

ÉCOLE DOCTORALE SCIENCES ET TECHNOLOGIES

Institut PRISME, Equipe Systèmes Robotiques Interactifs – SRI
en collaboration avec l'équipe Risque, Explosion, Structures - RES

THÈSE présentée par : **Hamid LADJAL**

Soutenance prévue le : **26 mai 2010**

Pour obtenir le grade de : **Docteur de l'université d'Orléans**

Discipline : **Robotique**

DÉVELOPPEMENT D'UN SIMULATEUR HAPTIQUE POUR LA CARACTÉRISATION ET LA MICROINJECTION CELLULAIRES

THÈSE dirigée par :

M. Antoine FERREIRA

Professeur, ENSI Bourges - Directeur de thèse

RAPPORTEURS :

M. Stéphane REGNIER

Professeur, Université Paris 6 Jussieu

M. Yacine AMIRAT

Professeur, Université Paris XII

JURY :

M. Jaydev P. DESAI

Professeur, Université du Maryland – Etats Unis

M. Stéphane REGNIER

Professeur, Université Paris 6 Jussieu

M. Yacine AMIRAT

Professeur, Université Paris XII

M. Pierre VIEYRES

Professeur, Université d'Orléans

M. Antoine FERREIRA

Professeur, ENSI Bourges

M. Jean-Luc HANUS

Maître de Conférences, ENSI Bourges, Co-encadrant

M. Serge RICHARD

Directeur Scientifique de la société CERB

Mme. Catherine POIROT

Professeur HP, Hôpital Pitié-Salpêtrière Paris

Remerciements

Un tel travail ne peut débiter sans remercier tous ceux qui, plus ou moins directement, ont contribué à le rendre possible. Cette thèse a été réalisée dans le cadre d'une convention CIFRE établie entre le Centre de recherches biologiques (CERB) et l'institut Prisme à l'ENSI de Bourges, l'université d'Orléans. Que tous les dirigeants reçoivent ici l'expression de ma gratitude.

Je voudrais exprimer tout premier lieu mes plus sincères remerciements à Monsieur Serge RICHARD, directeur scientifique du CERB qui a financé cette thèse et qui m'a permis d'effectuer cette thèse dans de très bonnes et très agréables conditions.

Je tiens à exprimer ma profonde reconnaissance à Monsieur Antoine FERREIRA et Monsieur Jean-Luc HANUS qui ont encadré mon travail ; leurs conseils éclairés et leurs commentaires précieux m'ont permis de surmonter mes difficultés et de progresser dans mon travail. Leur perfectionnisme, leur grande disponibilité et leur grande sympathie ont été pour moi un soutien immense.

J'adresse mes plus vifs remerciements à Monsieur Stéphane REGNIER, Professeur à l'université Paris 6 Jussieu, et à Monsieur Yacine AMIRAT, professeur à l'université Paris XII, d'avoir accepté d'être les rapporteurs de ce mémoire, pour la pertinence de leurs remarques, et leur participation au jury de thèse.

Je tiens à exprimer ma profonde reconnaissance à Monsieur Jaydev P.Dessai Professeur à l'université du Maryland, qui m'a honoré de sa présence à ma soutenance malgré la distance qui sépare Bourges de Maryland, de m'avoir présidé ma soutenance et m'accueilli au sein de son laboratoire à Maryland, USA.

J'exprime toute ma gratitude et mon respect aux autres membres du jury qui malgré un emploi du temps serré, m'ont tous fait l'honneur d'accepter de prendre part à ce jury et surtout de lire et d'expertiser mon travail : Monsieur Pierre VIEYRES Professeur à l'Université d'Orléans, Monsieur Serge RICHARD Directeur scientifique du CERB et Mme. Catherine POIROT Professeur HP, Hôpital Pitié-Salpêtrière Paris, examinateurs de la thèse.

Je tiens à exprimer ma profonde reconnaissance à Monsieur Jaydev P.Dessai Professeur à l'université du Maryland, qui m'a honoré de sa présence à ma soutenance malgré la distance qui sépare Bourges de Maryland, de m'avoir présidé ma soutenance et m'accueilli au sein de son laboratoire à Maryland, USA.

J'adresse mes remerciements au directeur de l'ENSI de Bourges Joël Allain, de m'avoir accueilli au sein de son école tout au long de ma thèse, ainsi qu'au personnel de l'école, qui m'a permis d'effectuer cette thèse dans de très bonnes conditions de travail. Je tiens également à adresser mes plus sincères remerciements à tous les personnels : l'ENSI de Bourges le, l'institut PRISME, le CERB, l'unité fonctionnelle : assistance medicale à la procreation biologie de reproduction, laboratoire RAMS à Maryland.

Au cours de ma thèse, j'ai eu l'occasion de faire un séjour de 5 mois au college Park, Maryland aux USA au laboratoire " RAMS " sous la direction de Monsieur Jaydev. P.Desai, Thank you very much to all the team for your welcome in the lab. I am looking forward to working with you again. Many thanks to Jaydev, Anand, Kevin, Jane Z.

Enfin, une pensée émue pour tous les amis avec qui j'ai partagé un bureau, un café ou un repas pendant ces années : Adel, Hazem, Mehdi, Michel, Mohamed, Moussa, Mohamed, Oussama, Pierre, Salim. Je n'oublie pas non plus les autres parmi lesquels je remercierai plus particulièrement : Catherine, Abdelhak, Antoine, Amine, Djamel, Farid, Faycal, Khaled, Janine, Naim, Youcef.

J'adresse un grand merci à toute ma famille qui a toujours été présente lorsque j'en ai eu besoin, en particulier mon père et ma mère, mes soeurs et mon frère.

Finalement je témoigne ma reconnaissance à ma famille, mes amis et mes proches, sans votre soutien et votre confiance rien n'aurait pu être fait.

Table des Matières

Table des Matières	i
Liste des Figures	vii
Liste des Tableaux	xiii
Introduction générale	1
Partie I : État de l'art de la Modélisation et la Simulation en Biomicromanipulation	1
1 Systèmes de Télé-Micromanipulation Biologiques	3
1.1 Introduction	4
1.2 Techniques d'assistance médicale à la procréation	4
1.2.1 Qu'est-ce que la Fécondation in vitro ?	4
1.2.2 Fécondation in vitro conventionnelle "classique"	5
1.2.3 Microinjection Intracytoplasmique de Spermatozodes (ICSI)	5
1.2.4 Phases spécifiques à la technique ICSI	6
1.2.5 Difficultés inhérentes à la microinjection et nécessité d'une assistance à la technique ICSI	7
1.3 Apports de la microrobotique aux manipulations biologiques	8
1.3.1 Généralités et applications de la biomicrorobotique	9
1.3.2 Systèmes de télémicroinjection biologique	10
1.3.2.1 Téléopération directe	11
1.3.2.2 Téléopération à retour d'effort	12
1.3.2.3 Téléopération en réalité augmentée	14
1.3.2.4 Téléopération semi-automatique et/ou automatique	15
1.3.3 Synthèse	21
1.4 Apports de la simulation aux systèmes de microinjection	21
1.4.1 Approche par modèles masse-ressort-viscosité (PRISME)	21
1.4.2 Approche par la méthode des éléments de frontière (KAIST)	23
1.5 Apports de la simulation à l'apprentissage du geste	24
1.5.1 Intérêt des simulateurs interactifs	24
1.5.1.1 Classification des simulateurs médicaux interactifs	25
1.6 Fonctionnalités recherchées pour un outil de simulation et d'assistance pour l'injection cellulaire	26

