

Mémoire de recherche

Modélisation et simulation 3D des interactions cellules/matrice

Thomas SAUVAGET

Responsables du stage :

M.M. Philippe TRACQUI (TIMC-Dynacell) et Emmanuel PROMAYON (TIMC-GMCAO)

Équipe Dynacell

Laboratoire TIMC-IMAG
CNRS UMR 5525
Université Joseph Fourier
Faculté de Médecine,
Domaine de la Merci,
38706 La Tronche cedex,
FRANCE

Sommaire

<i>Remerciements</i>	<i>ii</i>
1 Introduction	1
2 Problématique biologique	2
3 Le modèle	6
4 Simulations, résultats & discussion	8
5 Conclusions et perspectives	18
Annexes :	
A) Symboles, unités, ordres de grandeur	19
B) À propos de la notion de tensegrité	20
C) Bibliothèque de phymulobs et générateurs automatiques	21
D) Quelques remarques théoriques sur le modèle	22
Bibliographie	23

Remerciements

Tout d'abord, je voudrai beaucoup remercier M.M. Tracqui & Promayon : j'ai vraiment appris beaucoup de choses grâce à vous et mon sujet de stage m'a bien plu !

Ensuite, je remercie, pour ce qu'ils m'ont apporté, les enseignants du DEA MIMB, ainsi que les membres de l'équipe DynaCell et du groupe de travail Bio-Info.

Et puis bien sûr, merci à tous les étudiants du DEA pour nos nombreuses et toujours très sympa pauses café, pique-niques et soirées !!

Enfin, je remercie très profondément tous les membres ma famille pour leur affection et leur intérêt pour mes études : je leur dédie ce modeste mémoire.

Thomas

Nous remercions le CNRS pour le financement du présent projet, dans le cadre d'un appel d'offre Bio-Informatique pour la période 2000/2002.

«*Non omnia possumus omnes.*»

Virgile, *Églogues*, VIII, 63.

1. Introduction

La simulation numérique de modèles de phénomènes physiques est désormais une pratique courante dans la quasi totalité des disciplines scientifiques. Dans les Sciences de la Vie, son impact va grandissant.

En effet, les cellules qui composent les êtres vivants sont des objets physiques d'une très grande complexité. Elles présentent une activité propre, qui est constamment modulée par le biais de couplages avec leur milieu, qu'ils soient de nature biochimique (signalisation, adhésion), ou mécanique (déformations et contraintes). Dans ce contexte, la modélisation et la simulation de telles entités est une étape incontournable pour espérer synthétiser la masse colossale de données qui s'accumule continuellement [1]. Ces étapes s'avèrent ainsi particulièrement délicates. Nous présentons, dans ce mémoire, un modèle pour effectuer certaines de ces simulations.

L'organisation de ce document est la suivante : tout d'abord, nous introduisons notre problématique, dite de mécanotransduction, et montrons que des effets mécaniques cruciaux sont ignorés dans les grands programmes de recherche actuels de simulation cellulaire (partie 2). Nous présentons alors un modèle qui tient compte de ces effets mécaniques (partie 3). Nous caractérisons ensuite ce modèle, et montrons qu'il est adapté à la simulation d'expériences de microrhéologie cellulaire (partie 4). Enfin, nous concluons cette étude et donnons plusieurs axes de recherche pour des développements futurs (partie 5).

2. Problématique biologique

2.1 Biologie cellulaire et simulation numérique

Ces dernières années, se sont mis en place plusieurs projets de recherche visant à modéliser un type cellulaire donné de façon aussi complète que possible, en prenant en compte une grande part des réactions biochimiques intracellulaires mises en jeu. Il s'agit essentiellement de trois programmes : au Japon, du projet dénommé E-Cell [2], et aux États-Unis du projet Virtual Cell [3] et de l'Alliance For Cellular Signalling [6].

Pour comprendre les atouts mais aussi les limites de ces projets, nous présentons succinctement Virtual Cell [3, 4, 5], les deux autres projets n'en différant que par certaines méthodes numériques ou certaines bases de données, mais ayant une philosophie générale très similaire.

La figure 1 résume l'organisation des programmes développés par Schaff et ses collaborateurs.

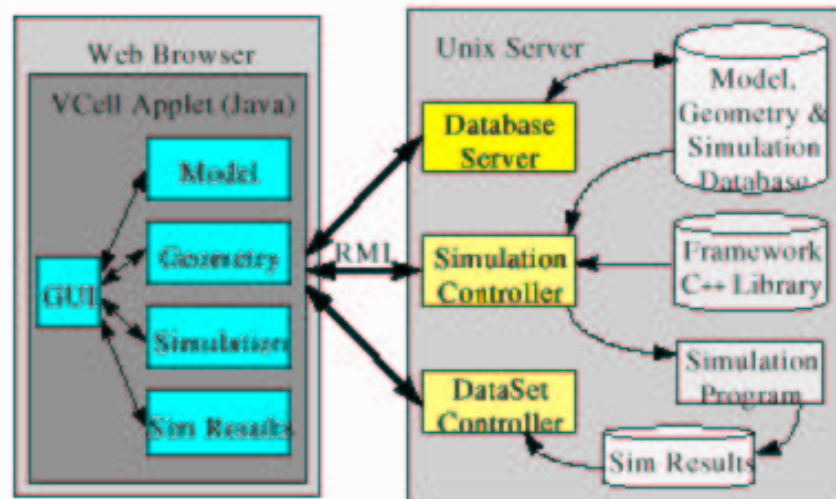


FIGURE 1. Architecture distribuée du logiciel de simulation de Virtual Cell, d'après Schaff et al. [3].

L'utilisateur est invité à spécifier (dans un environnement graphique stocké en local) un modèle d'un phénomène à simuler en décrivant tout d'abord les variables, les paramètres (issus d'une base de données associée) et un jeu d'équations les reliant («model»), et qui sont du type Équations Différentielles Ordinaires (EDO) ou aux Dérivées Partielles (EDP). Ensuite, l'utilisateur précise un domaine fixe en deux dimensions («geometry»), qui peut être par exemple le contour d'une cellule, dans lequel les équations entrées précédemment sont intégrées numériquement (par des méthodes classiques du type Runge-Kutta...). Les calculs se font sur un serveur dédié, et les résultats sont visualisés par l'utilisateur *via* l'interface graphique.

Ce logiciel a été utilisé avec succès notamment dans l'étude de la concentration d'Inositol-1,4,5-triphosphate nécessaire pour que se produise un pic de calcium cytosolique [4], ainsi que la génération d'ondes calciques par ces mêmes causes dans des neuroblastomes [5]. Le logiciel simule de façon très précise ces ondes sur une durée d'environ 16 secondes, et dans tout le corps cellulaire.

Néanmoins, et comme tous les modèles, ce projet possède un certain domaine d'application, hors duquel d'autres effets doivent nécessairement être pris en compte dans la simulation. Ici, outre le fait que

ce modèle permet de générer seulement des simulations à deux dimensions spatiales, le principal facteur limitant est celui de la géométrie fixe du domaine d'étude, comme nous allons le voir dans le paragraphe suivant.

2.2 Mécanotransduction

Nous nous appuyons ici largement sur quatre revues très récentes [7, 8, 9, 10], auxquelles nous renvoyons le lecteur pour plus de détails.

Toutes les cellules possèdent un cytosquelette. Dans la plupart d'entre elles (i.e. à l'exception des érythrocytes), il est formé par trois types de filaments (filament d'actine, filaments intermédiaires et microtubules), qui s'étendent à travers le cytoplasme, sont interconnectés¹ et qui subissent un *turnover* continu. Le noyau se trouve ainsi lové dans une sorte de pelote fibreuse. En bref, le cytosquelette est donc une structure hautement dynamique, et qui présente un rôle considérable dans l'activité cellulaire (notamment au cours de la division, et dans le trafic intracellulaire). À ce propos, une récente hypothèse faite à son sujet est qu'il pourrait servir de guide le long duquel des molécules pourraient diffuser rapidement, évitant les organelles, et sans même avoir recours à des moteurs moléculaires de type complexe d'actomyosine (qui nécessitent une consommation d'ATP) [11].

Une cellule présente également des liaisons physiques avec son environnement (autres cellules ou Matrice Extra-Cellulaire, que l'on abrègera en MEC). Ces zones présentent une complexité et une hétérogénéité qui est encore loin d'être entièrement analysée. Nous citons Adams [8] :

[...] Cell-matrix contacts serve several major purposes : to anchor elements of the ECM at the cell surface; to form a continuous physical linkage between ECM and elements of the cytoskeleton that is needed for cell adhesion and locomotion ; to act as localised sites for transmission of mechanical force and elastic recoil between cells and extracellular matrix, and to act as sites for localised activity of signalling molecules. [...]

Certaines d'entre elles, les points focaux (celles qui servent d'ancrage à la MEC), sont des structures transientes, elles aussi sujettes à un *turnover* ainsi qu'à une diffusion dans la membrane cellulaire. Elles ont été l'objet d'études plus poussées que les autres types de contacts de par leur rôle dans la migration cellulaire. De nombreux représentants de la famille des intégrines y ont été identifiés, et en sont un des composants essentiels. Ces molécules sont qualifiées [10] de mécanorecepteur, et sont à la base du phénomène de mécanotransduction : elles transforment un stimuli mécanique en une cascade de signalisation intracellulaire.

