{s_{vs} \cdot s_{\text{Refbis}}\}}{\text{fpb}_{\omega_c} \{s_{vs} \cdot s_{\text{Ref}}\}} \right\} \quad (\text{A4-10})$$

ANNEXE A5 : Validation de l'application de la méthode NSCD à l'étude de la réponse viscoélastique des modèles de tenségrité viscoélastiques

Pour valider l'application de la méthode NSCD à l'étude de la réponse mécanique du MNTV, une série de tests de fluage en petites déformations a aussi été effectuée avec LMGC, les résultats étant comparés avec ceux obtenus par la première méthode de résolution.

Le tableau (A5T1) et la figure (A5-1) ci-dessous présentent une comparaison des résultats issus de simulations de tests de fluage en petites déformations sur le MNTV en utilisant la méthode incrémentale linéarisée (logiciel MATALB), d'une part, et la méthode NSCD (code de calcul LMGC) d'autre part :

Type d'effort	Outil	τ (s)	erreur (%)	Rigidité	erreur (%)	Amortissement	erreur (%)
	numérique			K		C	
Traction	Matlab	2.1		0.344		0.7224	
	LMGC	3	43	0.35	2	1.05	31.2
Compression	Matlab	2.9		0.35		1.015	
	LMGC	3	3	0.349	-0.3	1.047	3.06
Torsion	Matlab	10.2		0.168		1.7136	
	LMGC	10.2	0	0.166	-1	1.6932	-1.2
Cisaillement	Matlab	7.2		0.075		0.54	
	LMGC	7.3	0.1	0.078	4	0.5694	5.16

Tableau A5T1 : Table de comparaison des valeurs de la constante de temps globale et des modules d'élasticité et de viscosité normalisés du MNTV déterminées par les deux méthodes de résolution numérique.

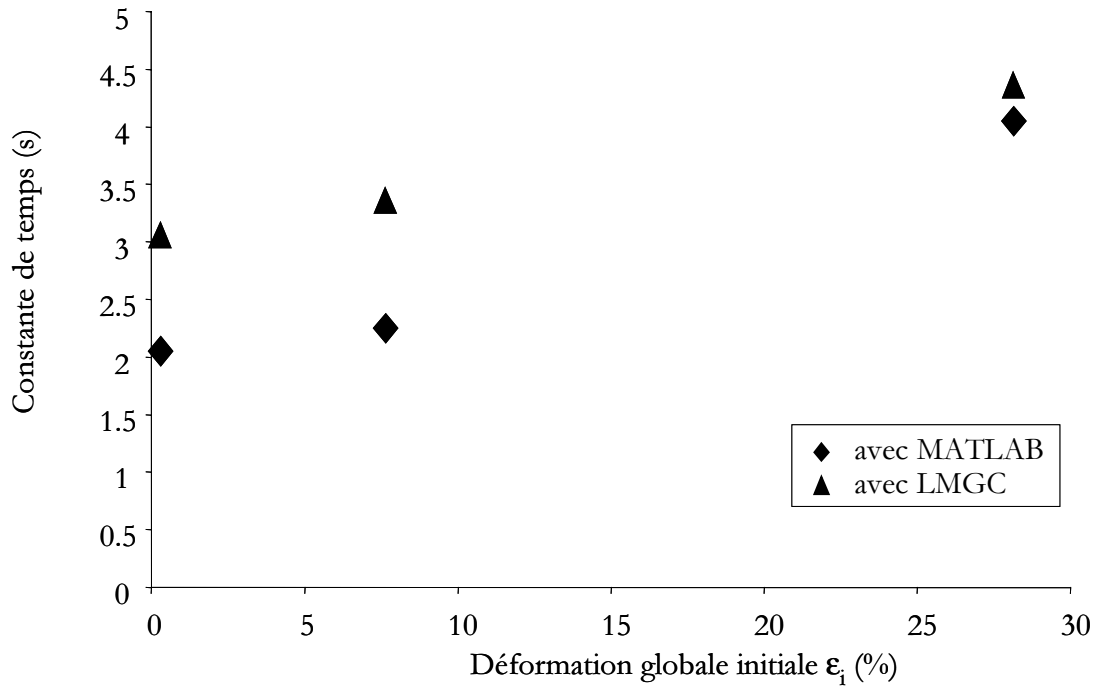


Figure A5-1 : Evolution de la constante de temps en fonction du niveau de déformation initiale du MNTV considéré ($L^* = 100$ et $T^* = 0,25$) en traction, par les deux présentes méthodes numériques utilisées.

Les résultats obtenus en torsion, en cisaillement et en compression par le code LMGC correspondent à ceux obtenus par Matlab, avec une différence inférieure à 5%. Cependant, les résultats obtenus en traction par LMGC diffèrent de ceux obtenus par Matlab (l'écart est de 2 % pour le module d'élasticité tandis que qu'il est supérieur à 30 % pour le module de viscosité et la constante de temps). Toutefois, la figure (A5-1) montre que cette différence (en constante de temps) diminue lorsque le niveau de déformation globale augmente, ce qui reste vrai pour le module de viscosité. Cet écart en viscosité et constante de temps est possiblement dû à un problème de précision couplé à la méthode de résolution numérique par LMGC. En effet, la

construction du MNTV par LMGC requiert une étape préliminaire appelée « montage du modèle ». Au cours de cette étape, les nœuds du modèle (leur position et leur dimension unitaire), les types d'interaction entre eux (correspondant aux barres et aux câbles de la structure) et l'extension initiale des câbles sont implémentés dans le code de calcul. C'est ce dernier qui calcule alors les valeurs des compressions dans les barres en laissant osciller librement le système de tenségrité considéré. A la fin du calcul on vérifie que l'équilibre est atteint (il s'agit d'une recherche de forme stable du MNTV qui, en pratique, se traduit par des vitesses de déplacement des nœuds extrêmement petites, de l'ordre de 10^{-15} m.s⁻¹) avant de passer à l'étape suivante, c'est à dire la simulation du chargement du MNTV proprement dite. Or, la recherche d'équilibre par oscillations libres se traduit parfois par une translation et/ou une contraction de très petites dimensions du MNTV, dans le sens de la force appliquée et dans des ordres de grandeurs précisément proches de ceux correspondant aux déplacements nodaux lorsque le chargement est effectué en traction en petites déformations. Ainsi, il peut y avoir des problèmes de précision, en petites déformations et en traction. Toutefois, ceci n'altère en rien le processus de rigidification (augmentation du module d'élasticité) que suit le MTV testé par le code LMGC en cours de déformation et déjà observé en utilisant la méthode incrémentale linéarisée.

Il peut être conclu qu'en dépit de certaines différences (en termes de module de viscosité et de constante de temps) dans un seul mode de chargement (traction), la méthode NSCD utilisée par le code de calcul LMGC est applicable à l'étude théorique (numérique) du comportement mécanique des modèles de tenségrité viscoélastiques.