1.7	Conclusion	27
2	Comportement biomécanique de cellules biologiques	29
2.1	Réponse globale d'une cellule biologique	30
2.2	Organisation globale d'une cellule biologique	31
2.2.1	Structure cytoplasmique	32
2.2.2	Membrane plasmique	33
2.2.3	Noyau cellulaire	34
2.2.4	Cytosquelette	34
2.2.4.1	Réseau de filaments d'actine	35
2.2.4.2	Microtubules	35
2.2.4.3	Réseau de filaments intermédiaires	36
2.3	Modélisation de la réponse mécanique globale d'une cellule biologique	37
2.3.1	Première classe : modélisation globale de la cellule par un milieu continu	37
2.3.2	Deuxième classe : modèles énergétiques	41
2.3.3	Troisième classe : modèles micro/nano structuraux	42
2.3.3.1	Modèles de percolation	42
2.3.3.2	Modèles de mousses alvéolaires	43
2.3.3.3	Modèles de tenségrité	44
2.3.3.4	Extensions couplant approche tenségrité et approche continue . .	46
2.3.4	Conclusion	48
3	Méthodes numériques en biomécanique cellulaire	49
3.1	Introduction	49
3.2	Modèles non-physiques (géométriques)	50
3.3	Modèles physiques	52
3.3.1	Méthodes discrètes	52
3.3.1.1	Systèmes masses-ressorts	52
3.3.1.2	Réseaux de particules	54
3.3.2	Modélisations continues	55
3.3.2.1	Méthode de Terzopoulos	55
3.3.2.2	Méthodes SPH (Smoothed Particle Hydrodynamics)	55
3.3.2.3	Méthode des volumes finis (MVF)	56
3.3.2.4	Méthode des éléments longs (MEL)	57
3.3.2.5	Méthode des éléments frontières (BEM)	58
3.3.2.6	Méthode des éléments finis (MEF)	59
3.3.2.7	Extensions et améliorations de la méthode élément finis : vers des simulations réalistes/précises en temps réel	60
3.3.2.8	Techniques de pré-calculs et de condensation	61
3.3.2.9	Parallélisme	62
3.3.2.10	Techniques des éléments finis explicites	63
3.3.2.11	Approche de multi-résolution	64
3.3.2.12	Méthode de masses-tenseurs	64
3.3.2.13	Modèle hybride	65
3.3.2.14	Modèles de déformation globales : analyse modale	66
3.4	Méthodes meshless (sans maillage)	66
3.5	Conclusion	67

Partie II : Etude de la Réponse Mécanique d'une Cellule Biologique : Modélisation, Implémentation, Simulation et Validation Expérimentale **71**

4	Modélisation des déformations biomécaniques de cellules biologiques en temps réel	73
4.1	Introduction	74
4.2	Formulation de la méthode des masses-tenseurs en élasticité linéaire	74
4.2.1	Grandeurs inconnues, données et problème <i>continu</i> à résoudre	75
4.2.2	Formulation faible du problème <i>continu</i>	77
4.2.3	Discrétisation <i>spatiale</i> du problème : éléments-finis	78
4.2.3.1	Principe des travaux virtuels discrétisés	79
4.2.3.2	Élasticité linéaire	79
4.2.3.3	Éléments tétraédriques	80
4.2.3.4	Principe des travaux virtuels discrétisé sur un tétraèdre	82
4.2.4	Particularités de la résolution en approche masses-tenseurs	83
4.2.4.1	Efforts intérieurs	83
4.2.4.2	Forces d'inertie	84
4.2.4.3	Équation de mouvement d'un sommet	84
4.2.5	Discrétisation <i>temporelle</i> du problème : intégration dynamique	85
4.2.5.1	Schéma de Newmark généralisé	87
4.2.5.2	Stabilité numérique par critère de Courant-Friedrichs-Lewy	87
4.2.6	Synthèse : équation de mouvement discrétisée en temps et en espace	88
4.3	Modélisation d'une cellule biologique	89
4.3.1	Modélisation 3D d'une cellule biologique vue comme une structure cytosquelettique	89
4.3.1.1	Modélisation 3D du cytosquelette	89
4.3.1.2	Description de la structure de tenségrité choisie	90
4.3.1.3	Discrétisation de la structure de tenségrité	91
4.3.1.4	Comportement viscoélastique des câbles en utilisant le modèle masse-ressort-viscosité (MMRV)	93
4.3.2	Modélisation 3D d'une cellule biologique vue comme un solide incompressible	95
4.3.2.1	Analyse de résultats expérimentaux	96
4.3.2.2	Vers un modèle d'élasticité non linéaire	99
4.3.2.3	Modèle géométriquement non-linéaire : grands déplacements	101
4.4	Validation expérimentale sur des cellules biologiques flottantes de type ovocyte	104
4.4.1	Simulation avec un modèle de cytosquelette de type tenségrité	104
4.4.2	Simulation avec un modèle de solide élastique homogène incompressible	105
4.5	Validation expérimentale sur des cellules souches adhérentes	110
4.5.1	Pourquoi s'intéresser aux cellules souches ?	110
4.5.2	La microscopie à force atomique	111
4.5.2.1	Modes de fonctionnement d'un microscope à force atomique (AFM)	111
4.5.2.2	Modèles d'interaction entre la pointe AFM et une cellule biologique	113
4.5.3	Méthodologie de comparaison	119
4.5.4	Caractérisation géométrique et mécanique des cellules	120
4.5.5	Simulations éléments-finis statiques et masses-tenseurs dynamiques	125
4.6	Conclusion	129

Partie III : Modélisation des Interactions **131**

5	Modélisation des Interactions en temps réel	133
5.1	Introduction	133
5.2	Détection de collision	133
5.2.1	Algorithmes basés sur la gestion de la complexité géométrique	134
5.2.1.1	Recherche de proximité : subdivision spatiale	135
5.2.1.2	Méthodes de volumes englobants	136
5.2.1.3	Méthodes stochastiques	137
5.2.1.4	Accélération matérielle	138
5.2.1.5	Méthodes de détection de collisions multiples	139
5.2.2	Méthodes implémentées	140
5.2.2.1	Méthode adaptée au simulateur de microinjection cellulaire	140
5.2.2.2	Méthode adaptée au simulateur d'indentation AFM	143
5.2.2.3	Stabilité du rendu haptique en utilisant le couplage virtuel	144
5.2.2.4	Conditions de stabilité haptiques	147
5.2.2.5	Implémentation du couplage virtuel	147
5.3	Guides virtuels haptiques	148
5.3.1	Contrainte conique	148
5.3.2	Contrainte rectiligne	149
5.3.3	Conclusion	149
6	Implémentation et validation expérimentale	151
6.1	Introduction	152
6.2	Simulateur SIMIC	152
6.2.1	Environnement Matériel	152
6.2.2	Interface Utilisateur	153
6.2.3	Architecture logicielle	154
6.2.3.1	Phase pré-calculatoire	157
6.2.3.2	Phase d'interaction temps-réel	157
6.3	Mesures expérimentales et validation du simulateur interactif de micro-injection cellulaire	158
6.3.1	Description du dispositif et des conditions expérimentales	158
6.3.1.1	Système de micromanipulation robotique	158
6.3.1.2	Résultats expérimentaux	160
6.3.1.3	Validation expérimentale du simulateur	162
6.3.1.4	Résultats et analyse des performances	162
6.4	Mesures expérimentales et validation du simulateur interactif d'indentation AFM cellulaire	164
6.4.1	Description du dispositif et des conditions expérimentales	164
6.4.2	Préparation du milieu de culture cellulaire	165
6.4.3	Calibration : détermination de la constante de raideur du cantilever	166
6.4.4	Résultats expérimentaux	167
6.4.5	Validation expérimentale du simulateur	169
6.5	Conclusion	171
	Conclusion et Perspectives	1
	Synthèse Générale	1
	Perspectives futures	2
	A court terme	2
	A moyen terme	3

Bibliographie de l’auteur	5
Annexe A	1
.1 Modélisation et identification des axes X-Y-Z du micromanipulateur	1
.1.1 Modélisation	1
.1.2 Identification	1
.1.3 Résultats expérimentaux	2
.2 Synthèse de la commande	4
.2.1 Commande Loop Shaping : Choix des fonctions de pondération	4
Annexe B	1
.1 Caractéristique du capteur de force Aurora série 400A	1
.2 General Specifications	1
Annexe C	1
.3 Microscopie à force atomique de type <i>MFP3D – BIOTM Asylum Research Santa Barbara, CA</i>	1
.3.1 Technical Innovations	1
.3.2 MFP-3D Head : Low noise, eliminates interference	1
.3.3 MFP-3D XY Scanner : Precision and accuracy unlike any tube scanner . .	2
.3.4 Digital ARC2 Controller and Software Flexibility	2
.3.5 MFP-3D Base	2
.4 D’autres pointes d’indenteur utilisées dans nos expérimentations	2
.5 Simulation éléments finis d’une indentation d’AFM en utilisant une pointe conique	3
Bibliographie	7