Nous avons pu, dans le cadre de ce stage, assister à un colloque international sur le thème de la biomécanique des cellules et des tissus [12]. De nombreux auteurs (Chien, Shyy, McIntire, ...) y ont présenté des exemples de gènes régulés par une contrainte de cisaillement, comme celle qu'exerce le flux sanguin sur les cellules endothéliales, et plus généralement, ils ont montré toute la complexité et l'enchevêtrement de nombreuses voies de signalisation liées en amont à des stimuli mécaniques. Le nombre assez élevé de participants (environ 140 pour 106 communications et 388 auteurs) montre bien l'intérêt que suscite ces problématiques actuelles de biomécanique.

2.3 Modèles cytomécaniques théoriques

Depuis une quinzaine d'années, divers modèles de l'architecture du cytosquelette ont été proposés pour rendre compte de données expérimentales, ou bien pour chercher les rôles possibles d'une telle structure. En effet, cet élément structural crucial entraîne que «a eukariotic cell cannot be modeled generally as a "well-mixed bag of molecules" without grossly oversimplifying important aspects of signaling regulation»[10].

¹encore que les caractéristiques précises des ces associations soient toujours sujettes à des recherches actives

Le concept ayant retenu le plus l'attention est celui de structure de tensegrité, proposé par Ingber vers le milieu des années 1980 ². Un fait biologique qui en est à l'origine est que l'on remarque, chez les cellules immobiles sur un substrat tel une MEC, la formation de grosses fibres (faisceaux de filaments d'actine) à travers le corps cellulaire, et qui se terminent par des point focaux. L'ajout de cytochalasine D pour dépolimériser ces faisceaux d'actine entraîne un changement de forme de la cellule, si bien que l'on peut formuler l'hypothèse que s'y était emmagasiné une certaine tension, qui permettait à la cellule de conserver sa forme. Le modèle d'Ingber va plus loin et stipule que le cytosquelette consiste en une structure précontrainte où les microtubules supportent tous les efforts de compression à l'intérieur du cytoplasme, et que ceux-ci sont inclus ça et là dans un réseau continu de filaments d'actine qui, eux, supportent uniquement des tensions. Ce modèle expliquerait les changements de formes de la cellule, mais aussi des effets non locaux, et encore l'augmentation linéaire de la rigidité avec la contrainte appliquée.

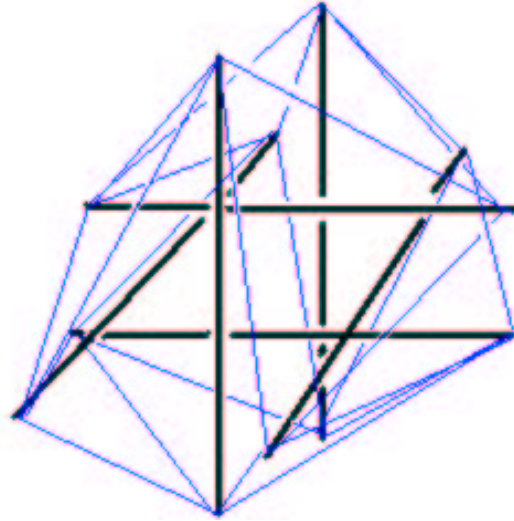


FIGURE 2. Structure de tensegrité proposée par Ingber comme unité élémentaire du cytosquelette. Les barres sont en noir et les câbles en bleu. Inspiré de [16].

Des études quantitatives ont été menées sur des structures de tensegrité simple, dont celle que présente la plupart du temps Ingber, et qui consiste en 6 éléments rigides (microtubules) reliés entre eux par 24 câbles (microfilaments d'actine). Ainsi, très récemment, Volokh et ses collaborateurs [13] ont montré, sur une structure modifiée dont les barres peuvent flamber et dont les câbles ont un comportement d'élongation unilatéral, que l'on peut observer une augmentation linéaire de la rigidité avec la contrainte appliquée, avec un régime transient de diminution de cette rigidité pour de faibles contraintes.

Par ailleurs, pour des unités élémentaires, les travaux de Wendling et ses collaborateurs [14, 15] ont montré une augmentation de la rigidité en fonction de la contrainte appliquée, et, toujours pour de faibles déformations, une relation $E^* = C \times \frac{1}{(L^*)^2}$ (C étant une constante) entre le module de Young apparent de telles structures et un paramètre d'échelle L^* . Toujours selon ces auteurs, cette relation, lorsqu'on y injecte les valeurs des paramètres issues de la littérature, suggère que les structures responsables de la rigidité dans le cas d'une architecture de type tensegrité ont les dimensions des fibres de tension, et pas celles du réseau d'actine ; ceci serait un critère qui pourrait permettre, avec de nouvelles expériences, de trancher à propos de ce modèle. Il est vrai que celui-ci très controversé [16]. De plus, lors du colloque précédemment cité [12], D. Stamenović a déclaré, en commentant les résultats de ses toutes dernières expériences : «I propose one step back : keep the idea of internal tension and forget about tensegrity».

D'autres modèles de l'architecture du cytosquelette s'appuient sur les concept de mousses alvéolaires [15], ou encore de réseau de percolation [17]. Pour ces modèles aussi, l'aspect le plus important est celui des dimensions structurelles caractéristiques. Dans le cas de la mousse alvéolaire, la rigidité proviendrait

²Une vue d'ensemble de la littérature sur le thème «structure de tensegrité» est proposée dans l'annexe B.

du réseau d'actine, et ces dimensions structurelles caractéristiques seraient donc de trois ordres de grandeurs inférieurs à celles des structures de tensegrité.

2.4 Disparité des données expérimentales

Les mesures effectuées en microrhéologie cellulaires sont faites avec une très grande variété d'appareils : microbilles magnétiques, microplaques, micropipettes, ... On pourra consulter la revue [18] pour d'autres exemples encore. On constate que les données obtenues pour un même paramètre montrent des différences importantes selon la méthode utilisée, pour un même type cellulaire³. Ceci reflète sans doute la très grande inhomogénéité des propriétés mécaniques d'une même cellule, pour une même technique de mesure, ainsi que l'ont mis en évidence plusieurs travaux récents réalisés par l'équipe de Sackmann [19, 20, 21].

Dans ce contexte, le récent travail de Guilak et Mow [22], qui consiste en la modélisation des interactions cellules/matrices par la méthode des Éléments Finis, en considérant la cellule et la matrice comme de milieux homogènes, montre les limites des approches traditionnelles, incapables de spécifier des structures impliquées dans les aspects locaux étudiés.

2.5 Cahier des charges pour la simulation des interactions cellules/matrice

Il ressort des divers éléments exposés précédemment quelques aspects incontournables pour espérer réaliser des simulations réalistes des interactions des cellules avec leur milieu :

- il faut pouvoir traiter les cellules comme des objets dynamiques, déformables et tridimensionnels ;
- les aspects biochimiques doivent pouvoir se coupler aux déformations ;
- afin de pouvoir introduire des propriétés structurelles et de ne rien perdre des effets induits par les variations des propriétés locales du cytoplasme, le modèle doit être discret ;
- la solution informatique adoptée doit utiliser autant que possible des langages et bibliothèques standards, pour des raisons évidentes de performances, de maintenance et d'évolutivité.

³Dans l'annexe A, nous présentons quelques tableaux récapitulatifs.

3. Le modèle

Nous allons maintenant présenter un modèle qui satisfait au cahier des charges établi dans la partie précédente.

3.1 Programmation Orientée Objet & Modèles générateurs

E. promayon, dans sa thèse sur la simulation de l'activité respiratoire [23], avait développé un modèle info-physique tridimensionnel qu'il a ensuite appliqué à la simulation de certaines expériences de biologie cellulaire [24].

Le cœur de ce modèle consiste en l'utilisation des principes de la Programmation Orientée Objet, unanimement reconnus pour leur haut degré de cohérence et de souplesse d'utilisation. Le modèle a été ainsi entièrement développé en C++ ; de plus, tout ce qui concerne l'interface graphique est actuellement réécrite en java par E. Promayon.

Dans ce cadre, a été implémenté ce que l'on appelle un modèle générateur, basé sur l'intégration d'équations de la physique, ici, la loi fondamentale de la dynamique. Les entités que l'on veut modéliser sont définies par un ensemble hiérarchique d'objets. Ceux de la couche élémentaire sont appelés des *éléments*. Ils ont des propriétés propres (notamment une masse, et une liste de voisins). On peut ensuite regrouper des éléments au sein d'une *région*. Il existe actuellement quatre types de région (et donc d'éléments, puisqu'un élément appartient toujours à une certaine région) : *élastique*, *musculaire*, *solide* et *couche*. Enfin, en décrivant des relations entre plusieurs régions on crée un fichier de type *phymulob* (pour PHYSically-based MULTiparts OBject), qui porte l'extension *.pdo*. Pour générer un tel fichier, on peut soit l'écrire à la main, en utilisant la syntaxe simple mise au point par E. Promayon, soit utiliser les classes du modèle pour écrire un programme qui générera automatiquement le phymulob de son choix⁴. L'interface graphique permet également de réaliser facilement diverses transformations élémentaires comme des translations, des homothéties, et aussi le positionnement de façon interactive, à la souris.