ANNEXE A6 – De l'hystérésivité

La présente étude de la réponse mécanique du MTV soumis à des oscillations forcées a permis de mettre en évidence le terme adimensionnel h appelé par Fredberg et Stamenovic *hystérésivité* [Fredberg et coll. 1989]. L'hystérésivité semble montrer une propriété particulière pour les milieux biologiques. En effet, quelle que soit l'échelle d'étude, c'est à dire aussi bien au niveau moléculaire et cellulaire comme au niveau de l'organe dans son ensemble, cette hystérésivité paraît constante quelle que soit la fréquence d'oscillations imposée, d'une valeur de 0,3 [Fredberg et coll. 1989 ; Fabry et coll. 1999 ; Maksym et coll. 2000; Mijailovich et coll. 1992]. Autrement dit, que ce soit à l'échelle du cytosquelette ou à l'échelle de l'organe, le milieu biologique considéré dépense environs un tiers de l'énergie emmagasinée au cours de sa déformation ; on parle alors de « coût énergétique à payer » pour que le milieu biologique puisse se déformer. En effet, l'hystérésivité correspond au rapport entre énergie dissipée (G'') et énergie stockée (G') [Fredberg et coll. 1989 ; Maksym et coll. 2000] :

$$h = \tau \cdot \omega = \frac{G''}{G'} = \frac{C}{K} \cdot \omega \equiv \frac{\eta}{E} \cdot \omega \quad (\text{A6-1})$$

Il est aussi à noter que h , en tant que rapport entre G'' et G' , correspond encore à la cotangente de la phase φ ($h = \tan^{-1}(\varphi)$) définissant le décalage (déphasage) entre les effets dissipatifs (associés à G'') et élastiques (associés à G'). Par ailleurs, d'après la relation (A6-1) ci-dessus, le paramètre adimensionnel h (hystérésivité) peut aussi s'écrire sous la forme d'un produit entre la fréquence de sollicitation (élément extérieur au matériau) et la constante de temps du milieu étudié (élément propre au matériau, le définissant), c'est à dire $h = \omega \times \tau$. Ainsi, un intérêt

de ce paramètre est de relier une partie de la définition de la force extérieure appliquée à une partie de la définition intrinsèque au matériau. Le milieu étudié est alors caractérisé « sous contrainte » comme lors d'une démarche rhéologique classique. En outre, il apparaît de cette définition qu'un système mécanique possédant une unique constante de temps voit son hystérésivité augmenter linéairement avec la fréquence imposée. A l'inverse, si un système mécanique possède deux constantes de temps τ_1 et τ_2 , alors la valeur de l'hystérésivité déterminée aux fréquences f_1 et f_2 , respectivement correspondant à l'inverse de τ_1 et de τ_2 , sera la même : $h = \omega_1 \tau_1 = 2\pi f_1 \tau_1 = \omega_2 \tau_2 = 2\pi f_2 \tau_2$. Par suite, un système mécanique possédant un grand nombre de constantes de temps verra son hystérésivité constante dans la gamme de fréquences correspondant à l'inverse de ces constantes de temps. Par conséquent, le fait que h soit constante ($= 0,3$) quelle que soit la fréquence d'oscillation imposée aux cellules vivantes par la technique de magnétocytométrie laisse supposer que le cytosquelette possède non pas une unique constante de temps mais soit une constante de temps qui varie exactement proportionnellement à l'inverse de la fréquence imposée, soit une multitude de constantes de temps correspondant aux fréquences imposées. Une hypothèse retenue ici, sur la base de ce résultat ainsi que sur les observations biologiques et mécaniques montrant la grande hétérogénéité de la structure du cytosquelette, est que le CSQ est composé d'une multitude d'éléments constitutifs et de sous-structures constitutives, possédant chacun ses propres propriétés viscoélastiques, donc sa propre constante de temps. Ainsi, pour analyser plus précisément encore la réponse mécanique du CSQ soumis à des efforts oscillants, il apparaît nécessaire de considérer un modèle mécanique de cytosquelette composé de plusieurs sous-ensembles (ou éléments) possédant chacun ses propres propriétés viscoélastiques, par exemple un MTV constitué de câbles ayant chacun sa propre constante de temps au lieu des câbles choisis identiques dans la présente étude. De même, la compréhension de la réponse mécanique d'un tissu ou d'un organe dans son ensemble pourrait nécessiter la prise en compte des propriétés viscoélastiques propres aux différentes cellules les constituant.

ANNEXE A7 – Calculs des propriétés viscoélastiques du CSQ à partir de données biologiques pour les modèles de tensegrité viscoélastique et de solide alvéolaire viscoélastique

Cette annexe présente la méthode utilisée pour déterminer la constante de temps et le module de viscosité du CSQ, à partir des propriétés élastiques des filaments d'actine déterminées par Kojima et coll. [Kojima et coll. 1994] ainsi que du calcul du module de viscosité du CSQ évalué, pour chacun des deux modèles structuraux, par Stamenovic et coll. [Stamenovic et coll. 1999].

Concernant le MTV, les propriétés viscoélastiques globales sont déterminées à partir des tests de fluage effectués dans cette présente étude et représentés par l'équation matricielle différentielle du premier ordre à second terme constant (voir partie B Méthode) :

$$\{F\} = [K] \{U\} + [C] \{\dot{U}\} \quad (A7-1)$$

Dont la solution analytique en petites déformations est :

$$\{U(t)\} = \left[[I_d] - \exp(-[C]^{-1} \cdot [K] \cdot t) \right] \cdot \left[[K]^{-1} \cdot \{F\} \right] \quad (A7-2)$$

On retiendra, enfin, la relation suivante :

$$\eta_t = \tau_t \times E_t \quad (A7-3)$$

où η_t , E_t et τ_t représentent respectivement les modules de viscosité et d'élasticité ainsi que la constante de temps globaux du modèle de tenségrité viscoélastique.

Le modèle de solide alvéolaire viscoélastique est issu de la théorie générale des mousses [Gibson et coll. 1988] et a été utilisé dans des études précédentes pour analyser la réponse viscoélastique de cellules vivantes [Satcher et coll. 1996]. Dans cette approche théorique, les barres constituant l'alvéole ont été représentées par un solide viscoélastique suivant le modèle de Kelvin. Pour la présente étude comparative, les barres ont été associées cette fois à des éléments de type Voigt, conduisant ainsi à l'équation de fluage suivante, similaire à celle donnée par Gibson et Ashby [Gibson et coll. 1988] considérant des éléments de type Kelvin :

$$\varepsilon = \frac{\sigma}{C_1 (\rho^*/\rho)^2 E} \left(1 - e^{-\frac{E \cdot t}{\eta}} \right) \quad (\text{A7-4})$$

Où E_a et η_a sont les modules d'élasticité et de viscosité des barres (éléments Voigt) constituant l'unité alvéolaire, la constante C_1 , appelée « constante structurale », est prise égale à 1 et où (ρ^*/ρ) représente le rapport de densité, avec ρ^* la densité totale de l'unité alvéolaire et ρ la densité des barres constitutives [Gibson et coll. 1988]. Il a déjà été montré la relation liant le module d'élasticité global E_a du solide alvéolaire au module d'élasticité des barres E [Wendling et coll. 2000a] :

$$E_a = \frac{\pi}{4} E (L^*)^{-4} \quad (\text{A7-5})$$

Avec L^* la longueur normalisée de l'alvéole (correspondant au rapport entre la longueur des barres et leur rayon, à l'image de la définition de la longueur normalisée du MTV) Ainsi, la constante de temps τ_a et le module de viscosité η_a du solide alvéolaire sont déduits de cette équation de fluage, τ_a étant trouvée égale à la constante de temps des barres τ :

$$\tau \equiv \frac{\eta_a}{E_a} = \frac{\eta}{E} \quad (\text{A7-6})$$

Ainsi, tandis que le modèle de tenségrité viscoélastique prédit une constante de temps globale τ_t inférieure à la constante de temps τ de ses câbles constitutifs (associés aux filaments d'actine), c'est à dire $\tau \sim [10^{-1} - 10^0] \times \tau_a$ (voir Partie D Résultats), le modèle de solide alvéolaire viscoélastique prévoit une constante de temps globale τ_a égale à τ (voir équation (A7-6)), la constante de temps des barres le constituant (associées aux filaments d'actine).