Liste des Figures

1	Un sujet au carrefour de différentes disciplines.	2
1.1	Étapes de la FIV conventionnelle (a) Ovocyte englobé dans son cumulus, (b) Spermatozoïdes nageant dans un milieu de culture (c) Ovocytes en contact avec des spermatozoïdes.	5
1.2	Système de micro injection ICSI, (a) : prise de vue globale d'une station de microinjection, (b) : Technicien procédant à une ICSI, (c) : Vue de face du microscope optique et des deux micromanipulateurs, (d) : Zoom sur les deux micro-pipettes avec une boîte de Petri.	6
1.3	Les étapes de la micro injection ICSI : (a) Le spermatozoïde est dans la pipette de microinjection, (b) La pipette de microinjection perce la membrane de l'ovocyte, (c) La pipette est engagée jusqu'au centre de l'ovocyte, (d) Le spermatozoïde est introduit dans l'ovocyte, (e) La pipette de microinjection est retirée, résultats : (f) Ovocyte fécondé présentant 2 pronucléi et 2 globules polaires.	7
1.4	Différents domaines de la microrobotique.	9
1.5	Échelle des objets, techniques d'observation et forces rencontrées dans le domaine de la micro/nano manipulation (MO : Microscope optique, AFM : Microscope à force atomique, STM : Microscope à effet tunnel, MEB : Microscope électronique à balayage.)	10
1.6	Schéma d'une structure de télémicroinjection maître-esclave couplée avec une interface virtuelle	11
1.7	Système de biomicromanipulation développé par [171].	12
1.8	Système de biomicromanipulation développé par [86] pour la caractérisation des propriétés biomécaniques de cellules de poisson zèbre.	13
1.9	Système de biomicromanipulation développé par [196].	13
1.10	Système de biomicromanipulation développé par [140] afin d'évaluer le rôle du retour haptique.	14
1.11	Système de biomicroinjection en réalité augmentée basé sur le retour visuel développé par [4]	15
1.12	Système de biomicroinjection assisté par les techniques de réalité augmentée développé par [148].	16
1.13	Système de biomicromanipulation autonome appliqué à la déposé de l'ADN à l'intérieur de Nucleus par [170].	17
1.14	Système de biomicromanipulation automatisé appliqué au cellules de poisson zèbre développé par [100].	17
1.15	Système de biomicromanipulation développé par [111].	18

1.16	Système de biomicromanipulation automatisé développé par [189].	19
1.17	Système de micromanipulation développé au sein de l'institut PRISME.	22
1.18	Les deux modes d'utilisation du système discret ; masse-ressort-viscosité (MRV).	23
1.19	Système de microinjection couplé avec la méthode des éléments frontières (BEM) développé par [87].	24
1.20	Classification des trois générations de simulateurs suivant [150]	25
2.1	Réponse non-linéaire de cellules déformées par différents systèmes	31
32figure.2.2		
2.3	Membrane plasmique décrite par le modèle de la mosaïque fluide	34
2.4	Structure microscopique du cytosquelette	36
2.5	Classification des modèles biomécaniques pour la modélisation cellulaire	38
2.6	Cellule décrite comme un solide homogène viscoélastique linéaire	39
2.7	Modélisation d'une cellule par un fluide et une membrane sous tension	39
2.8	Cellule modélisée par un domaine cylindrique divisé en deux parties et résolution numérique par éléments-finis [81].	40
2.9	Géométrie et maillage d'une cellule modélisée par un matériau hyperélastique	41
2.10	Modèle de percolation utilisé par [47].	42
2.11	Modèle de mousse alvéolaire utilisé par [151]	43
2.12	Structures de tenségrité avec et sans modélisation du noyau d'après [65] et [66].	45
2.13	Modèle 3D de la cellule développé par [114] pour l'étude de la compression cellulaire.	46
3.1	Schéma illustrant les différentes classes de modèles de déformation suivant leur complexité, leur réalisme ainsi que le coût de calcul [49].	50
3.2	Déformations basées sur le modèle de FFD [160].	51
3.3	Déformation du modèle de chainMail en 1D et 2D développé par [51]	51
3.4	Simulateur de chirurgie laparoscopique "Karlsruhe Endoscopic Surgery Trainer" appliqué pour des opérations gynécologiques [93],[84].	52
3.5	Déformation d'un ovaire dans le simulateur d'apprentissage au geste médical de la bibliothèque SPORE [117].	53
3.6	Modélisation géométrique d'une cellule biologique flottante utilisant des éléments de maillage de type masse-ressort-viscosité [2] : (a) structure élémentaire présentant uniquement des liaisons en "X", (b) maillage interne volumique et externe surfacique déformable, (c) déformation sous l'action d'une force de ponction.	54
3.7	Forme générale d'une courbe de potentiel de Lennard-Jones : intensité de la force en fonction de la distance.	54
3.8	Exemple d'un objet modélisé par la méthode de Terzopoulos [178].	56
3.9	Modélisation d'un fluide basée sur la méthode SPH [168]	56
3.10	Modélisation de tissus musculaires basée sur la méthode des volumes finis [11].	57
3.11	Principe de déformation basée sur la méthode des éléments longs [22].	58
3.12	Modèles des éléments frontières (BEM : Boundary élément Method) par [68].	59
3.13	En haut : Exemples d'éléments finis en 2D et 3D, en bas : interpolation linéaire ou quadratique.	60
3.14	Principe de décomposition en domaines et sous domaines.	63
3.15	Un exemple de déformation en utilisant la technique des éléments finis explicites par Mendoza et al. [116].	63
3.16	Déformation du foie en utilisant l'approche de multi-résolution.	64

3.17	Modélisation hybride proposée par [24]. Les zones où ont lieu les changements de topologie utilisent le modèle masses-tenseurs alors que le reste de l'organe est modélisé par le modèle éléments finis quasi-statique.	66
3.18	Déformations maximales basées sur méthode shape-matching [147].	67
3.19	Performances des différents types de méthodes continues en fonction des critères requis pour les simulateurs biomécaniques interactifs.	68
4.1	Représentation bidimensionnelle des déplacements au cours de la déformation . .	75
4.2	Élément fini tétraédrique	80
4.3	Structure globale d'un ovocyte mature.	89
4.4	Structures de tenségrités	90
4.5	Méthodologie de modélisation de la structure de tenségrité à partir des filaments nanométriques	91
4.6	Structure de tenségrité 3D constituée de 36 éléments : 6 barres 3D pour les microtubules, 24 câbles rouges 1D pour les microfilaments actines et 6 câbles bleus 1D pour les filaments intermédiaires.	92
4.7	Maillage tétraédrique 3D de la structure de tenségrité	92
4.8	Modèle de Kelvin-Voigt : ressort et amortisseur en parallèle.	93
4.9	Structures des câbles.	94
4.10	Structure biomécanique de tenségrité modélisée	95
4.11	Injection Intra Cytoplasmique : Ovocyte mature à l'état initial	96
4.12	Injection Intra Cytoplasmique : Ovocyte état déformé	97
4.13	Scénario 1 : Plusieurs étapes de déformations de la structure de tenségrité . . .	105
4.14	Scénario 2 : Plusieurs étapes de déformations de la structure de tenségrité . . .	106
4.15	Courbe non-linéaire de déformation en fonction de la force pour la structure de tenségrité.	107
4.16	Maillage tétraédrique 3D de l'ovocyte composé de 115 nœuds et 332 tétraèdres pour la simulation du processus d'injection.	108
4.17	Comparaison de la réponse force en fonction du déplacement de la micropipette entre simulation et données expérimentales issues de la littérature [171].	108
4.18	Comparaison visuelle, des différentes étapes de déformation d'une cellule sous l'action de l'insertion d'une micropipette, entre simulation et expérience réelle d'ICSI : profondeur d'indentation de $5\mu m$, $10\mu m$ et $15\mu m$	109
4.19	Comparaison visuelle, des différentes étapes de déformation d'une cellule sous l'action de l'insertion d'une micropipette, entre simulation et expérience réelle d'ICSI : profondeur d'indentation de $20\mu m$, $25\mu m$ et $30\mu m$	110
4.20	Dispositif expérimental ; microscope à force atomique (AFM) de type MFP3D-BIO Asylum Research	112
4.21	Caractéristiques géométriques d'un contact de Hertz.	114
4.22	Microlevier avec pointe cylindrique déformant une cellule biologique considérée comme une capsule : F force d'indentation et δ profondeur de déformation. . . .	116
4.23	Modèle de capsule basé sur le contact entre deux sphères.	117
4.24	Réponse caractéristique de la présence de forces d'adhésions lors d'un essai de microindentation	118
4.25	Schéma descriptif du modèle JKR : en absence d'adhérence $W = 0$, la théorie de JKR se ramène à la théorie de Hertz classique	118
4.26	Méthodologie de comparaison entre les données expérimentales issues de mesures d'AFM et les simulations issues de la méthode éléments finis.	119