3.2 Mémoire de forme locale

Puisque nous voulons pouvoir simuler des objets discrets déformables, il faut introduire une notion d'élasticité (que l'on aura alors à étudier en regard des théories physiques existentes). Pour cela, E. Promayon a défini un concept de mémoire de forme locale. Il est de nature computationnelle⁵.

Une configuration de référence étant choisie, on associe à chaque élément E_i trois paramètres de forme, déduits de la position des voisins. La séquence est la suivante :

- calcul de l'isobarycentre G_i des voisins ;
- calcul de la moyenne $\vec{N}_i = \frac{\sum_j \vec{n}_j}{\|\sum_j \vec{n}_j\|}$ des normales aux facettes F_j dont E_i est un sommet ;
- calcul d'un vecteur \vec{v} normal à \vec{N}_i ;
- calcul d'un vecteur $\vec{u} = \vec{N}_i \times \overrightarrow{G_i E_i}$;
- les trois paramètres sont alors $\alpha = (\vec{N}_i ; \overrightarrow{G_i E_i})$, $\beta = (\vec{u} ; \vec{v})$, et $\gamma = \|\overrightarrow{G_i E_i}\|$.

⁴Nous présentons dans l'annexe C les fichiers et programmes que nous avons créés au cours de ce stage.

⁵Pour quelques remarques théoriques à ce sujet, voyez l'annexe D.

Ensuite, dès que l'un des éléments sera déplacé au cours de la simulation, par exemple sous l'action d'une force imposée par l'utilisateur, il sera calculé, à partir de ses paramètres de repos et de la position actuelle de ses voisins, une position dite *attracteur* (intuitivement, on considère que cette position est la moins mauvaise pour conserver une forme similaire), et il sera généré pendant une itération un rappel élastique vers cet attracteur. À l'itération suivante, si l'attracteur a bougé, l'élément E_i sera attiré pendant une itération vers cette nouvelle position, etc. Par conséquent, la région atteindra un équilibre si à un instant tous les éléments sont confondus avec leur attracteur, que l'on n'ajoute ni ne modifie aucune force à partir de cet instant, et qu'à l'itération suivante tous les éléments restent confondus avec leur attracteur.

L'intensité de la force générée par cette mémoire de forme locale, que nous noterons W_i peut être spécifiée pour *chaque* élément de la région élastique considérée. Nous avons profité de cette possibilité pour définir une transformation qui réalise une homogénéisation de cette grandeur en fonction du voisinage, pour tous les éléments d'une même région (voir l'annexe D).

Dans la figure ci-dessous sont représentés les paramètres de forme locale associés à un élément E_i .

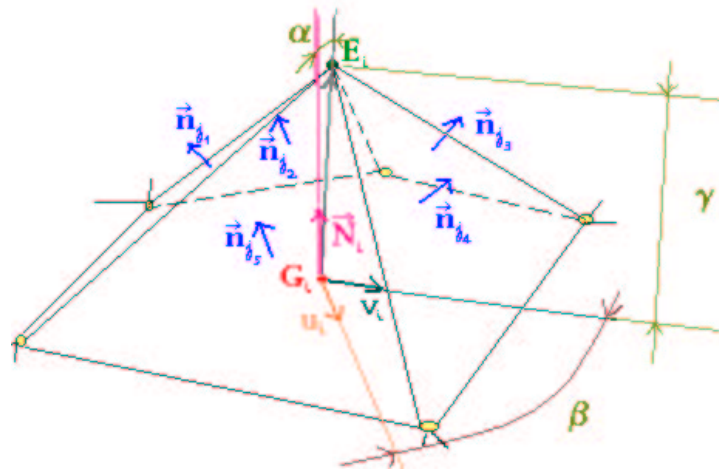


FIGURE 3. Illustration des divers vecteurs et paramètres définissant la mémoire de forme locale.

Par ailleurs, pour certains types de voisinage, on peut considérer la région comme une surface. La connaissance des pseudo-normales \vec{N}_i permet alors de définir une contrainte de volume constant en temps réel, en effectuant à chaque itération un déplacement des éléments correspondants selon ces pseudo-normales [25].

3.3 Génération de simulations

Les simulations proprement dites sont lancées par un script qui spécifie entre autre :

- le fichier .pdo à utiliser ;
- des paramètres tels que le pas de temps (la méthode numérique utilisée étant à pas fixe), le nombre d'itérations, ...
- le nom du fichier qui contient les informations concernant les forces que l'utilisateur désire appliquer à certains éléments au cours de la simulation.

Ce dernier fichier utilise une syntaxe XML mise au point depuis peu par E. Promayon, afin de permettre des simulations plus complexes que celles qui étaient possibles jusqu'à présent. Dans un futur proche, il sera également possible d'appliquer des moments à une région dans son ensemble.

La grande majorité des simulations que nous allons maintenant présenter ont été effectuées de cette manière.

4. Simulations, résultats & discussion

4.1 Validation du modèle générique

Afin de pouvoir donner une signification physique aux divers paramètres du modèle, et notamment à W , l'intensité de la force de mémoire de forme locale, nous avons procédé à une comparaison entre les résultats théoriques de la Mécanique des Milieux Continus (MMC) et ceux de diverses simulations, dans des cas de petites et grandes déformations.

Nota : le paramètre W caractérise l'intensité de la force de mémoire de forme locale dans une région *indépendamment* de l'interconnectivité des éléments qui la définisse (voir annexe D).

PETITES DÉFORMATIONS

Au premier abord, nous constatons une grande différence entre les deux approches :

- d'une part, les paramètres issus de la MMC en élasticité linéaire (à savoir le module de Young E et le coefficient de Poisson ν) qui permettent de caractériser un matériau ;
- d'autre part, l'intensité de la force de mémoire de forme locale dans la région, et des paramètres structurels : nombre d'éléments et définitions des voisinages.

Notre démarche est la suivante : tout d'abord, pour chaque structure étudiée, nous cherchons une relation entre E , ν et W ; ensuite, nous comparerons les relations obtenues pour diverses structures.

Flèche d'une plaque carrée soumise à une charge statique.

On s'intéresse aux faibles déformations d'une plaque supportée sur son contour, et soumise à une charge statique au centre de la face du dessous, comme indiqué sur la figure suivante :

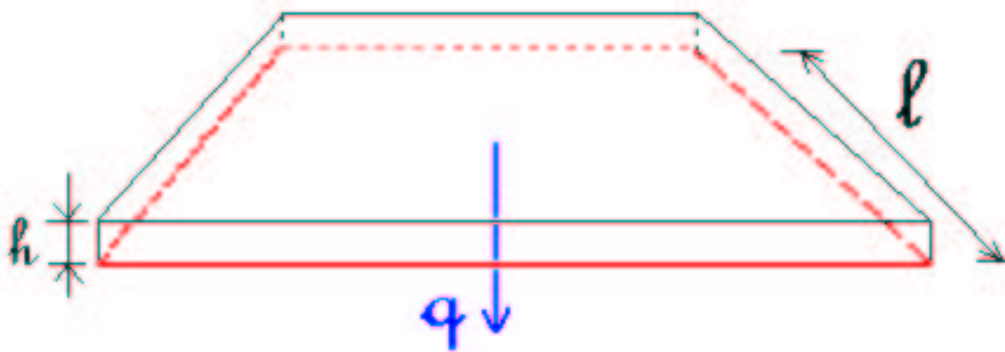


FIGURE 4. Schéma de principe. En rouge est figurée la zone d'appui.

Une formule analytique existe [26], elle donne la flèche χ à l'équilibre en fonction du côté l , de la hauteur h , et de la charge statique q :

$$\chi = 12 \frac{0,0116 q l^4 (1 - \nu^2)}{E h^3}, \quad \text{pour } \nu = 0,3$$

Ainsi, connaissant la valeur d'une flèche et les dimensions de la plaque, on peut en déduire E . Nous avons soumis une région élastique définie par 14 éléments (les 8 sommets et les milieux des 6 faces), à diverses charges, en faisant l'hypothèse que le maillage correspond à la situation $\nu = 0,3$. On s'attend à ce que le module de young équivalent que l'on va obtenir grâce à l'expression analytique reste constant pour ces divers chargements. Les résultats que nous avons obtenus sont résumés sur les graphiques suivants :

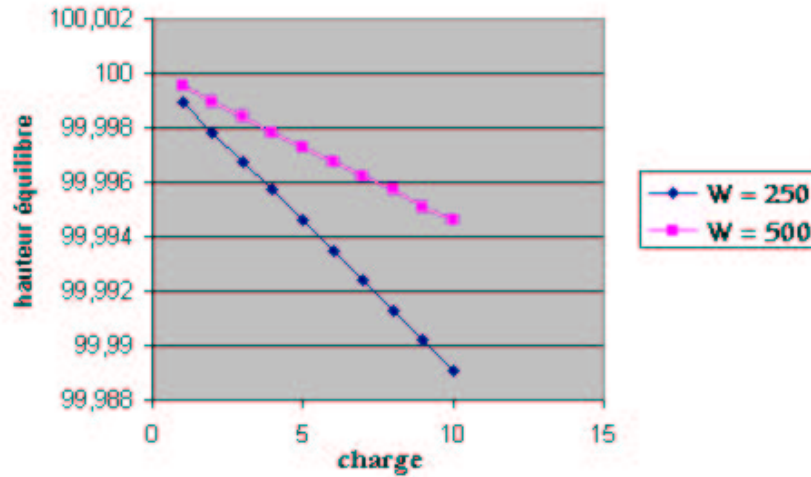


FIGURE 5. Réponse linéaire du modèle.