A partir des propriétés physiques des filaments d'actine données par Kojima et coll. [Kojima et coll. 1994], c'est à dire un module de Young $\sim 10^8$ Pa et un rayon moyen $\approx 4,25$ nm, le module d'élasticité du CSQ prédit par chacun des deux modèles est dans l'intervalle $[10^1 - 10^2$ Pa] pour le modèle de tenségrité et $[10^3 - 10^4$ Pa] pour le solide alvéolaire [Stamenovic et coll. 1999]. En outre, la valeur de la constante de temps des filaments d'actine a été extraite de Palmer et coll. [Palmer et coll. 1999], c'est à dire $\tau \sim 10^0 - 10^1$ s. Par conséquent, le modèle de tenségrité viscoélastique prévoit une constante de temps du CSQ dans l'intervalle $[10^{-1} - 10^1$ s] alors que le modèle de solide alvéolaire viscoélastique prédit cette constante de temps dans l'intervalle $[10^0 - 10^1$ s]. Par suite, en considérant ces prédictions pour le module d'élasticité et la constante de temps du CSQ ainsi que les équations (A7-3 et A7-6), il vient pour le module de viscosité du

CSQ l'intervalle [$10^0 - 10^3$ Pa.s] d'après le MTV et l'intervalle [$10^3 - 10^5$ Pa.s] selon le modèle alvéolaire. L'ensemble de ces prédictions des propriétés viscoélastiques du cytosquelette, à partir des deux modèles considérés pour la présente étude comparative est regroupé dans le tableau ci-dessous :

	Module de Young (Pa)	Constante de temps (s)	Module de viscosité (Pa.s)
Modèle alvéolaire	$\sim 10^3 - 10^4$	$\sim 10^0 - 10^1$	$\sim 10^3 - 10^5$
Modèle de tenségrité	$\sim 10^1 - 10^2$	$\sim 10^{-1} - 10^1$	$\sim 10^0 - 10^3$

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Adams, D.S., (1992) Mechanisms of cell shape change: the cytomechanics of cellular response to chemical environment and mechanical loading. *The journal of cell biology*, **117**: p. 83-93.
- Albrecht-Buehler, G., (1987) Role of cortical tension in fibroblast shape and movement. *Cell Motil Cytoskeleton*, **7**(1): p. 54-67.
- Argyris, J.H. and D.W. Scharpf, (1972) Large Deflection Analysis of Prestressed Networks. *Journal of the Structural Division*, **106**(3): p. 633-654.
- Arnold, V.I., (1973), Ordinary differential equations. Cambridge (USA): M.I.T. Press. 280.
- Baush, A.R., W. Moller, and E. Sackman, (1999) Measurements of local viscoelasticity and forces in living cells by magnetic tweezers. *Biophysical journal*, **76**: p. 573-579.
- Benachi, A., B. Chailley-Heu, A.-L. Delezoide, M. Dommergues, F. Brunelle, Y. Dumez, and J.R. Bourbon, (1998) Lung growth and maturation after tracheal occlusion in diaphragmatic hernia. *American journal of respiratory and critical care medicine*, **157**: p. 921-927.
- Bennett, V., (1985) The membrane cytoskeleton of human erythrocytes and its implication for more complex cells. *Annu. Rev. Biochem.*, **54**: p. 273-304.
- Bereiter-Hahn, J. and H. Lüers, (1994), The Role of Elasticity in the Motile behaviour of Cells, in *Biomechanics of Active Movement and Division of Cells*, N. Akkas, Editor. Springer Verlag: Berlin. p. 181-230.
- Blatter, L.A., (1999) Cell volume measurements by fluorescence confocal microscopy: theoretical and practical aspects. *Methods in Enzymology*, **307**: p. 274-95.
- Boey, S.K., D.H. Boal, and D.E. Disher, (1998) Simulations of the erythrocyte cytoskeleton at large deformations I: microscopic modes. *Biophysical Journal*, **75**: p. 1573-1583.
- Bretscher, A., (1991) Microfilament structure and function in the cortical cytoskeleton. *Annu Rev Cell Biol*, **7**: p. 337-74.

- Brodland, G.W. and R. Gordon, (1990) Intermediate Filaments May Prevent Buckling of Compressively Loaded Microtubules. *Journal of Biomechanical Engineering*, **112**(3): p. 319-321.
- Bruhat, G., (1955), Mécanique, cours de Physiques Générale. 5e, ed. A. Foch. Vol. 5e edition. France: Masson et Cie. 724.
- Bucherer, C., S. Geiger, C. Lacombe, and J.C. Lelièvre. (1994).Micropipette experiments on blood cells in *The first China-France Symposium on Biorheology*. Beijing China.
- Butler, J.P., C.L. Bizal, and P.A. Valberg, (1991) Viscoelastic and motile properties of hamster lung and peritoneal macrophages. *Journal of leukocyte biology*, (50): p. 240-251.
- Buxbaum, R., T. Dennerll, S. Weiss, and S. Heidemann, (1987) F-actin and microtubule suspensions as intermediate fluids. *Science*, **235**(20/03/1987): p. 1511-1514.
- Buxbaum, R.E. and S.R.Heideman, (1988) A thermodynamic model for force integration and microtubule assembly during axonal elongation. *Journal Theoretical of Biology*, (134): p. 379-390.
- Caille, N., Y. Tardy, and J.J. Meister, (1998) Assessment of strain field in endothelial cells subjected to uniaxial deformation of their substrate. *Ann Biomed Eng*, **26**(3): p. 409-16.
- Caille, N., O. Thoumine, Y. Tardy, and J.-J. Meister, (2001) Contribution of the nucleus to the mechanical properties of endothelial cells. *Journal of Biomechanics*, **35**(2): p. 177-187.
- Cambou, B. and M. Jean, (2001), Micromécanique des matériaux granulaires: Hermes Sciences.
- Cañadas, P., D. Isabey, C. Oddou, and S. Wendling, (2000) Time response of a viscoelastic tensegrity model to approach cell dynamical response. *Archives of Physiology and Biochemistry*, **108**(1/2): p. 170.
- Cañadas, P., D. Isabey, C. Oddou, and S. Wendling, (2001) A viscoelastic cellular tensegrity model to analyze the cytoskeleton mechanical response. *Archives of Physiology and Biochemistry*, **109**: p. 106.
- Cañadas, P., V. Laurent, C. Oddou, D. Isabey, and S. Wendling, (2002) A cellular tensegrity model to analyse the structural viscoelasticity of the cytoskeleton. *Journal of Theoretical Biology*, **218**(155-173).