4.27	Images de cellules souches embryonnaires de souris : (a) image obtenue par microscopie optique et (b) image obtenue par fluorescence.	121
4.28	Image d'une colonie de cellules EC en 2D et 3D.	121
4.29	Mesure du diamètre et de la hauteur d'une cellule souche par microscopie à force atomique.	122
4.30	Détermination de la hauteur d'une cellule par double mesure $h = h_0 - h_1$	122
4.31	Évolution de la force en fonction du temps : (a) cellules fixées et (b) cellules vivantes	123
4.32	Comparaison entre la réponse des modèles analytiques et les données expérimentales pour de petites déformations.	124
4.33	Comparaison entre la réponse des modèles analytiques et les données expérimentales sur toute la plage d'indentation.	124
4.34	Moyenne des modules élastiques (modules d'Young) estimés par le contact de Hertz : (a) cellules fixées indifférenciées et (b) cellules vivantes indifférenciées. . .	125
4.35	Comparaison des réponses force d'indentation / profondeur d'indentation entre simulation EF, modèle de Hertz et résultats expérimentaux pour des cellules EC <i>vivantes</i> indifférenciées : identification sur tout l'essai $E = 153Pa$, identification en HPP $E = 169Pa$	126
4.36	Comparaison des réponses force d'indentation / profondeur d'indentation entre simulation EF, modèle de Hertz et résultats expérimentaux pour des cellules EC <i>fixées</i> indifférenciées : identification sur tout l'essai $E = 23.5KPa$, identification en HPP $E = 26.7KPa$	127
4.37	Comparaison entre les données expérimentales ainsi que les différentes simulations en éléments finis pour les cellules vivantes.	127
4.38	Comparaison entre les données expérimentales ainsi que les différentes simulations en éléments finis pour les cellules fixées.	128
4.39	Déformation éléments finis 2D et 3D d'une cellule souche en utilisant une pointe d'indentation sphérique.	129
5.1	Les différents cycles de détection de collisions.	135
5.2	Subdivision spatiale	136
5.3	(a) Domaine de Voronoï : chaque domaine définit une zone de proximité autour d'un objet, (b) exemple de mise à jour des domaines de Voronoï suite au déplacement de l'un des objets.	136
5.4	Les différents types de volumes englobants	137
5.5	Hiérarchies de volumes englobants : les sphères englobantes ne sont pas très compactes mais permettent le test de superposition le plus rapide, les AABB sont plus compactes mais les tests de superposition sont moins rapides, tandis que, les OBB sont les plus compactes et nécessitent le moins de tests de superposition.	138
5.6	Les résultats à différents niveaux de populations de la stratégie ESPIONS [59]. .	138
5.7	Schéma illustrant le calcul d'intersection d'une pointe d'injection et la cellule en se basant sur l'algorithme l'intersection "ray/triangle"	141
5.8	Maillage multi résolution autour de la zone de ponction.	142
5.9	Détermination des faces et des arêtes à éliminer dans le tétraèdre à éliminer. . . .	143
5.10	Forces s'appliquant sur l'aiguille d'insertion d'après [61]	143
5.11	Illustration de l'approche de recherche de distance entre le centre de la pointe sphérique d'AFM et la surface d'une cellule biologique	144

5.12	Schéma de fonctionnement de l'algorithme de recherche de collision entre la pointe sphérique d'AFM et la surface d'une cellule biologique	145
5.13	Principe du couplage virtuel [16]	145
5.14	Interaction haptique avec un couplage virtuel : modèle d'interaction et impédance	146
5.15	Modèle mécanique d'interaction pour un degré de liberté	146
5.16	Diagramme de Bode représentant la condition de stabilité inconditionnelle	148
5.17	Guides virtuels proposés : (a) présente la contrainte conique, (b) présente la contrainte rectiligne	149
6.1	Interfaces haptiques : Phantom Desktop et Phantom Omni de SensAble technologies.	153
6.2	Scène virtuelle 3D et l'interface des paramètres : Simulation de geste de micro injection cellulaire	154
6.3	Scène virtuelle 3D et l'interface des paramètres : Simulation de geste d'indentation d'AFM en utilisant une pointe sphérique.	155
6.4	Structure générale de moteur 3D en orienté objets C++, les principales classes de la structure de noyau.	155
6.5	Méthodologie de simulation haptique en temps-réel basée sur la méthode des éléments finis (FEM).	156
6.6	Architecture matérielle du système de bio-micromanipulation.	159
6.7	Calibration du capteur de force	160
6.8	Tests d'indentation appliqués sur des embryons de poisson zèbre de type Danio Rerio (diamètre entre 500 et 1000 μm	160
6.9	Tests d'indentation appliqués sur des oeufs de saumon (diamètre entre 600 et 1200 μm).	161
6.10	Force ressentie par l'opérateur lors de la ponction/indentation d'un embryon de poisson zèbre.	161
6.11	Simulateur interactif de la microinjection cellulaire (ICSI)	162
6.12	Déformation cellulaire jusqu'au point de la rupture.	163
6.13	Validation expérimentale du simulateur d'injection cellulaire : rupture de la membrane liée à la ponction.	163
6.14	Temps de calcul en fonction du nombre d'éléments tétraédriques : (a) temps de précalculs, (b) simulation en temps réel.	164
6.15	Microscopie à force atomique de type <i>MFP3D – BIOTM Asylum Research Santa Barbara, CA</i>	165
6.16	Détermination la sensibilité (nm/V) de microlevier.	167
6.17	Détermination et calcul la fréquence de résonance de microlevier.	167
6.18	Relation entre la force d'indentation et la profondeur d'indentation : (a) cellules ES vivantes, (b) cellules ES fixées.	168
6.19	Nature viscoélastique des propriétés des cellules souches embryonnaires de souris..	169
6.20	Simulateur interactif d'indentation d'AFM en temps réel en utilisant un microlevier à pointe sphérique : les figures (a) et (b) présentent l'interface graphiques et haptique du simulateur, les figures (1), (2) illustrent les déformations dues à un effort vertical appliqué à la cellule.	170
6.21	Validation et comparaison entre des données expérimentales et des résultats d'interaction pour une cellule vivante.	170
6.22	Validation et comparaison entre des données expérimentales et des résultats d'interaction pour une cellule fixée.	171
6.23	Représentation d'un maillage surfacique afin de mieux visualiser les déformations .	171

6.24	Indentation verticale d'AFM : (a) force appliquée au centre de la cellule, (b) force appliquée à coté.	172
6.25	Les composantes de la force de réaction : (a) indentation appliquée au centre de la cellule, (b) indentation appliquée à coté	172
6.26	Modèles réalistes de cellules (a) flottantes et (b) adhérentes comprenant le cytosquelette et le cytoplasme.	2
27	Système d'identification de la fonction de transfert pour chaque axe.	2
28	Description des différentes étapes de synthèse du correcteur.	2
29	Réponse fréquentielle de l'axe X pour différents points de fonctionnement (PF) : 20, 40, 60 ; 80 et 100 μm	3
30	Résultats d'expérimentations d'identification du système.	3
31	Réponse à un échelon de tension.	4
33	Synthèse par loop-shaping.	5
34	Système renforcé par les fonctions de pondération.	6
35	Correcteur initial(-) et correcteur réduit(*).	6
36	Comparaison entre le modèle (ligne continue) et les résultats expérimentaux (ligne avec points).	6
37	les différentes caractéristique du capteur de force utilisé dans nos expérimentations.	1
38	Microscope à force atomique de type <i>MFP3D – BIOTM Asylum Research Santa Barbara, CA</i>	1
39	MFP-3D Head.	2
40	Digital ARC2Ž Controller and MFP-3D Head MFP-3D XY Scanner.	3
41	Validation et comparaison entre des données expérimentales et des résultats d'interaction pour une cellule vivante.	3
42	Validation et comparaison entre des données expérimentales et des résultats d'interaction pour une cellule vivante.	4
43	Indentation en utilisant deux type de pointes AFM : (a) Désigne la géométrie de la cellule et les pointes d'indentation, (b) Indentation basée sur une pointe conique, (c) Indentation basée sur une pointe sphérique, les deux simulations sont effectuées par le code explicite Comsol multiphysiques	4
44	Confrontation entre les courbes expérimentales issues de l'AFM et les courbes de simulations en utilisant une pointe conique via le le code explicite Comsol.	5