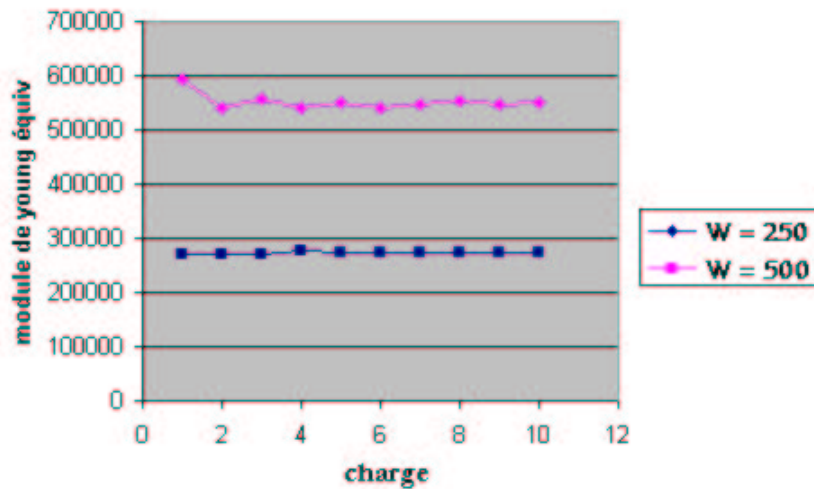


FIGURE 6. Module de young équivalent constant.

Sous ces hypothèses, il semble donc que $E = 1120 W$ soit la relation que l'on cherchait pour notre structure.

Expérience classique d'indentation.

Il s'agit ici de simuler un pavé soumis à un chargement statique de même intensité sur deux faces opposées, et qui se fait perpendiculairement à ces faces et dans des sens opposés. Classiquement, on peut déduire des petits déplacements à l'équilibre les valeurs de E et ν pour le matériau.

Nous avons fait plusieurs simulations avec des régions élastiques ayant différents maillages ou nombres d'éléments. Cependant, les résultats sont difficiles à interpréter, et continuent d'être sujet à réflexion.

Module de cisaillement d'une sphère.

Si l'on soumet une sphère d'épaisseur constante à deux faibles charge statiques égales et de sens opposé en deux points diamétralement opposés, on peut déduire (élasticité linéaire) de la variation du diamètre transversal à celui qui contient les deux points où sont appliquées les charges, un module dit de cisaillement μ [27], qui est caractéristique du matériau dont est fait la sphère. Si l'on note D_0 le diamètre initial, le diamètre transversal à l'équilibre pour une charge q vaut $D = D_0 - \frac{q}{2\pi\mu}$.

Nous avons donc soumis des régions élastiques sphériques, ayant différents nombres d'éléments, à divers chargement statiques, et nous en avons déduit un module de cisaillements équivalent. Les résultats que nous avons obtenus sont intéressants. Tout d'abord, ils sont cohérents pour une même structure : on retrouve bien la relation linéaire précédente. Ensuite, pour obtenir une même valeur de μ avec deux structures ayant un nombre d'éléments différents et un W identique, nous pensons, et ce travail est à poursuivre, que l'on pourrait établir une relation approximative entre le nombre n d'éléments et W , à savoir $Wn^\alpha \simeq \text{constante}$, où α reste à déterminer.

GRANDES DÉFORMATIONS

Les déformations cellulaires peuvent être très grandes (lors de la division, pendant les phases de migration à travers un endothelium, ...), si bien qu'il est nécessaire d'étudier aussi le comportement du modèle pour de telles déformations. Les résultats analytiques dans le domaine de l'hyperélasticité sont rares. Nous nous sommes appuyé sur un très récent article de Dai & Bi [28], dans lequel ces auteurs établissent une expression analytique pour les déformations d'un cylindre constitué d'un matériau neo-hookien incompressible, et soumis à une charge statique sur la face du haut, la face du bas étant fixée.

Nous avons réalisé une région élastique ayant ses éléments disposés à la surface du cylindre, et les voisinages ont été établis de façon à pouvoir appliquer la contrainte de volume constant, afin de satisfaire au critère d'incompressibilité. La figure suivante montre un profil de solution analytique et le profil que nous avons obtenu :

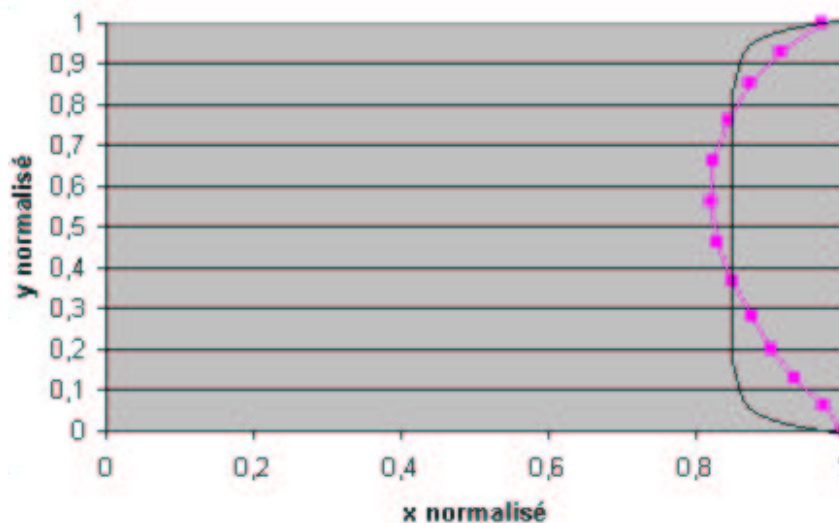


FIGURE 7. En rose, le profil obtenu par simulation ; en noir, un profil analytique pour des valeurs similaires de x .

La légère asymétrie du profil obtenu par notre région élastique pourrait s'expliquer par le fait que la face qui est soumise à la charge n'est pas contrainte à garder son diamètre fixe, alors que c'est une des hypothèses sous-jacente à l'obtention de l'expression analytique.

Ces simulations montrent que cette structure ne se comporte pas comme un matériau neo-hookien ; le profil obtenu fait plutôt penser au très connu caténoïde, qui est une surface minimale. Ceci correspond davantage à l'intuition que l'on peut avoir d'une telle région cylindrique surfacique⁶. En définitive, c'est bien une *surface* que l'on a modélisé dans ce cas ; la simulation d'un *volume* incompressible demande donc une modification de l'algorithme de contrainte de volume constant. En effet, si l'on rajoutait des liens pour créer un maillage de volume, par exemple entre deux éléments diamétralement opposés, les nouvelles pseudo-normales obtenues seraient très éloignées des normales géométriques, et conduiraient à des simulations abérantes.

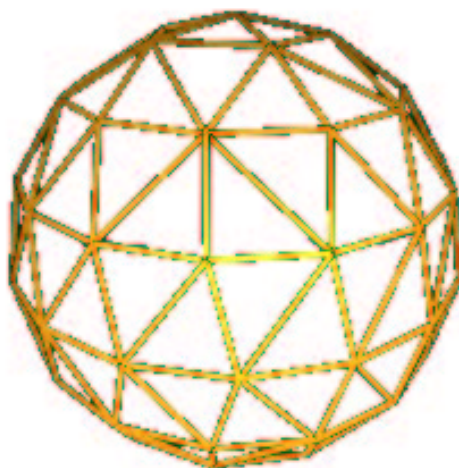
4.2 Application : simulation d'expériences de microrhéologie cellulaire

PROPRIÉTÉS ÉLASTIQUES DE L'ÉRYTHROCYTE HUMAIN

Les simulations de petites déformations d'une sphère que nous avons présentées précédemment peuvent être appliquées immédiatement à l'expérience de mesure du module de cisaillement de l'érythrocyte humain par pinces optiques [27]. Une première phase de ce travail, concernant le cas d'un érythrocyte en milieu hypotonique (cellule sphérique) avait été effectuée par E. Promayon et présentée lors d'un récent congrès [24] ; le cas de l'érythrocyte en milieu isotonique avait ensuite été abordé, d'abord qualitativement, par l'auteur, à l'occasion de la journée thématique de l'équipe DynaCell [29], et quantitativement dans les paragraphes suivants.

Hénon et ses collaborateurs ont, dans leur étude, utilisé un modèle de l'érythrocyte discoïde consistant en deux membranes élastiques circulaires superposées, ceci afin de pouvoir exprimer le diamètre transversal en fonction de la charge appliquée et des deux paramètres d'élasticité μ et K . Ils ont ensuite fait une approximation valide permettant de n'avoir plus qu'un seul paramètre qui exprime l'élasticité de la membrane, ce qui rend une comparaison avec notre modèle, qui ne possède lui aussi qu'un seul paramètre, plus aisée.

Nous avons ainsi, pour simuler les deux états de l'érythrocyte, créé une région sphérique et une région biconcave, qui sont représentées dans la figure suivante :



⁶En effet, la face latérale d'un cylindre est à courbure de Gauss nulle. Or l'algorithme de contrainte de volume constant effectuée dans notre cas précis un petit déplacement selon une pseudo-normale qui est aussi une normale à la face latérale. Donc l'action de la force de mémoire de forme, qui ici revient exactement à minimiser la courbure, n'est pas perturbée par la contrainte de volume constant, et l'on obtient ainsi une surface presque minimale.