- Cau, P. and R. Seïte, (2001), Cours de biologie cellulaire. 2e edition ed: Ellipses.
- Charras, G.T. and M.A. Norton, (2002) Determination of cellular strains by combined atomic force microscopy and finite element modeling. *Biophysical journal*, **83**: p. 858-879.
- Chen, C.S. and D.E. Ingber, (1999) Tensegrity and mechanoregulation: from skeleton to cytoskeleton. *Osteoarthritis Cartilage*, **7**(1): p. 81-94.
- Cheng, Y., C.A. Hartemink, J.H. Hartwig, and C.F. Dewey, Jr., (2000) Three-dimensional reconstruction of the actin cytoskeleton from stereo images. *J Biomech*, **33**(1): p. 105-13.
- Chicurel, M.E., C.S. Chen, and D.E. Ingber, (1998) Cellular control lies in the balance of forces. *Current Opinion in Cell Biology*, **10**(2): p. 232-239.
- Choquet, D., D.P. Felsenfeld, and M.P. Sheetz, (1997) Extracellular Matrix Rigidity Causes Strengthening of Integrin-Cytoskeleton Linkages. *Cell*, **88**: p. 39-48.
- Cohen, D. and I. Nemoto, (1984) Ferrimagnetic particles in the lung. Part I: the magnetizing process. *IEEE, Transactions on Biomedical Engineering*, **BME-31**(3): p. 261-273.
- Coppel, W.A., (1965), Stability and asymptotic behavior of differential equations. Boston: Heath & Company. 166.
- Costa, K.D., W.J. Hucker, and F.C.-P. Yin, (2002) Buckling of actin stress fibers: a new wrinkle in the cytoskeletal tapestry. *Cell Motility and the Cytoskeleton*, **52**: p. 266-274.
- Coughlin, M.F. and D. Stamenovic, (1997) A Tensegrity Structure with Buckling Compression Elements: Application to Cell Mechanics. *Journal of Applied Mechanics*, **64**: p. 480-486.
- Coughlin, M.F. and D. Stamenovic, (1998) A Tensegrity Model of the Cytoskeleton in Spread and Round Cells. *Journal of Biomechanical Engineering*, **120**: p. 770-777.
- Coulombe, P.A., O. Bousquet, L. Ma, S. Yamada, and D. Wirtz, (2000) The 'ins' and 'outs' of intermediate filament organization. *Cell Biology*, **10**: p. 420-428.
- Crisfield, M.A., (1991), ed.^eds. Non-linear Finite Element Analysis of Solids and Structures. *Essentials*. Vol. 1. Wiley: London.

- Dennerll, T.J., R.E. Buxbaum, and S.R. Heidemann, (1988) Tension and compression in the cytoskeleton of PC-12 neurites II: quantitative measurements. *journal of cell biology*, **107**(2): p. 665-664.
- Discher, D.E., E.A. Evans, and N. Mohandas, (1994) Molecular maps of red cell deformation: hidden elasticity and in situ connectivity. *Science*, **266**(5187): p. 1032-5.
- Discher, D.E., D.H. Boal, and S.K. Boey, (1998) Simulations of the erythrocyte cytoskeleton at large deformation. II. Micropipette aspiration. *Biophys J*, **75**(3): p. 1584-97.
- Dong, C., R. Skalak, and K.L. Sung, (1991) Cytoplasmic rheology of passive neutrophils. *Biorheology*, **28**(6): p. 557-67.
- Dos Santos, C.C. and A.S. Slutsky, (2000) Mechanisms of ventilator-induced lung injury: a perspective. *Journal of Applied Physiology*, **89**: p. 1645-1655.
- Dufort, P.A. and C.J. Lumsden, (1993) Cellular automaton model of the actin cytoskeleton. *Cell Motility; cytoskeleton*, **25**: p. 87-104.
- Duszyk, M., B. Schwab, G.I. Zahalak, H. Qian, and E.L. Elson, (1989) Cell poking: Quantitative analysis of indentation of thick viscoelastic layers. *Biophysical Journal*, **55**: p. 683-690.
- Elson, E.L., (1988) Cellular mechanism as an indicator of CSK structure and function. *Annual Review of Biophysics and Biophysical Chemistry*, **17**: p. 397-430.
- Evans, E. and A. Yeung, (1989) Apparent viscosity and cortical tension of blood granulocytes determined by micropipet aspiration. *Biophysical Journal*, **56**(1): p. 151-60.
- Evans, E.A. and R. Skalak, (1979) Mechanics and thermodynamics of biomembranes: part 1. *CRC Crit Rev Bioeng*, **3**(3): p. 181-330.
- Evans, E.A. and R. Skalak, (1979) Mechanics and thermodynamics of biomembranes: part 2. *CRC Crit Rev Bioeng*, **3**(4): p. 331-418.
- Fabry, B., G. Maksym, R. Hubmayr, J. Butler, and J. Fredberg, (1999) Implications of heterogeneous bead behavior on cell mechanical properties measured with magnetic twisting cytometry. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, **194**: p. 120-125.

- Fabry, B., G.N. Maksym, J.P. Butler, M. Glogauer, D. Najavas, and J.J. Fredberg, (2001) Scaling the microrheology of living cells. *Phys. Rev. Lett.*, **87**(14): p. 148102-1; 148102-4.
- Forgacs, G., (1995) On the possible role of cytoskeletal filamentous networks in intracellular signaling: an approach based on percolation. *Journal of Cell Science*, **108**: p. 2131-2143.
- Fox, J.E. and J.K. Boyles, (1988) The membrane skeleton--a distinct structure that regulates the function of cells. *Bioessays*, **8**(1): p. 14-8.
- Fredberg, J.J. and D. Stamenovic, (1989) On the imperfect elasticity of lung tissue. *Journal of Applied Physiology*, **67**(6): p. 2408-2419.
- Fuller, R.B., (1975), ed.^eds. Synergetics; Explorations of the geometry of thinking. Vol. 1. Macmillan Publishing Co: New-York.
- Fung, Y.C., (1981), ed.^eds. Biomechanics; Mechanical properties of living tissues. Springer Verlag ed., ed. S. edition. Vol. 1. Springer Verlag: University of California, San Diego.
- Gantmacher, F.R., (1966), Théorie des matrices. Tome 1 : théorie générale. Vol. 1. Paris: Dunod. 370.
- Gantmacher, F.R., (1966), Théorie des matrices. Tome 2 : Questions spéciales et applications. Vol. 2. Paris: Dunod. 268.
- Geiger, S., (1994), Rhéologie des globules blancs humains; Application aux cellules leucémiques. Denis Diderot Paris VII. p. chapitre VII.
- Gibson, L.J. and M.F. Ashby, (1988), ed.^eds. Cellular Solids, Structure and Properties. Pergamon Press. 358.
- Gittes, F., B. Mickey, J. Nettleton, and J. Howard, (1993) Flexural Rigidity of Microtubules and Actin Filaments Measured from Thermal Fluctuations in Shape. *The Journal of Cell Biology*, **120**: p. 923-934.
- Goode, B.L., D.G. Drubin, and G. Barnes, (2000) Functional cooperation between the microtubule and actin cytoskeletons. *Current Opinion in Cell Biology*, **12**: p. 63-71.
- Hamill, O.P. and B. Martinac, (2001) Molecular basis of mechanotransduction in living cells. *Physiol Rev*, **81**(2): p. 685-740.