Liste des tableaux

1.1	Comparaison des résultats du taux de réussite des différents scénarios [140]	14
2.1	Analogie entre la structure de tenségrité et la structure du cytosquelette suivant [65]	45
2.2	Comparaison entre différentes modélisations disponibles pour l'étude de la réponse biomécanique de cellules biologiques.	47
4.1	Paramètres pour la cellule au repos (l'état initial).	97
4.2	Calculs de la géométrie de la cellule déformée.	98
4.3	La différence entre l'état initial et l'état déformé.	98
4.4	Propriétés géométriques et mécaniques pour les différents types de filaments [114], [56]	104
4.5	Différentes propriétés mécaniques et géométriques de la cellule modélisée (ovocyte de souris).	107
4.6	Hauteur pour chaque cellule souche non différenciée, des cellules fixées et vivantes.	123
4.7	Écarts-types obtenus avec les modèles de Hertz et de capsule pour des cellules souches embryonnaires fixées indifférenciées.	125
4.8	Écarts-types obtenus avec les modèle de Hertz et de capsule pour des cellules souches embryonnaires vivantes indifférenciées	125
6.1	Caractéristiques du micromanipulateur d'injection fournit par la société Physics Instruments.	159
6.2	Temps de calcul en fonction du nombre d'éléments : noeuds, arêtes, triangles et tétraèdres	164
6.3	Propriétés géométriques et mécaniques.	168

Introduction générale

Dans le contexte des microtechnologies et désormais des nanotechnologies/nanosciences, une des applications phares de la microrobotique, qui fascine bon nombre de chercheurs, est la manipulation des cellules biologiques. La robotique médicale appliquée aux interactions à l'échelle cellulaire est de ce fait un des secteurs de recherche qui connaît les plus forts développements. Les avancées technologiques, en particulier celles associées à l'informatique et aux moyens d'observations (microscope à force atomique), ont permis d'étudier et d'appréhender les phénomènes physiques présents dans ce monde microscopique. On commence désormais à exploiter et à maîtriser ces nouvelles connaissances pour agir directement sur les cellules. Il devient ainsi possible de caractériser le comportement biomécanique de cellules, d'y injecter des solutions intracellulaires pour étudier l'action de nouvelles molécules pharmaceutiques et/ou toxicologiques.

Ce travail de doctorat, auquel est associé un transfert technologique, est motivé par une collaboration industrielle sur l'assistance en micromanipulation biologique. Les partenaires de ce projet multidisciplinaire sont l'unité fonctionnelle du laboratoire de biologie de la reproduction (LBDR) du CHU de la Pitié-Salpêtrière, les hôpitaux de Paris, l'institut PRISME de l'ENSI de Bourges et le Centre de Recherche en Biologie de Baugy (CERB). Dans ce cadre général, ce travail de recherche contribuera à la création ou à l'amélioration d'outils robustes de micromanipulation et de simulation. Des résultats sont plus précisément attendus dans les domaines de l'injection intracellulaire qui trouve des applications dans les domaines de la physiologie (cytologie et biologie moléculaire), de la virologie, de la pharmacologie et de la toxicologie, etc. Si le but premier de ces techniques est de manipuler des cellules biologiques pour réaliser des injections – dans des cellules issues de techniques de culture (cellules $< 100\ \mu m$) ; ces injections intracellulaires permettront d'étudier la réaction de la cellule à de nouvelles molécules pharmaceutiques et/ou toxicologiques - dans des cellules humaines de plasticides, de gènes ou, s'il s'agit d'un ovocyte, d'un spermatozoïde (ICSI) – elles peuvent également servir à la caractérisation biomécanique des cellules souches. Elles jouent un rôle primordial dans la recherche sur les tumeurs par exemple et offriront plusieurs applications pour la thérapigénique.

Dans ce projet de recherche, nous proposons de développer et de mettre en oeuvre une interface multimodale visuelle et haptique dédiée à la microinjection cellulaire. Ce *simulateur de microinjection assistée par ordinateur* aura pour vocation de restituer fidèlement les caractéristiques physiques de l'interaction opérateur-cellule biologique lors d'interventions de microinjection *virtuelles* et *réelles* dans un environnement tridimensionnel. Sa réalisation nécessitera le développement d'un banc d'essai, permettant de comparer les résultats des simulations aux

données de l'expérience, pour valider les outils développés.

Le travail proposé dans ce mémoire de thèse sera donc par nature pluridisciplinaire, à l'interface de nombreuses disciplines (figure 1) :

- *mécanique* : il sera fait appel à la mécanique des milieux continus déformables solide et/ou liquide pour la description du comportement cellulaire et aux méthodes numériques de résolution des équations aux dérivées partielles afférentes aux modèles mécaniques ;
- *informatique* : des algorithmes de calcul permettant l'obtention de résultats en temps réel et des procédures d'analyse d'images seront développées et/ou implémentées ; dans le cadre de la réalité virtuelle, une attention particulière sera portée aux rendus graphiques ;
- *biologie cellulaire* ;
- *automatique, commande et contrôle*.

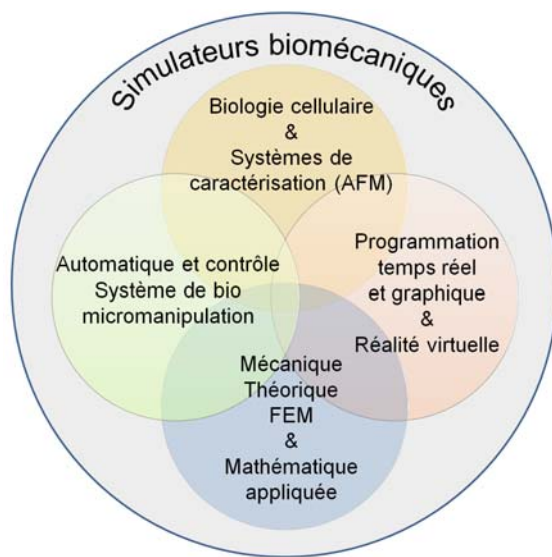


Figure 1 – Un sujet au carrefour de différentes disciplines.

La première application recherchée de cet outil d'assistance et de simulation réaliste est à destination des praticiens procédant à des microinjections intracytoplasmiques de spermatozoïdes. Il devra leur apporter une aide à l'entraînement, à la mise en oeuvre et à la planification du geste opératoire.

Nécessité d'une aide à la microinjection intracytoplasmique de spermatozoïde

La microinjection intracytoplasmique de spermatozoïde, dont l'acronyme ICSI est issu de la langue anglaise (IntraCytoplasmic Sperm Injection), consiste à déposer un spermatozoïde directement dans le cytoplasme de l'ovocyte humain. Cette technique permet d'augmenter significativement le taux de fécondation par rapport à la fécondation in vitro classique (FIV) en cas d'hypofertilité masculine [37].

Bien que déjà très largement éprouvées dans le milieu biologique depuis 10 ans dans plus de 750 centres au niveau européen, ces techniques souffrent cependant d'un taux de réussite limité de l'ordre de 29%. Ce faible pourcentage de réussite s'explique par le caractère éprouvant des tâches réalisées par le technicien lors de séances de manipulation souvent longues, l'oeil rivé sur l'objectif d'un microscope optique, qui entraînent une diminution de la concentration, une baisse

de l'acuité visuelle, une diminution de la précision des gestes et l'apparition de tremblements [133]. Dans ces conditions, le technicien a des difficultés à reproduire avec une haute précision de contrôle son geste opératoire, c'est-à-dire à maintenir une vitesse d'injection élevée tout en assurant un positionnement micrométrique, à partir de la simple visualisation sous microscope optique.