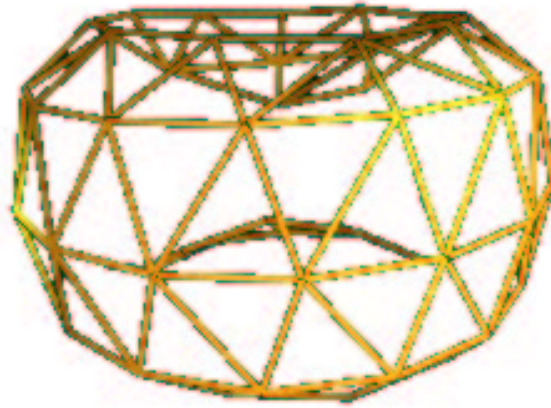


FIGURE 8. Les deux régions utilisées pour modéliser les différentes formes de l'érythrocyte.

Dans toutes nos simulations, nous avons fixé l'unité de longueur du modèle comme étant le micromètre, et l'unité de force comme étant le dixième de picoNewton. Les résultats que nous avons obtenus sont les suivants :

(a) lorsque $W = 90$, nous trouvons un module de cisaillement équivalent de $1,9 \mu N/m$ pour la région sphérique, et de $3,0 \mu N/m$ pour la région discoïde biconcave, les valeurs moyennes expérimentales étant dans les deux cas $\mu = 2,5 \pm 0,4 \mu N/m$.

(b) inversement, pour obtenir $\mu = 2,5 \mu N/m$, il faut que $W = 110$ pour la région sphérique, $W = 75$ pour la région discoïde biconcave (ce qui donne donc en moyenne $W = 92,5 \pm 17,5$).

En supposant une relation linéaire entre W et μ dans les deux cas : $W = \ell_{sphérique}\mu$ et $W = \ell_{discoïde}\mu$, les résultats de (a) donnent $\ell_{sphérique} = 47,36$ et $\ell_{discoïde} = 30$, et ceux de (b) donnent $\ell_{sphérique} = 44$ et $\ell_{discoïde} = 30$.

Il semble donc que, pour les structures que nous avons utilisées, nous puissions relier le module de cisaillement d'un érythrocyte à notre paramètre W d'une façon simple, et que cette relation dépende de la forme concernée.

EXPÉRIENCE DE MICROPLAQUES

Il y a quelques années, Thoumine et Ott ont pu mettre en évidence, par des critères temporels, un régime viscoélastique et un régime contractile dans des fibroblastes d'embryon de poulet, et ont utilisé pour cela une technique de microplaques [30]. Cela consiste tout d'abord à rendre des microplaques de verre adhérentes par un traitement à l'acide sulfochromique et à l'éthanol. Ensuite, une cellule est disposée entre deux plaques, l'une rigide et l'autre légèrement flexible, de manière à obtenir un signal lié à sa déflexion quand un micromanipulateur la déplace.

Nous allons nous intéresser ici à des aspects qualitatifs importants : il s'agit de reproduire la déformation d'une cellule dans une telle expérience, lorsqu'elle est maintenue pendant longtemps en extension. La photographie suivante illustre cette situation :

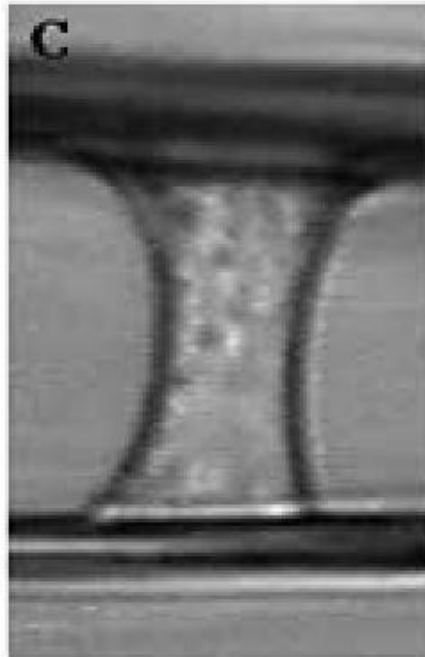


FIGURE 9. *Fibroblaste soumis à une traction par des microplaques, d'après [30].*

Pour simuler ces déformations, nous avons écrit un phymulob qui nous a servi de base pour ensuite être complété de plusieurs façon, pour tester différentes hypothèses. Ce fichier de base consiste en quatre régions :

- une première région élastique sphérique comportant 80 éléments, pour modéliser la membrane cellulaire ;
- à l'intérieur de celle-ci a été placée une seconde région élastique, plus petite et également sphérique comportant 80 éléments, pour modéliser la membrane nucléaire ;
- enfin, deux régions rigides circulaires, auxquelles la région-membrane est fixée, jouent le rôle des plaques. Nous les avons faites circulaires puisque ce nous intéresse est uniquement la façon dont se déforment les régions élastiques, nous n'avons donc besoin de modéliser que la région de contact en la cellule et les microplaques. Les régions-plaques sont de plus contraintes à rester fixes au cours des simulations.

Par ailleurs, nous nous sommes appuyé sur de récentes données [31] pour fixer W_{noyau} à un niveau quatre fois supérieur à celui de $W_{membrane}$. (N'ayant pas davantage de données, nous avons fixé $W_{membrane}$ à 100, soit légèrement moins que dans le cas de l'érythrocyte sphérique.)

Afin de modéliser un volume, et ainsi de coupler la région-membrane à la région-noyau, nous devons créer des liens entre les éléments de ces deux régions. Ceci peut se faire soit de manière directe, soit indirectement en intercalant entre celles-ci d'autres régions, qui permettent de modéliser les inhomogénéités du cytoplasme.

Dans une première simulation, nous avons assigné à chaque élément de la région-noyau un et un seul voisin dans la région-membrane, en plus de ses voisins dans la région-noyau. Nous avons alors imposé une elongation à la cellule en déplaçant une des plaques, puis nous avons observé l'évolution des régions élastiques. Nous avons constaté un équilibre dans la configuration suivante :

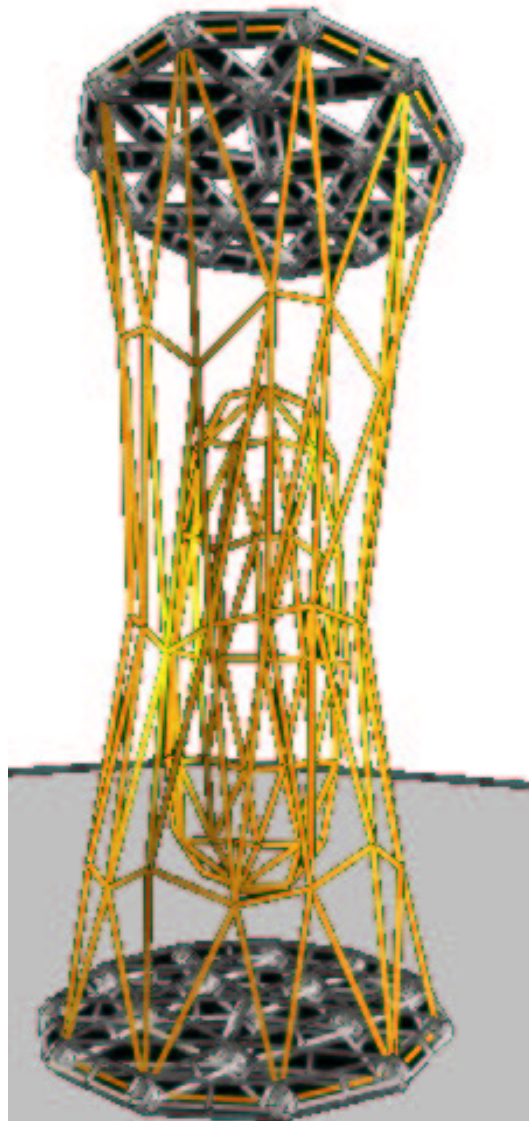


FIGURE 10. Configuration à l'équilibre d'un phymulob simulant une élongation prolongée.

Qualitativement, cela se révèle tout à fait concluant. Nous pouvons, ainsi, visualiser la déformation du noyau sous ces hypothèses de rappel élastique homogène entre membrane et noyau.

Pour inclure des inhomogénéités internes, nous avons ajouté au phymulob de base une troisième région élastique, intercalée entre les deux autres. Cette région-inhomogénéité est constituée de 12 éléments, et elle a la forme d'un icosaèdre. Nous avons alors lié certains éléments de la région-noyau à ces 12 éléments, et ceux-ci ont à leur tour été liés à certains éléments de la région-membrane. Nous avons alors envisagé trois cas :

- $W_3 \ll W_1 < W_2$, qui correspond à un cytoplasme présentant une couche externe très molle par rapport à sa couche interne ;
- $W_1 = W_3 < W_2$, qui correspond aux données de la littérature [31] , avec en plus l'introduction d'inhomogénéités ;
- $W_1 < W_3 = W_2$, qui correspond à un cytoplasme inhomogène, à comparer à notre première simulation.