- Harris, A.K., P. Wild, and D. Stopak, (1980) Silicone Rubber Substrata: A New Wrinkle in the Study of Cell Locomotion. *Science*, **208**(11): p. 177-179.
- Harris, R., S. Kondo, and T. Yasuda, (1997) Mechanical Stress-Cell Function Relationships in Renal Cells. *Experimental Nephrology*, **5**: p. 263-270.
- Hartwig, J.H. and P. Shevlin, (1986) The architecture of actin filaments and the ultrastructural location of actin-binding protein in the periphery of lung macrophages. *J Cell Biol*, **103**(3): p. 1007-20.
- Heidemann, S.R. and R.E. Buxbaum, (1990) Tension as a regulator and integrator of axonal growth. *Cell Motility and the Cytoskeleton*, **17**: p. 6-10.
- Heidemann, S.R., S. Kaech, R.E. Buxbaum, and A. Matus, (1999) Direct observations of the mechanical behaviors of the cytoskeleton in living fibroblasts. *Journal of Cell Biology*, **145**(1): p. 109-22.
- Henon, S., G. Lenormand, A. Richert, and F. Gallet, (1999) A new determination of the shear modulus of the human erythrocyte membrane using optical tweezers. *Biophysical Journal*, **76**: p. 1145-1151.
- Hochmuth, R.M. and R.E. Waugh, (1987) Erythrocyte membrane, elasticity and viscosity. *Annual review of physiology*, (49): p. 209-219.
- Hochmuth, R.M., (1993) Measuring the Mechanical Properties of Individual Human Blood Cells. *Journal of Biomechanical Engineering*, **115**: p. 515-519.
- Hochmuth, R.M., (2000) Micropipette aspiration of living cells. *J Biomech*, **33**(1): p. 15-22.
- Hubmayr, R.D., (2000) Biology lessons from oscillatory cell mechanics. *Journal of Applied Physiology*, **89**: p. 1617-1618.
- Ingber, D.E., J.A. Madri, and J.D. Jamieson, (1981) Role of basal lamina in the neoplastic disorganization of tissue architecture. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, (78): p. 3901-3905.
- Ingber, D.E. and J.D. Jamieson, (1985), Cells as tensegrity structures: architectural regulation of histodifferentiation by physical forces transduced over basement membrane, in *Gene expression during normal and malignant differentiation*, L. Anderson, C. Gahmberg, and P. Ekblom, Editors. San Diego Academic Press: LONDON. p. 13-32.

- Ingber, D.E. and J. Folkman, (1989), Tension and compression as basic determinants of cell form and function: utilization of a cellular tensegrity mechanism, in *Cell shape: Determinants, Regulation and Regulatory Role.*, S. W.D. and B. F., Editors: Academic press Inc. p. 3-31.
- Ingber, D.E. and S. Karp, (1991) Control of cell and nuclear form through establishment of tensional integrity between cytoskeletal struts and extracellular matrix anchors. *Journal of Cell Biology*, **115**(3 part 2): p. 394A.
- Ingber, D.E., (1993) Cellular tensegrity: defining new rules of biological design that govern the cytoskeleton. *Journal of Cell Science*, (104): p. 613-627.
- Ingber, D.E., S. Karp, G. Plopper, L. Hansen, and D. Mooney, (1993), Mechanochemical transduction across extracellular matrix and through the cytoskeleton., in *Physical forces and mammalian cell*. Academic Press Inc. p. 61-78.
- Ingber, D.E., L. Dike, L. Hansen, S. Karp, H. Liley, A. Maniotis, H. McNamee, D. Mooney, G. Plopper, and J. Sims, (1994) Cellular tensegrity: exploring how mechanical changes in the cytoskeleton regulate cell growth, migration, and tissue pattern during morphogenesis. *International Review Of Cytology*, **150**: p. 173-224.
- Ingber, D.E., D. Prusty, Z. Sun, H. Betensky, and N. Wang, (1995) Cell shape, cytoskeleton mechanics and cell cycle control in angiogenesis. *J. Biomechanics*, **28**(12): p. 1471-1484.
- Ingber, D.E., (1997) Tensegrity: the architectural basis of cellular mechanotransduction. *Annu. Rev. Physiol.*, **59**: p. 575-599.
- Ingber, D.E., (1998), Tensegrity and the emergence of a cellular biophysics, in *Dynamical Networks in Physics and Biology*, D. Beysens and G. Forgacs, Editors. EDP Sciences, Springer-Verlag.
- Ingber, D.E., S.R. Heidemann, P. Lamoureux, and R.E. Buxbaum, (2000) Opposing views on tensegrity as a structural framework for understanding cell mechanics. *Journal of Applied Physiology*, **89**: p. 1663-1678.
- Janmey, P.A. and T.P. Stossel, (1988) Viscoelasticity of F-Actin and F-Actin/Gelsolin Complexes. *Biochemistry*, **27**(21): p. 8218-8226.

- Janmey, P.A., S. Hvidt, J.D. Ferry, and T.P. Stossel, (1989), Actin Filaments as a Model for Rigid Polymer Networks, in *Physical Networks, Polymers and Gels*, W.B.a.S. Ross-Murphy, Editor. Elsevier Applied Science: London & New York. p. 359-369.
- Janmey, P.A., U. Euteneuer, P. Traub, and M. Schliwa, (1991) Viscoelastic Properties of Vimentin Compared with other Filamentous Biopolymer Networks. *The Journal of Cell Biology*, **113**(1): p. 155-160.
- Janmey, P.A., (1998) The cytoskeleton and cell signaling: component localization and mechanical coupling. *Physiological Reviews*, **78**(3): p. 763-81.
- Jean, M., (1999) The non-smooth contact dynamics method. *Computer Methods in Applied Mechanics and Engineering*, **177**: p. 235-257.
- Kano, Y., K. Katoh, M. Masuda, and K. Fujiwara, (1996) Macromolecular composition of stress fiber-plasma membrane attachment sites in endothelial cells in situ. *Circ Res*, **79**(5): p. 1000-6.
- Katoh, K., M. Masuda, Y. Kano, Y. Jinguji, and K. Fujiwara, (1995) Focal adhesion proteins associated with apical stress fibers of human fibroblasts. *Cell Motil Cytoskeleton*, **31**(3): p. 177-95.
- Katoh, K., Y. Kano, M. Masuda, H. Onishi, and K. Fujiwara, (1998) Isolation and contraction of the stress fiber. *Mol Biol Cell*, **9**(7): p. 1919-38.
- Katoh, K., Y. Kano, and K. Fujiwara, (2000) Isolation and in vitro contraction of stress fibers. *Methods Enzymol*, **325**: p. 369-80.
- Katoh, K., Y. Kano, M. Amano, K. Kaibuchi, and K. Fujiwara, (2001) Stress fiber organization regulated by MLCK and Rho-kinase in cultured human fibroblasts. *Am J Physiol Cell Physiol*, **280**(6): p. C1669-79.
- Kaverina, I., K. Rottner, and J.V. Small, (1998) Targeting, capture, and stabilization of microtubules at early focal adhesions. *The journal of cell biology*, **142**(1): p. 181-190.
- Keiche, K., M.N. Kazi-AAoual, and R. Motro, (1999) Geometrical nonlinear analysis of tensegrity systems. *Engineering Structures*, **21**: p. 864-876.