L'image 2D exploitée par le technicien pour perforer la membrane cytoplasmique, le guider lors de la phase d'approche et le positionner au point d'injection manque de contraste. Il apparaît ainsi judicieux de lui faire «*ressentir*» les efforts d'insertion induits par le contact de l'extrémité de la micropipette d'injection avec la membrane cytoplasmique pour lui permettre de «*contrôler*» l'intensité de ces efforts nécessaires au franchissement des barrières ovocytaires que sont la zone pellucide et la membrane ovocytaire. Ce problème majeur est renforcé par le fait que l'injection est irréversible et qu'il est impératif de ne pas altérer la viabilité de l'ovocyte. S'y ajoute également la variabilité des caractéristiques mécaniques des ovocytes qui requiert une capacité d'adaptation du geste.

Il est à noter que ces contraintes techniques ont une conséquence directe sur le temps, et donc le coût de formation des nouveaux techniciens. De 12 à 18 mois d'apprentissage sont ainsi requis pour parvenir à une maîtrise parfaite des techniques ICSI.

L'objectif fondamental du simulateur développé sera un outil de formation *clinique* et *éthique* car l'opérateur pourra se former et s'entraîner aux techniques ICSI en développant une gestuelle de microinjection proche de celle exécutée en réalité avec une meilleure maîtrise. De plus, les nouveaux praticiens n'auront pas à s'entraîner sur des ovocytes test provenant d'animaux ou encore de vieux ovocytes humains. De plus, nous ferons évoluer le simulateur vers d'autres techniques de manipulation biologiques, à savoir l'indentation mécanique par Microscopie à Force Atomique (AFM) de cellules adhérentes de type cellules souches embryonnaires (ES) de souris. La nanoindentation AFM de cellules étant une technique très répandue pour l'étude locale des propriétés mécaniques extracellulaires (barrières membranaires) en vue de tester l'état de maturation de la cellule.

Organisation du mémoire

Cette étude est décomposée en six chapitres répartis en trois grandes parties :

1. État de l'art de la modélisation et la simulation en biomicromanipulation :

La première partie de cette étude introduit le contexte médical de cette thèse. Elle permet de présenter les notions importantes qui motivent les choix effectués dans la suite du manuscrit.

Dans le chapitre I, nous décrivons tout d'abord le principe de la technique de fécondation in vitro par micromanipulation ICSI et l'environnement biologique connexe. Nous détaillons ensuite les différentes étapes de l'ICSI en insistant sur la problématique du contrôle du geste d'injection. Par la suite, nous passons en revue les grands champs d'application de la microrobotique et nous dressons un état de l'art des travaux déjà effectués dans le domaine de la micro/nanomanipulation biologique. Nous terminerons ce chapitre par un examen critique des simulateurs existants en réalité virtuelle réalistes.

Nous présentons dans le chapitre II, une étude bibliographique qui décrit la structure de la cellule en partant de l'architecture cellulaire générale puis en détaillant les composants de

la cellule, leurs structures internes, leurs dynamiques et de leurs rôles. Par la suite, nous répertorions et nous illustrons les différents modèles biomécaniques existants de cellules biologiques en les classifiant et en dressant la liste de leurs avantages et de leurs inconvénients.

Dans le chapitre III, nous présentons une description non exhaustive des méthodes numériques qui peuvent s'appliquer à la simulation et à la modélisation des déformations de tissus biologiques en temps réel.

2. Étude de la réponse mécanique d'une cellule biologique : modélisation, implémentation, simulation et validation expérimentale :

La deuxième partie présente l'approche de modélisation développée au cours de cette thèse, cette partie comporte le chapitre IV.

La première partie de ce chapitre, nous présentons les fondements théoriques de nos choix de modélisations pour la simulation en temps réel issus de l'analyse bibliographique réalisée au chapitre précédent. Nous détaillons dans un premier temps, la théorie de l'élasticité en petits et grands déplacements ainsi que les équations aux dérivées partielles qui en résultent. Puis nous présenterons en détail les discrétisations spatiales et temporelles retenues, ensuite une illustration de la méthode élément finis en temps réel (masses-tenseurs) utilisée dans nos simulations. Une description détaillée du modèle biomécanique (structure de tensegrité choisie) en utilisant un modèle hybride (élément finis plus le modèle discret masses ressort viscosité) pour la modélisation de déformations de la structure. Pour améliorer le réalisme de la simulation, nous avons proposé une extension de l'approche masse-tenseur en élasticité non linéaire (grands déplacements) sur la base du modèle Saint Venant-Kirchoff. Finalement une validation expérimentale des modèles numériques et expérimentaux permet de valider les différents modèles biomécaniques proposés.

La deuxième partie de ce chapitre concerne la modélisation et la simulation de l'environnement de nanoindentation par microscopie à force atomique (AFM). Une validation expérimentale des résultats de simulation est proposée en vue de valider le simulateur d'indentation AFM. Nous présentons dans un premier temps une étude comparative entre les différents modèles de contact répertoriés dans la littérature en vue de sélectionner le modèle analytique le plus approprié pour le calcul des propriétés mécaniques de cellules souches embryonnaires (ES) de souris (rigidité, module de Young). Nous terminerons par une comparaison et une validation numérique des modèles de déformation proposés avec des simulations utilisant des logiciels éléments finis commerciaux (logiciels Comsol Multiphysics et Castem).

3. Modélisation des interactions :

La troisième partie de ce manuscrit est dédiée à la description des simulations effectuées à l'aide de notre méthode de modélisation en temps réel développée. Pour cela, cette partie comporte deux chapitres.

Dans le chapitre V, nous présentons une revue générale des méthodes les plus connues dans le domaine de détection de collisions pour les objets solides et déformables, suivi par une description des différentes stratégies d'accélération du temps de calculs, que se soit,

des stratégies algorithmiques ou des stratégies matérielles. Pour le traitement des multi-contacts, nous présentons les méthodes de détection de collisions multiples choisies basées sur la méthode de pénalité non linéaire. Par la suite, afin de sécuriser et faciliter le geste opératoire durant la puncture, nous proposons une approche pour remédier aux problèmes d'instabilités haptiques basée sur la notion de couplage virtuel entre l'interface haptique et le modèle virtuel 3D.

Dans le chapitre VI, nous présentons le simulateur SIMIC (Simulateur Interactif de Micromanipulation Cellulaire) que nous avons développé dans le cadre des procédures de microinjection intracellulaire et indentation extracellulaire. Nous décrivons ses fonctionnalités ainsi que l'environnement matériel et logiciel pour sa mise en oeuvre. Afin de valider les modèles biomécaniques de déformation et d'interaction des chapitres précédents, nous décrivons les plateformes microrobotiques expérimentales développées et utilisées durant cette thèse. Un premier banc expérimental de microinjection intracellulaire dédié aux cellules flottantes de type ovocyte est présenté. Un second banc expérimental de nanoindentation par microscopie à force atomique appliqué à des cellules adhérentes de type cellules ES de souris est également présenté.

Nous finirons ce manuscrit par une discussion sur les différents points abordés au cours de cette thèse et proposerons des perspectives à la suite de ce travail.

Partie I - État de l'art de la Modélisation et de la Simulation en Biomicromanipulation

Systèmes de Télé-Micromanipulation Biologiques

Sommaire

1.1	Introduction	4
1.2	Techniques d'assistance médicale à la procréation	4
1.2.1	Qu'est-ce que la Fécondation in vitro ?	4
1.2.2	Fécondation in vitro conventionnelle "classique"	5
1.2.3	Microinjection Intracytoplasmique de Spermatozodes (ICSI)	5
1.2.4	Phases spécifiques à la technique ICSI	6
1.2.5	Difficultés inhérentes à la microinjection et nécessité d'une assistance à la technique ICSI	7
1.3	Apports de la microrobotique aux manipulations biologiques	8
1.3.1	Généralités et applications de la biomicrorobotique	9
1.3.2	Systèmes de télémicroinjection biologique	10
1.3.3	Synthèse	21
1.4	Apports de la simulation aux systèmes de microinjection	21
1.4.1	Approche par modèles masse-ressort-viscosité (PRISME)	21
1.4.2	Approche par la méthode des éléments de frontière (KAIST)	23
1.5	Apports de la simulation à l'apprentissage du geste	24
1.5.1	Intérêt des simulateurs interactifs	24
1.6	Fonctionnalités recherchées pour un outil de simulation et d'assistance pour l'injection cellulaire	26
1.7	Conclusion	27

1.1 Introduction

Dans ce chapitre, nous présentons le contexte médical dans lequel s'inscrit cette thèse. L'application médicale visée concerne la technique de fécondation in vitro par micromanipulation (*Intra cytoplasmic Sperm Injection* (ICSI)). Nous décrivons tout d'abord les principes de cette technique, l'environnement biologique dans lequel elle est réalisée ainsi que ses différentes étapes. Nous présentons ensuite la problématique et les difficultés inhérentes à la microinjection cellulaire avec une attention particulière portée sur le contrôle du geste d'injection.