Les figures suivantes montrent les configurations à l'équilibre dans ces trois cas :

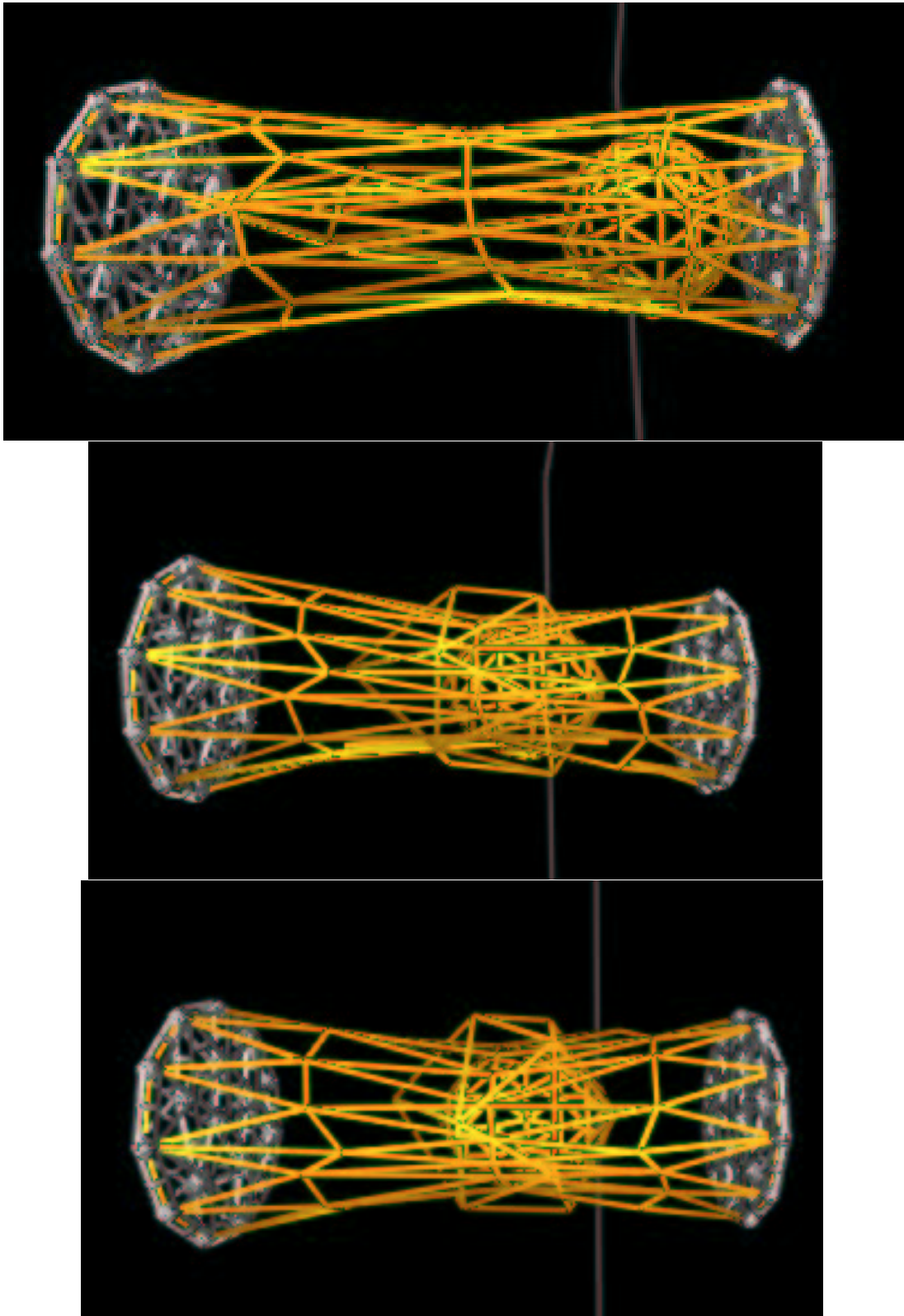


FIGURE 11. De haut en bas, configuration à l'équilibre dans les trois cas détaillés dans le texte.

Dans le premier, on constate que les liens élastiques sont trop faibles pour entraîner le noyau, qui reste quasiment dans sa position initiale.

Dans les deux dernières configurations, notons tout d'abord que le fait que l'isocaèdre sorte allègrement des limites de la membrane vient du fait que la gestion des collisions n'a pas encore été implémentée.

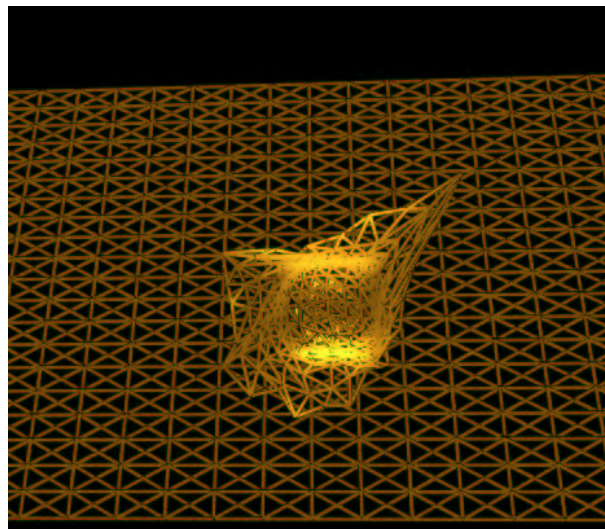
Cette absence nous offre néanmoins des renseignements. Ainsi, dans les deux cas l'icosaèdre a presque retrouvé sa forme d'origine, indiquant que la différence d'un facteur quatre entre les élasticités du noyau et du cytoplasme, pour les niveaux adoptés ici, ne modifie que très légèrement l'état de déformation final du noyau.

INTERACTIONS CELLULE/MATRICE

Nous en arrivons enfin à une dernière application, qui était l'objectif de ce mémoire. Il s'agit d'étudier, dans le cas d'une cellule adhérent à une matrice, l'effet d'un étirement de la matrice sur le noyau, afin d'explorer plus avant le couplage mécanique de ces différentes entités.

Nous avons, pour cela, créé une cellule faite d'une région-membrane à 218 éléments, à l'intérieur de laquelle se trouve une région-noyau de 80 éléments, dont certains ont pour voisin un élément de la région-membrane. Une grande région élastique plane de plus de 800 éléments modélise la MEC. Certains éléments de cette dernière ont pour voisin un élément de la membrane, et en retour ces éléments de la membrane ont reçu pour voisin l'élément correspondant dans la région-matrice, ceci pour modéliser les points focaux.

Nous avons alors étiré la région-matrice de 20% selon un axe contenu dans son plan, puis nous avons laissé évoluer l'ensemble. Les figures suivantes montrent le phymulob (a) avant la première itération, la matrice ayant été étirée, (b) quelques instants après le début de la simulation, (c) proche d'une configuration d'équilibre.



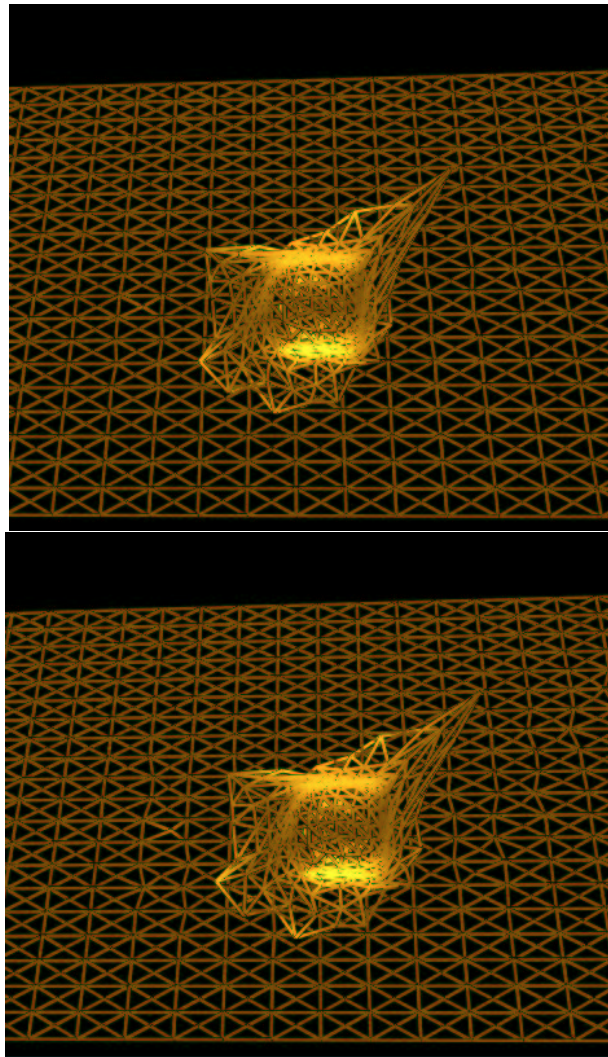


FIGURE 12. *De haut en bas, configurations avant la première itération, au cours de l'évolution, et proche de l'équilibre.*

Nous pouvons observer une réorganisation de la région-membrane et de la région-matrice, de légers plissements apparaissant et se maintenant dans cette dernière.

L'effet sur le noyau existe, même s'il reste faible dans notre cas. Ainsi, notre modèle suggère que l'existence d'un certain niveau de couplage mécanique entre le noyau et la membrane (par le biais d'un cytosquelette, certes en constante réorganisation dynamique, mais fournissant à chaque instant un tel couplage), peut permettre la transmission de contraintes entre membrane et matrice jusqu'au noyau.