- Kojima, H., A. Ishijima, and T. Yanagida, (1994) Direct measurement of stiffness of single actin filaments with and without tropomyosin by *in vitro* nanomanipulation. *Proceedings of the National Academy of the USA*, **91**: p. 12962-12966.
- Kurachi, M., M. Hoshi, and H. Tashiro, (1995) Buckling of a single microtubule by optical trapping forces: direct measurement of microtubule rigidity. *Cell Motility and the Cytoskeleton*, **30**: p. 221-228.
- Laurent, V., E. Planus, C. Oddou, D. Isabey, and S. Wendling, (1999) Role of prestress on cytoskeleton stiffness analyzed by tensegrity model. *Archives of Physiology and Biochemistry*, **107**: p. 54.
- Laurent, V., (2000), Apport en mécanique cellulaire de la micromanipulation par magnétocytométrie et par micropipette: applications à l'étude de la cellule épithéliale dans son microenvironnement, in *Ecole Doctorale MFAER spécialité Mécanique*. Université Paris VI: France. p. 210.
- Laurent, V., E. Planus, D. Isabey, C. Lacombe, and C. Bucherer, (2000), Propriétés mécaniques de cellules épithéliales évaluées par micromanipulation cellulaire et magnétocytométrie., in *Mécanotransduction 2000 - Matériaux et Structures des Sciences de l'Ingénieur et du Vivant*, GAMAC-SB, Editor. TEC&DOC/Lavoisier. p. 373-379.
- Laurent, V., S. Henon, E. Planus, R. Fodil, M. Balland, D. Isabey, and F. Gallet, (2002 -a) Assessment of mechanical properties of adherent living cells by bead micromanipulation: comparison of magnetic twisting cytometry vs optical tweezers. *Journal of Biomechanical Engineering*, **124**: p. 408-421.
- Laurent, V., P. Cañadas, E. Planus, R. Fodil, A. Asnacios, S. Wendling, and D. Isabey, (2002 -b) Tensegrity behavior of cortical and cytosolic cytoskeletal components in twisted living adherent cells. *Acta Biotheoretica*, **50**(4): p. 331-356.
- Lelièvre, J.C., C. Bucherer, S. Geiger, and C. Lacombe. (1994). Blood cell biomechanics. in *The first China-France Symposium on Biorheology*. Beijing China.
- Maksym, G.N., B. Fabry, J.P. Butler, D. Navajas, D.J. Tschumperlin, J.D. Laporte, and J.J. Fredberg, (2000) Mechanical properties of cultured human airway smooth muscle cells from 0.05 to 0.4 Hz. *Journal of Applied Physiology*, **89**: p. 1619-1632.

- Maniotis, A.J., C.S. Chen, and D.E. Ingber, (1997) Demonstration of mechanical connections between integrins, cytoskeletal filaments, and nucleoplasm that stabilize nuclear structure. *Proceedings Of The National Academy Of Sciences Of The United States Of America*, **94**(3): p. 849-54.
- Mathur, A.B., G.A. Truskey, and W.M. Reichert, (2000) Atomic force and total reflection fluorescence microscopy for the study of force transmission in endothelial cells. *Biophysical Journal*, **78**: p. 1725-1735.
- Mijailovich, S.M., D. Stamenovic, and J.J. Fredberg, (1992), Toward a Kinetic Theory of Connective Tissue Micro-mechanics. The Biomechanics Institute, Boston, MAA 02215, Harvard University.
- Mijailovich, S.M., M. Kojic, M. Zivkovic, B. Fabry, and J.J. Fredberg, (2002) A finite element model of cell deformation during magnetic bead twisting. *J Appl Physiol*, **93**(4): p. 1429-36.
- Mitchison, T.J., (1992) Compare and contrast actin filaments and microtubules. *Molecular Biology of the Cell*, **3**: p. 1309-1315.
- Mohri, F. and R. Motro, (1993) Static and kinematic determination of generalized space reticulated systems. *Structural Engineering Review*, **5**(3): p. 231-237.
- Motro, R., (1990) Tensegrity Systems and Geodesic Domes. *International Journal of Space Structures*, **5**(3&4): p. 341-351.
- Moussa, B., J.C. Pons, and B. Crosnier, (1998) Relation fréquence-tension dans un système de tensegrité. *Revue Mécanique Industrielle et Matériaux*, **51**(4): p. 3-5.
- Murakami, H. and Y. Nishimura, (2001) Initial shape finding and modal analyses of cyclic right-cylindrical tensegrity modules. *Computers and Structures*, **79**: p. 891-917.
- Needham, D. and R.M. Hochmuth, (1992) A sensitive measure of surface stress in the resting neutrophil. *Biophys J*, **61**(6): p. 1664-70.
- Nemoto, I., (1982) A model of magnetization and relaxation of ferrimagnetic particles in the lung. *I.E.E.E. (Institute of Electrical and Electronics Engineers) Transactions on Biomedical Engineering*, **29**: p. 745-752.

- Palmer, A., T.G. Mason, J. Xu, S.C. Kuo, and D. Witz, (1999) Diffusing wave spectroscopy microrheology of actin filament networks. *Biophysical journal*, **76**: p. 1063-1071.
- Pavalko, F.M., N.X. Chen, C.H. Turner, D.B. Burr, S. Atkinson, Y.F. Hsieh, J. Qiu, and R.L. Duncan, (1998) Fluid shear-induced mechanical signaling in MC3T3-E1 osteoblasts requires cytoskeleton-integrin interactions. *Am. J. Physiol.*, **275**: p. C1591-C1601.
- Pioletti, D.P., L.R. Rakotomanana, and P.F. Leyvraz, (1995) Non linear viscoelastic model and experimental identification of the ACL. *ASME Proc. BED*, **31**(35-36).
- Pioletti, D.P., L.R. Rakotomanana, J.F. Benvenuti, and P.F. Leyvraz, (1998) Viscoelastic constitutive law in large deformations: application to knee ligaments and tendons. *J. Biomechanics*, **31**(753-757).
- Potard, U.S., J.P. Butler, and N. Wang, (1997) Cytoskeletal mechanics in confluent epithelial cells probed through integrins and E-cadherins. *Am J Physiol*, **272**(5 Pt 1): p. C1654-63.
- Pourati, J., A. Maniotis, D. Spiegel, J.L. Schaffer, J.P. Butler, J.J. Fredberg, D.E. Ingber, D. Stamenovic, and N. Wang, (1998) Is cytoskeletal tension a major determinant of cell deformability in adherent endothelial cells? *American Journal of Physiology*, **274**(5 Pt 1): p. C1283-9.
- Pugh, A., (1976), ed.^eds. Introduction to tensegrity. University of California Press.
- Ragsdale, G.K., J. Phelps, and K. Luby-Phelps, (1997) Viscoelastic response of fibroblasts to tension transmitted through adherens junctions. *Biophysical Journal*, **73**: p. 2798-2808.
- Robert, M. and F.R. Buckminster, (1973), ed.^eds. The dymaxion world of R.B. Fuller. N.Y Anchor Press/Doubleday.
- Satcher, R.L. and C.F. Dewey, (1996) Theoretical Estimates of Mechanical Properties of the Endothelial Cell Cytoskeleton. *Biophysical Journal*, **71**: p. 109-118.
- Sato, M., M.J. Levesque, and R.M. Nerem, (1987) An application of the micropipette technique to the measurement of the mechanical properties of cultured bovine aortic endothelial cells. *Journal Of Biomechanical Engineering*, **109**(1): p. 27-34.