Nous dressons un état de l'art des travaux effectués dans le domaine de la micromanipulation biologique, et plus spécifiquement des travaux rapportant aux systèmes de microinjection cellulaire. Nous présentons une classification de ces systèmes suivant le degré de couplage entre l'opérateur et le système de micromanipulation. Nous identifions leurs applications ainsi que leurs limitations. L'analyse des différentes difficultés liées à l'ICSI et des apports de la modélisation numérique aux systèmes de microinjection, nous permet de justifier la nécessité de développement d'un outil de simulation et d'assistance pour l'injection cellulaire.

1.2 Techniques d'assistance médicale à la procréation

La procréation médicale assistée ou PMA, également appelée assistance médicale à la procréation (AMP) et procréation assistée médicalement (PAM), regroupe un ensemble de pratiques cliniques et biologiques où la médecine intervient plus ou moins directement dans la procréation. Elle fait appel à différentes techniques thérapeutiques (stimulation de l'ovulation, insémination artificielle (IA), fécondation in vitro,...) visant à permettre à un couple infertile d'obtenir une grossesse. Si les premières inséminations artificielles ont été pratiquées il y a plus de 200 ans, c'est seulement dans les trente dernières années que la fécondation in vitro (FIV) s'est développée. Ainsi, Louise Brown, premier enfant issu de cette technique, est née en Angleterre en Juillet 1978. Il a fallu ensuite attendre six ans pour obtenir la naissance d'un enfant après transfert d'embryons congelés, et huit ans de plus pour une première naissance suite à une microinjection intra-cytoplasmique des spermatozoïdes (ICSI).

1.2.1 Qu'est-ce que la Fécondation in vitro ?

Parmi les différentes techniques d'assistance médicale à la procréation, la fécondation in vitro est un traitement de la stérilité qui reproduit au laboratoire la fécondation et les premières phases du développement embryonnaire. Il permet la réalisation in vitro des étapes qui se déroulent normalement dans les trompes : rencontre des ovocytes et spermatozoïdes (fécondation) et formation de l'embryon aux premiers stades du développement. Cette technique est recommandée dans les cas suivants :

- détection chez la femme d'une absence de trompes ou d'antécédents de grossesse extra-utérine ;
- ovulation de très mauvaise qualité ;
- altération du sperme de l'homme ;
- idiopathie (stérilité inexpiquée).

La fécondation in vitro regroupe deux techniques : les FIV "conventionnelles", techniques développées pour répondre aux infertilités féminines, et les FIV avec micromanipulation, techniques développées pour répondre aux infertilités masculines sévères. Les infécondités mixtes peuvent

être traitées par l'une ou l'autre de ces techniques selon le niveau d'altération du sperme.

Dans la *FIV conventionnelle* les spermatozoïdes sont simplement mis dans une éprouvette en contact avec l'ovocyte qu'ils doivent pénétrer pour le féconder.

Dans la *FIV avec microinjection ou micromanipulation*, un spermatozoïde est injecté à l'intérieur de chaque ovocyte.

1.2.2 Fécondation in vitro conventionnelle "classique"

La FIV classique consiste à prélever un ovocyte de la femme en récupérant parallèlement les spermatozoïdes de l'homme, à les réunir dans du matériel de laboratoire, à attendre que se forme un embryon, puis à réimplanter l'embryon dans l'utérus de la femme afin qu'il se développe. Plusieurs étapes sont ainsi nécessaires :

- stimuler les ovaires afin d'obtenir un nombre d'ovocytes plus important que dans une ovulation spontanée (fig.1.1(a))
- prélever des ovocytes jugés matures à la surface des ovaires dans le corps de la femme, sous anesthésie locale ou générale et recueillir par ailleurs les spermatozoïdes de l'homme (fig.1.1(b))
- procéder à la fécondation in vitro : le sperme, préalablement traité par le biologiste de l'équipe médicale est mis en contact avec les ovocytes. L'ensemble est ensuite mis en culture à 37° (fig.1.1(c))
- transférer les embryons obtenus dans l'utérus de la femme. Après quelques jours, un ou plusieurs embryons sont obtenus. La femme est alors convoquée par l'hôpital pour qu'un ou plusieurs embryons soient réimplantés dans son utérus.

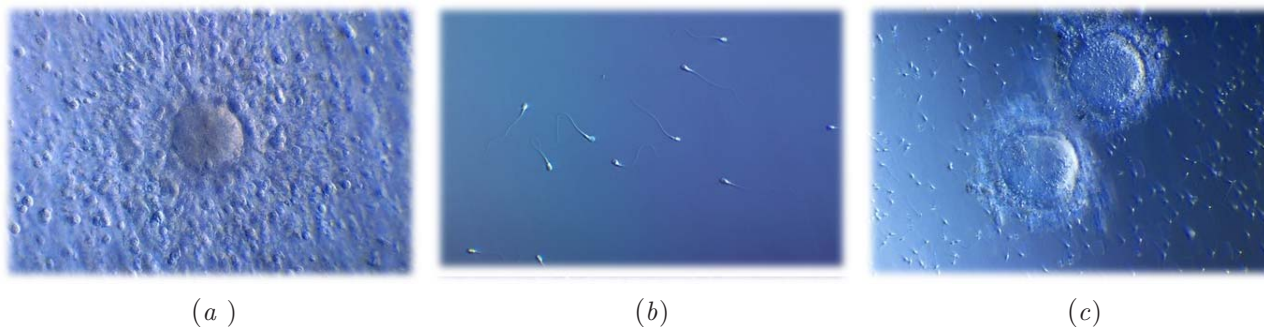


Figure 1.1 – Étapes de la FIV conventionnelle (a) Ovocyte englobé dans son cumulus, (b) Spermatozoïdes nageant dans un milieu de culture (c) Ovocytes en contact avec des spermatozoïdes.

1.2.3 Microinjection Intracytoplasmique de Spermatozodes (ICSI)

La microinjection intracytoplasmique de spermatozoïde, dont l'acronyme ICSI est issu de la langue anglaise (IntraCytoplasmic Sperm Injection), a été initialement proposée pour les cas où la semence est très pauvre en spermatozoïdes [133], une situation relativement fréquente dans l'espèce humaine (azoospermie). Elle est maintenant aussi mise en oeuvre avec des spermatozoïdes recueillis dans l'épididyme quand l'éjaculation ne peut être obtenue. Elle consiste à prélever, à l'aide d'une micropipette en verre et sous microscope, un seul spermatozoïde parmi ceux présents dans une petite goutte de semence mâle, puis à en introduire directement la tête dans le cytoplasme d'un ovule. L'embryon ainsi formé est alors transplanté chez la patiente en

vue d'une grossesse. De manière générale, cette technique permet d'augmenter significativement le taux de fécondation par rapport à la FIV classique en cas d'hypofertilité masculine [37].

Un système de micromanipulation et de microinjection biologique nécessite un équipement spécialisé fixé sur un microscope inversé. Deux micropipettes sont indispensables pour réaliser une ICSI : une micropipette de contention d'un diamètre interne de $20\mu m$ servant au maintien de l'ovocyte et une micropipette d'injection d'un diamètre interne de $5\mu m$ utilisée pour prélever le spermatozoïde et l'injecter dans le cytoplasme de l'ovocyte. Ces deux micropipettes sont fixées sur des micromanipulateurs actionnés à distance par des commandes hydrauliques. Elles sont également reliées à des seringues permettant de contrôler le flux d'aspiration ou de refoulement s'exerçant sur l'ovocyte et les spermatozoïdes. Ces deux micromanipulateurs sont contrôlés par l'opérateur par l'intermédiaire d'un joystick, sous le champ de vision d'un microscope optique couplé à une camera CCD, comme illustré sur la figure 1.2.