4.3 Discussion

Pour résumer les informations obtenues par nos simulations, nous pouvons distinguer les éléments suivants :

- sur le plan générique, le modèle peut, dans certain cas (flèche d'une plaque), être rapproché des résultats de la MMC, mais son caractère non-intuitif rend difficile la mise au point de phymulob capables d'établir des similitudes plus poussés ;
- sur un plan appliqué, on constate les très fortes potentialités du modèle, qui permettent de retrouver des résultats expérimentaux (module de cisaillement d'un érythrocyte), et d'obtenir des résultats qualitatifs très probants (expérience de microplaques, interactions cellules/matrice).

5. Conclusions & perspectives

Un modèle informatique à éléments physiques discrets a été présenté pour permettre, dans des simulations de biologie cellulaire, la prise en compte d'effets mécaniques.

Après avoir étudié le modèle générique, nous avons présenté plusieurs applications à la biologie cellulaire. La richesse de notre modèle y a été mise en évidence par les bons résultats quantitatifs ou qualitatifs obtenus.

Bien d'autres façon de modéliser les cellules sont par ailleurs possibles, et l'ajout d'un plus grand nombre de régions entre celles modélisant la membrane et le noyau est, à notre avis, un piste à explorer.

En ce qui concerne la problématique des modèles d'architecture du cytosquelette (structures de tenségrité ou de mousse alvéolaire), nos simulations de l'expérience de microplaques de Thoumine et Ott révèlent que l'inclusion d'une structure discrète à l'intérieur du cytoplasme module fortement la déformation du noyau (figure 10 contre figure 11c).

Notons aussi que l'implémentation de structures de tenségrité dans notre modèle a été effectuée au cours de notre stage, si bien que l'on pourrait avoir accès à leur comportement dans des situations où les solutions analytiques sont hors d'atteinte.

Par ailleurs, le cadre de la Programmation Orientée Objets adopté ici va permettre de nombreux développements de ce modèle, notamment

- (a) l'amélioration de la gestion des contacts entre régions solides et élastiques ;
- (b) la gestion des collisions entre les objets, de façon à pouvoir faire des simulations d'une grande complexité dynamique ;
- (c) le calculs de concentrations de divers substances biochimiques en chaque élément, ainsi que leur couplage aux déformations cellulaires, par l'utilisation de ALP, une bibliothèque de calcul du laboratoire dont les possibilités ont été grandement accrues tout récemment.

Sur un plan fondamental, une meilleure compréhension théorique du modèle, en termes d'algorithmes de calculs et d'influence des paramètres, est incontournable. L'implémentation de forces de viscosité est aussi nécessaire, car les cellules se comportent de manière viscoélastique [31], voire viscoplastique [21].

Ces prochaines étapes franchies, la prise en compte et la simulation de phénomènes très complexes, comme les forces activement générées par les cellules par divers processus biochimiques, ou bien au contraire la modulation de certaines cascades de signalisation à partir de stimuli mécaniques, sera alors possible.

Annexes

A) Symboles, unités, ordres de grandeurs

Les ordres de grandeurs couramment rencontrés en microrhéologie cellulaire sont faibles, et ont parfois nécessité l'introduction de nouvelles unités, dérivées du Système International, qui soient plus maniables.

Symbole	Équivalent en unité S.I.	Exemple
μm	10^{-6} mètre	les cellules mesurent généralement entre $10\mu m$ et $40\mu m$.
pN	10^{-9} Newton	Les forces générées activement dans le cytoplasme de <i>Dictyostelium discoideum</i> sont de l'ordre de $200 pN$ [21].
dyn/cm^2	10^{-5} Newton / 10^{-2} mètre carré	Des niveaux de quelques dizaines de dyn/cm^2 sont généralement induits sur les cellules dans les dispositifs expérimentaux à flux de liquide.

Les données expérimentales concernant les propriétés élastiques, locales ou globales, des cellules, montrent de grandes différences dans les valeurs obtenues, selon le protocole opératoire employé, le type cellulaire, voire la zone exacte de la mesure. Le tableau suivant a été réalisé d'après les valeurs rapportées dans plusieurs travaux récents [30, 31, 32].

Module de young d'une cellule

Valeur (MPa)	Type cellulaire	Origine de la citation
6,8	cellule musculaire lisse	[32]
1,2	cellule musculaire lisse	[32]
0,001	fibroblaste d'embryon de poulet	[30]
0,00025	chondrocyte	[31]

Par ailleurs, les valeurs du module de cisaillement de diverses portions du cytoplasme [20] varient de 20 à 735 Pa, avec une moyenne de 343 Pa. Dans une autre étude très récente [21], la constante d'élasticité du modèle théorique que ces auteurs utilisent reçoit des valeurs allant de 1 à 115 Pa.

B) À propos de la notion de tensegrité

Comme il a déjà mentionné (cf partie 2), des structures de tensegrité ont été proposées comme modèle, qualitatif au moins, de l'architecture du cytosquelette et de ses propriétés mécaniques. La littérature qui évoque de telles structures est variée, si bien que le même terme de *tensegrity (framework)* possède des connotations sensiblement différentes selon le domaine. Nous proposons ici un aperçu rapide de la littérature qui évoque de telles structures.

- Aspect mathématiques «pures»

C'est dans la branche dénommée *géométrie discrète* que l'on trouve des travaux, d'ailleurs assez récents, portant sur des structures de tensegrité : il s'agit essentiellement de l'article [33] de Connelly et Whiteley, ainsi que du catalogue en cours de réalisation (consultable en-ligne) réalisé par Connelly et Allen.

Ces auteurs ont formulés plusieurs notion de rigidité, et on établi des critères pour savoir si une configuration donnée est rigide. Outre la motivation purement mathématique, ces travaux permettent de donner des bases solides à certaines pratique que l'on rencontre dans l'ingénierie (condition sur le rang de certaines matrices, ...).

Par ailleurs, des notions de représentations irréductibles de groupes finis permettent une classification (non encore achevée) des structures spatiales dites «symmetric tensegrities». En effet, si l'on peut fort bien imaginer des structures ne présentant pas de symétries, leur étude est en revanche plus délicate.

- Aspect ingénierie

Dans les domaines de l'ingénierie civile ou aérospatiale, les structures de tensegrités sont de plus en plus employées, tant elles présentent des propriétés remarquables en terme de compromis stabilité/masse/encombrement. Les contributions à ce domaine sont nombreuses.

En France, Robert Motro et son équipe on développé des méthodes de calcul incrémentales qui permettent d'appréhender le comportement de certaines structures quand des charges leur sont appliquées [34]. On notera au passage que les effets de non linéarité de ces comportement dus à la géométrie des structures considérées peut être très important, et est à rapprocher des travaux de Wendling et de ses collaborateurs [14].

Aux États-Unis plusieurs équipes sont actives, avec des auteurs comme Skelton, Corless, Sultan, Murakami, et leurs collaborateurs. En particulier, Murakami et Nishimura ont très récemment déterminé les modes propres de structures cylindriques cycliques [35].

C) Bibliothèque de phymulob et générateurs automatiques

Au cours du stage, un grand nombre de phymulob ont été créés, soit «à la main» (i.e. en écrivant directement le fichier correspondant dans le format .pdo développé par E. Promayon), soit par le biais de générateurs automatiques écrits à cette occasion (en C++ et en utilisant les classes du modèle). Le détail de ces fichiers est le suivant :

C.1 Bibliothèque de fichiers générés «à la main»

CELLULES

Les phymulob utilisés dans les simulations d'expériences de microrhéologie cellulaire ont tous été réalisés à la main, sauf pour ce qui concerne l'homogénéisation de l'intensité de la force générée par la mémoire de forme locale, qui a été réalisée par l'option 7 du programme `transform`.

OBJETS DIVERS

Afin de tester plusieurs hypothèses (influence du nombre de voisins, du nombre total d'éléments), de nombreux petits fichiers de régions ayant des formes géométriques simples et peu d'éléments ont également été réalisés.

C.2 Générateurs automatiques

Dans chaque cas, une région aux dimensions fixées est générée (il suffit d'utiliser l'option `scale` de `transform` pour obtenir un phymulob aux dimensions désirées), et l'utilisateur doit spécifier des paramètres (entiers) liés au nombre total d'éléments de cette région.

- `cylindrecreux`

Ce programme génère une région ayant la forme de la face latérale d'un cylindre. Ce maillage privilégie les voisinages «le long des cercles». La syntaxe est la suivante :

```
cylindrecreux n1 n2 monfichier.pdo
```

où n_1 est le nombre d'éléments sur un cercle de bord et n_2 le nombre de couches élémentaires entre les deux bords.

- `cylindrecreuxferme`

Ce programme génère une région ayant la forme de la surface totale d'un cylindre. Ce maillage privilégie les voisinages «le long des cercles». La syntaxe est la suivante :

```
cylindrecreuxferme n1 n2 monfichier.pdo
```

où n_1 est le nombre d'éléments sur un cercle de bord et n_2 le nombre de couches élémentaires entre les deux bords.