- Sato, M., D.P. Theret, L.T. Wheeler, N. Ohshima, and R.M. Nerem, (1990) Application of the Micropipette Technique to the Measurement of Cultured Porcine Aortic Endothelial Cell Viscoelastic Properties. *Journal of Biomechanical Engineering*, **112**: p. 263-268.
- Schmid-Schonbein, G.W., T. Kosawada, R. Skalak, and S. Chien, (1995) Membrane model of endothelial cells and leukocytes. A proposal for the origin of a cortical stress. *J Biomech Eng*, **117**(2): p. 171-8.
- Sieck, G.C., (2000) *Highlighted Topics* series: Cellular responses to mechanical stress. *Journal of Applied Physiology*, **89**: p. 1253-1254.
- Stamenovic, D., D.E. Ingber, N. Wang, and J.J. Fredberg, (1996) A Microstructural Approach to Cytoskeletal Mechanics based on Tensegrity. *Journal of Theoretical Biology*, **181**: p. 125-136.
- Stamenovic, D. and M.F. Coughlin, (1999) The role of prestress and architecture of the cytoskeleton and deformability of cytoskeletal filaments in mechanics of adherent cells : a quantitative analysis. *Journal of Theoretical Biology*, **201**: p. 63-74.
- Stamenovic, D. and M.F. Coughlin, (2000) A quantitative model of cellular elasticity based on tensegrity. *Journal of Biomechanical Engineering*, **122**: p. 39-43.
- Stamenovic, D. and N. Wang, (2000) Engineering approaches to cytoskeletal mechanics. *J. Appl. Physiol.*, **89**: p. 2085-2090.
- Stamenovic, D., Z. Liang, J. Chen, and N. Wang, (2002 -a) Effect of the cytoskeletal prestress on the mechanical impedance of cultured airway smooth muscle cells. *J. Appl. Physiol.*, **92**(4): p. 1443-1450.
- Stamenovic, D., S.M. Mijailovich, I.M. Tolic-Norrelykke, J. Chen, and N. Wang, (2002 -b) Cell prestress. II. Contribution of microtubules. *Am. J. Physiol. Cell Physiol.*, **282**: p. C617-C624.
- Steucek, G.L. and O.R. Anderson, (1987), Use of Finite Element Methods in Cytomechanics: Study of the Mechanical Stability of the Skeletal Basal Plate of Callimitra, a Biomineralizing Protozoan., in *Cytomechanics: the mechanical basis of cell form and structure*, J. Bereiter-Hahn, Editor. p. 46-53.
- Sultan, C., M. Corless, and R.E. Skelton, (2001) The prestressability problem of tensegrity structures: some analytical solutions. *Int. J. Solids & Structures*, **38**: p. 5223-5252.

- Theret, D., M.J. Levesque, M. Sato, R.M. Nerem, and L.T. Wheeler, (1988) The Application of a Homogeneous Half-Space Model in the analysis of Endothelial Cell Micropipette Measurements. *Journal of Biomechanical Engineering*, **110**: p. 191-199.
- Thoumine, O., (1996) Control of Cellular Morphology by Mechanical Factors. *Journal of Physics III*, **6**: p. 1555-1566.
- Thoumine, O., A. Ott, and D. Louvard, (1996) Critical Centrifugal Forces induce Adhesion Rupture or Structural Reorganization in Cultured Cells. *Cell Motility and the Cytoskeleton*, **33**.
- Thoumine, O. and A. Ott, (1997) Time scale dependent viscoelastic and contractile regimes in fibroblasts probed by microplate manipulation. *Journal of Cell Science*, **110**: p. 2109-2116.
- Thoumine, O. and A. Ott, (1997) Comparison of the mechanical properties of normal and transformed fibroblasts. *Biorheology*, **34**(4/5): p. 309-326.
- Turner, C.H. and F.M. Pavalko, (1998) Mechanotransduction and functional response of the skeleton to physical stress: The mechanisms and mechanics of bone adaptation. *Journal of Orthopaedic Science*, **3**: p. 346-355.
- Valberg, P.A. and D.F. Albertini, (1985) Cytoplasmic motions, Rheology and structure probed by a novel magnetic particle method. *The Journal of Cell Biology*, **101**: p. 130-140.
- Valberg, P.A. and H.A. Feldman, (1987) Magnetic particle motions within living cells (Measurement of cytoplasmic viscosity and motile activity). *Biophysics Journal*, **52**: p. 551-561.
- Vassart, N. and R. Motro, (1999) Multiparametered Formfinding method. Application to Tensegrity Systems. *Int. J. Spaces Structures. Special Issue on Formfinding of Tension Systems*, **14**(2): p. 131-146.
- Volokh, K.Y., O. Vilnay, and M. Belsky, (2000) Tensegrity architecture explains linear stiffening and predicts softening of living cells. *Journal of Biomechanics*, **33**: p. 1543-1549.
- Wachsstock, D.H., W.H. Schwarz, and T.D. Pollard, (1993) Affinity of α -Actinin for Actin determines the structure and mechanical properties of actin filament gels. *Biophysical Journal*, **65**(July 1993): p. 205-214.

- Wachsstock, D.H., W.H. Schwarz, and T.D. Pollard, (1994) Cross-linker dynamics determine the mechanical properties of actin gels. *Biophys J*, **66**(3 Pt 1): p. 801-9.
- Wang, H., I. Wallace, R. Boissy, and E.S. Grood, (1995) Cell orientation response to cyclically deformed substrates: experimental validation of a cell model. *Journal of Biomechanics*, **28**(12): p. 1543-1552.
- Wang, N., J. Butler, and D. Ingber, (1993) Mechanotransduction across the cell surface and through the cytoskeleton. *Science*, **260**: p. 1124-1127.
- Wang, N. and D.E. Ingber, (1994) Control of Cytoskeletal Mechanics by Extracellular Matrix, Cell Shape and Mechanical tension. *Biophysical journal*, **66**: p. 1-9.
- Wang, N., (1998) Mechanical interactions among cytoskeletal filaments. *Hypertension*, **32**(1): p. 162-5.
- Wang, N., K. Naruse, D. Stamenovic, J.J. Fredberg, S.M. Mijailovich, I.M. Tolic, T. Polte, R. Mannix, and D.E. Ingber, (2001) Mechanical behavior in living cells consistent with the tensegrity model. *Biophysics*, **98**(14): p. 7765-7770.
- Wang, N., I.M. Tolic-Norrelykke, J. Chen, S. Mijailovich, J.P. Butler, J.J. Fredberg, and D. Stamenovic, (2002) Cell prestress. I. Stiffness and prestress are closely associated in adherent contractile cells. *Am. J. Physiol. Cell Physiol.*, **282**: p. C606-C616.
- Wang B-B, (1998) Cable-Strut Systems: Part I - Tensegrity. *J. Construct. Steel Res.*, **45**(3): p. 281-289.
- Wendling, S., (1997), Loi de Comportement d'une Structure de Tenségrité Élémentaire: Application à la Mécanique Cellulaire, in *Faculté des Sciences et Technologie*. Université Paris 12-Val de Marne. p. 125.
- Wendling, S., C. Oddou, and D. Isabey, (1999) Stiffening response of a cellular tensegrity model. *Journal of Theoretical Biology*, **196**(3): p. 309-325.
- Wendling, S., C. Oddou, and D. Isabey, (2000 -a) Approche structurale de la mécanique du cytosquelette : Solide alvéolaire vs modèle de tenségrité. *Compte Rendu de l'Académie des Sciences, Série IIb (Biomécanique)*, **328**: p. 97-104.