- `feuille`

Génère un phymulob ayant la forme d'un carré dans un plan parallèle au plan support. Il a été utilisé pour la MEC dans notre simulation des interactions cellules-matrices. La syntaxe est la suivante :

```
feuille n1 n2 monfichier.pdo
```

où n_1 est le nombre d'éléments entre deux côtés opposés, et n_2 le nombre d'éléments entre les deux autres côtés.

D) Quelques remarques théoriques sur le modèle

D.1 Homogénéisation de l'intensité de la mémoire de forme locale

Le principe est le suivant : si E_i possède m_i voisins, on lui attribue $W_i = m_i \times W$, où W est un paramètre prenant la même valeur pour tous les éléments de la région considérée.

Cette façon d'attribuer l'intensité de la force de mémoire de forme est donc linéaire en le nombre de voisins. Au contraire, si l'on attribuait la même intensité W^* *globalement* à tous les éléments de la région, cela permettrait d'induire une, éventuellement forte, inhomogénéité. En effet, dans ce cas, une même petite perturbation $\overrightarrow{\delta X}$ de l'un des voisins sera moins ressentie pour un élément qui a beaucoup de connexions de voisinage par rapport à un élément ayant peu de voisins, ceci à cause de l'utilisation dans l'algorithme de l'isobarycentre G_i des voisins. Formellement, si l'on perturbe disons le voisin E_k , le nouvel isobarycentre G_i^* sera donné en fonction de l'ancien par :

$$\begin{aligned} \overrightarrow{OG_i^*} &= \frac{1}{m_i} \sum_j \overrightarrow{OE_j} \\ &= \overrightarrow{OG_i} + \frac{1}{m_i} \overrightarrow{\delta X} \end{aligned}$$

et l'on voit donc bien l'effet du nombre de voisins sur une même perturbation de l'un d'entre eux.

D.2 Quelques mots sur le schéma numérique utilisé

La loi fondamentale de la dynamique est intégrée par un schéma explicite d'ordre 1 à un pas (une sorte de schéma d'Euler bouclé sur tous les éléments). L'utilisation d'un meilleur schéma, comme un classique Runge-Kutta d'ordre 4, ou à tous le moins une dérivation du pas optimal pour le schéma actuel, nous semble s'imposer.

Par ailleurs, l'algorithme, tel qu'il est pour l'instant utilisé, remet à zéro les vitesses avant de passer à l'itération suivante, et revient donc à introduire une énorme viscosité, d'autant plus grande que le pas de temps est petit. Nous avons mesuré son effet en simulant la chute libre, dans une gravité constante, d'une région solide. Pour un pas de temps $dt = 0,1$, la hauteur atteinte en 10 000 itérations représente environ 20% de la valeur théorique. Ce procédé de fort amortissement fait partie intégrante du modèle, car c'est cela qui permet de réaliser des simulations convaincantes, mais une étude du concept de mémoire de forme locale sans cet artifice, en prenant éventuellement des intensités très faibles, reste à faire.

Bibliographie

- [1] Doyle J. (2001). Beyond the spherical cow. *Nature* 411 : 151-152.
- [2] Tomita M., ???? (1999). E-CELL : software environment for whole cell simulation. *Bioinformatics* 15(1) : 72-84.
- [3] Schaff J. & Loew L. M. (1999). The Virtual cell, *Pacific Symposium on Biocomputing* 4 : 228-239.
- [4] Fink C. C., Slepchenko B., Loew L. M. (1999). Determination of time-dependent Inositol-1,4,5-triphosphate concentration during calcium release in a smooth muscle cell. *Biophys. J.* 77 : 617-628.
- [5] Fink C. C., Slepchenko B., Moraru I. I., Watras J., Schaff J. C., Loew L. M. (2000). An image-based model of calcium waves in differentiated neuroblastoma cells. *Biophys. J.* 79 : 163-183.
- [6] Alliance For Cellular Signalling. <http://cellularsignaling.org>.
- [7] Zhu C., Bao G., Wang N. (2000). Cell mechanics : mechanical response, cell adhesion and molecular deformation. *Annu. Rev. Biomed. Eng.* 02 : 189-226.
- [8] Adams J. C. (2001). Cell-matrix contact structures. *Cell. Mol. Life Sci.* 58(3) : 371-392.
- [9] Sastry S. K., Burrige K. (2000). Focal adhesions : a nexus for intracellular signaling and cytoskeletal dynamics. *Exp. Cell Res.* 261 : 25-36.
- [10] Asthagiri A. R., Lauffenburger D. A. (2000). Bioengineering models of cell signaling. *Annu. Rev. Biomed. Eng.* 02 : 31-53.
- [11] Shafir Y., ben-Avraham D., Forgacs G. (2000). Trafficking and signaling through the cytoskeleton : a specific mechanism. *J. Cell Sci.* 113 : 2747-2757.
- [12] Mechanobiology of Cells and Tissues. *Euromech Colloquium 420*, Nancy 24-26 April 2001.
- [13] Volokh K. Yu., Vilnay O., Belsky M. (2000). Tensegrity architecture explains linear stiffening and predicts softening of living cells. *J. Biomech.* 33 : 1543-1549.
- [14] Wendling S., Oddou C., Isabey D. (1999). Stiffening response of a cellular tensegrity model. *J. Theor. Biol.* 196(3) : 309-325.
- [15] Wendling S., Oddou C., Isabey D. (2000). Approche structurale de la mécanique du cytosquelette : solide alvéolaire vs modèle de tenségrité. *C. R. Acad. Sci. Paris, série II*, 328 : 97-104.
- [16] Ingber D. E., Heidemann S. R., Lamoureux P., Buxbaum R. E. (2000). Opposing views on tensegrity as a structural framework for understanding cell mechanics. *J. Appl. Physiol.* 89 : 1663-1678.
- [17] Forgacs G. (1995). On the possible role of cytoskeletal filamentous networks in intracellular signalling : an approach based on percolation. *J. Cell Sci.* 108 : 2131-2143.
- [18] Brown T. D. (2000). Techniques for mechanical stimulation of cells in vitro : a review. *J. Biomech.* 33 : 3-14.
- [19] Bausch A. R., Ziemann F., Boulbitch A. A., Jacobson K., Sackmann E. (1998). Local measurement of viscoelastic parameters of adherent cell surface by magnetic bead microrheometry. *Biophys. J.* 75 : 2038-2049.
- [20] Bausch A. R., Möller W., Sackmann E. (1999). Measurements of local viscoelasticity and forces in living cells by magnetic tweezers. *Biophys. J.* 76 : 573-579.
- [21] Feneberg W., Westphal M., Sackmann E., (2001). Dictyostelium cells' cytoplasm as an active viscoplastic body. *Eur. Biophys. J.* 30 : 284-294.

- [22] Guilak F., Mow V. C. (2000). The mechanical environment of the chondrocyte : a biphasic finite-element model of cell-matrix interaction in articular cartilage. *J. Biomech.* 33 : 1663-1673.
- [23] Promayon E. (1997). Modélisation et simulation de la respiration. Thèse de l'Université Joseph Fourier.
- [24] Promayon E., Martiel J.-L., Tracqui P. (2000). Physically-based 3D simulations of cellular traction forces, migration and cyto-kinesis of cells adherent to an elastic substratum. *SFB-Workshop on Simulations of Polymer and Cell Dynamics*, Bonn University 13-16 June 2000.
- [25] Promayon E. (2001). Real-time computation of volume constrained deformations. *en préparation*
- [26] Batoz J.-L., Dhatt G., (1993). Modélisation des structures par éléments finis, T2 (seconde édition). *Édition Hermès*.
- [27] Hénon S., Lenormand G., Richert A., Gallet F. (1999). A new determination of the shear modulus of the human erythrocyte membrane using optical tweezers. *Biophys J.* 76 : 1145-1151.
- [28] Dai H. H., Bi G. (2001). Exact solutions for the large axially symmetric deformation of a neo-hookean rod subjected to static loads. *Q. J. Mech. Appl. Math.* 54(1) : 39-56.
- [29] Sauvaget T., Promayon E., Tracqui P. (2001). Un modèle informatique à éléments physiques discrets de la cellule ; application à l'étude des propriétés élastiques de l'érythrocyte humain. *Journée thématique Contrôle de la migration et des déformations cellulaires : approches expérimentales et théoriques*, Grenoble 19 April 2001.
- [30] Thoumine O., Ott A. (1997). Time-scale dependent viscoelastic and contractile regimes in fibroblasts probed by microplate manipulation. *J. Cell Sci.* 110 : 2109-2116.
- [31] Guilak F., Tedrow J., R., Burgkart R., (2000). Viscoelastic properties of the cell nucleus. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 269 : 78-786.
- [32] Wakatsuki T., Kolodney M. S., Zahalak G. I., Elson E. L. (2000). Cell mechanics studied by a reconstituted model tissue *Biophys. J.* 79 : 2353-2368.
- [33] Connelly R., Whiteley W., (1996). Second-order rigidity and prestress stability for tensegrity frameworks. *SIAM J. Discrete Math.* 9(3) : 453-491.
- [34] Kebiche K., Kazi-Aoul M. N., Motro R., (1999). Geometrica non-linear analysis of tensegrity systems. *Eng. Struct.* 21 : 864-876.
- [35] Murakami H., Nishimura Y., (2001). Initial shape finding and modal analyses of cyclic right-cylindrical tensegrity modules. *Computers and Structures* 79 : 891-917.