- Wendling, S., E. Planus, V.M. Laurent, L. Barbe, A. Mary, C. Oddou, and D. Isabey, (2000 -b) Role of cellular tone and microenvironmental conditions on cytoskeleton stiffness assessed by tensegrity model. *Eur. Phys. J. AP*, **9**: p. 51-62.
- Wendling, S., P. Cañadas, C. Oddou, and A. Meunier, (2002) Interrelations between elastic energy and strain in a tensegrity model; contribution to the analysis on the mechanical response in living cells. *Computer Methods in Biomechanics and Biomedical Engineering*, **5(1)**(1-6).
- Wendling, S., P. Cañadas, and P. Chabrand, (2003) Toward a generalized tensegrity model describing the mechanical behaviour of the cytoskeleton structure. *Computer Methods in Biomechanics and Biomedical Engineering*, **1**: p. 1-8.
- Wirtz, H.R. and L.G. Dobbs, (2000) The effects of mechanical forces on lung functions. *Respiratory physiology*, **119**: p. 1-17.
- Wu, H.W., T. Kuhn, and V.T. Moy, (1998) Mechanical properties of L929 cells measured by atomic force microscopy: effects of anticytoskeletal drugs and membrane crosslinking. *Scanning*, **20**: p. 389-397.
- Yamada, S., D. Wirtz, and S.C. Kuo, (2000) Mechanics of living cells measured by laser tracking microrheology. *Biophysical Journal*, **78**: p. 1736-1747.
- Zaner, K.S. and P. Valberg, (1989) Viscoelasticity of F-actin measured with magnetic microparticles. *Journal of Cell Biology*, **109**: p. 2233-2243.

MODELE DE TENSEGRITE VISCOELASTIQUE POUR L'ETUDE DE LA REPONSE DYNAMIQUE DES CELLULES ADHERENTES

Résumé :

Un modèle de tensegrité viscoélastique (MTV) composé de 6 barres quasi-rigides et de 24 câbles viscoélastiques est développé et son comportement mécanique est étudié dans les domaines temporel et fréquentiel pour comprendre le rôle joué par la déformation structurale du cytosquelette dans la réponse cellulaire en petites et grandes déformations. Des simulations numériques de tests de fluage ainsi que d'oscillations imposées sont effectuées, permettant d'établir des lois de dépendance entre d'une part les propriétés viscoélastiques normalisées globales (modules d'élasticité E^* , de viscosité η^* et constante de temps τ^*) du MTV et, d'autre part, le niveau de déformation globale (ϵ), des paramètres locaux définis à l'état de référence (longueur L^* et tension interne T^* normalisées) et la fréquence imposée d'oscillations (f). L'augmentation de T^* induit une augmentation du module d'élasticité (E^*) et une diminution de la constante de temps normalisée (τ^*), le MTV étant l'objet de processus de rigidification ($E^* \propto T^{*0.5}$) et de solidification ($\tau^* \propto T^{*-0.4}$) tandis que le module de viscosité normalisé apparaît peu dépendant de T^* ($\eta^* \propto T^{*0.1}$). De plus, l'augmentation de la fréquence imposée entraîne des processus de rigidification ($E^* \propto f^{*0.2}$), de dilution ($\eta^* \propto f^{*-0.2}$) et de solidification ($\tau^* \propto f^{*-0.4}$). Ces résultats numériques sont en accord avec les résultats expérimentaux obtenus sur cellules vivantes notamment le faible rôle du tonus cellulaire sur la viscosité cellulaire est à rapprocher de $\eta^* \propto T^{*0.1}$ alors que l'effet d'échelle (taille de sonde) est en accord avec les processus d'assouplissement et de dilution ($E^* \propto L^{*-2}$ et $\eta^* \propto L^{*-2}$). Appliqué à l'échelle microcellulaire en utilisant les propriétés des biopolymères qui composent le cytosquelette, le présent modèle de tensegrité viscoélastique apporte une évaluation prédictive du rôle de la redistribution spatiale des éléments sur les propriétés mécaniques de l'architecture cellulaire.

Mots-clés : Viscosité structurale ; cytosquelette ; réorganisation spatiale ; rhéologie cellulaire ; fluage ; oscillations imposées ; dépendance en fréquence

A VISCOELASTIC TENSEGRITY MODEL TO STUDY THE DYNAMICAL RESPONSE OF ADHERENT CELLS

Abstract:

A viscoelastic tensegrity model (VTM) composed of 6 quasi-rigid bars and 24 viscoelastic cables is developed and its mechanical response is studied in both time and frequency domains in order to understand the role of the cytoskeleton structure in the cellular response during small and large deformations. Numerical simulations of both creep tests and forced oscillations are performed to determine the governing laws relating the global normalised viscoelastic properties (elasticity modulus E^* , viscosity modulus η^* and time constant τ^*) of the VTM to (i) the level of global deformation (ϵ), (ii) the local parameters defined at the reference state (normalised length L^* and internal tension T^*) and (iii) the imposed oscillatory frequency (f). When T^* increases, the elasticity modulus (E^*) increases while the time constant (τ^*) decreases, the VTM behaviour being characterized by stiffening ($E^* \propto T^{*0.5}$) and solidifying ($\tau^* \propto T^{*-0.4}$) processes, whereas the normalised viscosity modulus appears not significantly dependent on T^* ($\eta^* \propto T^{*0.1}$). Moreover, increasing forced frequency results in stiffening ($E^* \propto f^{*0.2}$), watering ($\eta^* \propto f^{*-0.2}$) and solidifying ($\tau^* \propto f^{*-0.4}$) processes. These numerical results are in satisfactory agreement with the experimental results reported in living cells; in particular, the non significant role of the internal tension on the cellular viscosity could be related to $\eta^* \propto T^{*0.1}$ while the scale effect (probe size) appears in agreement with both softening and watering processes ($E^* \propto L^{*-2}$ et $\eta^* \propto L^{*-2}$). When applied at the microcellular level by including the properties of the cytoskeletal biopolymers, the present viscoelastic tensegrity model seems to provide a consistent predictive evaluation of the contribution of the spatial reorganisation of CSK elements to the mechanical properties of the cellular architecture

Keywords: Structural viscosity ; cytoskeleton ; spatial reorganisation ; cellular rheology ; creep test ; forced oscillations ; frequency-dependent