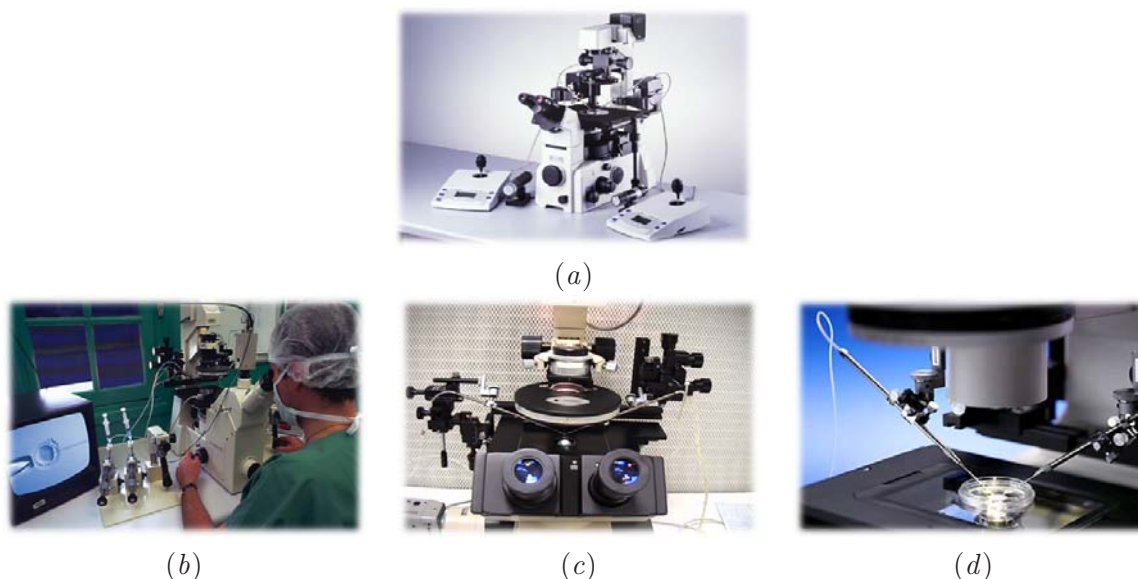


Figure 1.2 – Système de micro injection ICSI, (a) : prise de vue globale d'une station de microinjection, (b) : Technicien procédant à une ICSI, (c) : Vue de face du microscope optique et des deux micromanipulateurs, (d) : Zoom sur les deux micro-pipettes avec une boîte de Petri.

1.2.4 Phases spécifiques à la technique ICSI

Les grandes étapes de la fécondation in vitro classique et par ICSI sont les mêmes, la seule différence réside dans le mode de fécondation. Cette phase peut être décomposée en différentes sous étapes :

- introduction d'un ovocyte dans un milieu de culture après élimination des cellules du cumulus (décoronisation). L'ovocyte est maintenu à l'aide de la pipette de contention ;
- sélection du spermatozoïde, en fonction de sa mobilité maximale et de sa morphologie, immobilisation de ce dernier par compression de sa queue et aspiration dans la pipette d'injection ;
- introduction de la pipette d'injection dans la membrane de l'ovocyte, aspiration d'un peu de cytoplasme ;

- réinjection du cytoplasme et du spermatozoïde dans l'ovocyte.
- vérification de la réussite de l'opération : le lendemain de la fécondation, l'ovocyte doit présenter 2 pronucléi associés aux patrimoines génétiques du père et de la mère.

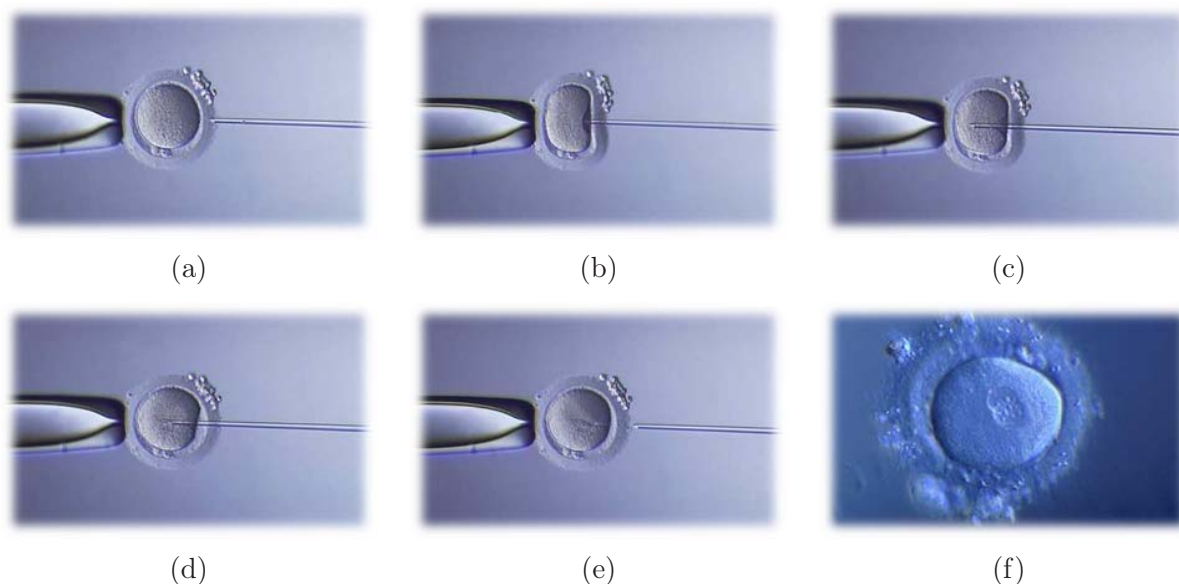


Figure 1.3 – Les étapes de la micro injection ICSI : (a) Le spermatozoïde est dans la pipette de microinjection, (b) La pipette de microinjection perce la membrane de l'ovocyte, (c) La pipette est engagée jusqu'au centre de l'ovocyte, (d) Le spermatozoïde est introduit dans l'ovocyte, (e) La pipette de microinjection est retirée, résultats : (f) Ovocyte fécondé présentant 2 pronucléi et 2 globules polaires.

1.2.5 Difficultés inhérentes à la microinjection et nécessité d'une assistance à la technique ICSI

Bien que la microinjection intracytoplasmique de spermatozoïde soit déjà très largement éprouvée dans le milieu biologique depuis 10 ans dans plus de 750 centres au niveau européen, cette technique souffre cependant d'un taux de réussite limité de l'ordre de 29%. Le taux d'échec élevé s'explique par le caractère éprouvant des tâches réalisées par le technicien lors de séances de manipulation souvent longues, l'oeil rivé sur l'objectif d'un microscope optique, qui entraînent une diminution de sa concentration, une baisse de son acuité visuelle et une diminution de la précision de ses gestes souvent couplée à l'apparition de tremblements [133]. Dans ces conditions, le technicien a des difficultés à reproduire avec une haute précision de contrôle son geste opératoire, c'est-à-dire à maintenir une vitesse d'injection élevée tout en assurant un positionnement micrométrique, à partir de la simple visualisation sous microscope optique. Ce problème majeur est renforcé par le fait que l'injection est irréversible.

L'image 2D exploitée par le technicien pour perforer la membrane cytoplasmique, le guider lors de la phase d'approche et de positionnement du point d'injection manque de contraste. Il apparaît ainsi judicieux de lui faire «*ressentir*» les efforts d'insertion induits par le contact de l'extrémité de la micropipette avec la membrane cytoplasmique pour lui permettre de «*contrôler*» l'intensité des efforts nécessaires au franchissement des barrières ovocytaires que sont la zone pellucide et la membrane ovocytaire. Ce problème majeur est renforcé par le fait que l'injection est irréversible

et qu'il est impératif de ne pas altérer la viabilité de l'ovocyte. S'y ajoute également la variabilité des caractéristiques mécaniques des ovocytes qui requiert une capacité d'adaptation du geste.

Il est à noter que ces contraintes techniques ont une conséquence directe sur le temps, et donc le coût de formation des nouveaux techniciens. De 12 à 18 mois d'apprentissage sont ainsi requis pour parvenir à une maîtrise parfaite des techniques ICSI. D'une manière générale, on peut résumer en reliant le taux d'échec au manque de robustesse du geste d'injection sujet à diverses perturbations extérieures, à savoir :

- commande en boucle ouverte du geste de l'opérateur ;
- retour de force inexistant sur les efforts transmis à la cellule ;
- mauvais alignement de position entre la micropipette et l'ovocyte à l'origine d'une perte de contact ;
- élasticité et point de rupture de la biomembrane importants provoquant la rupture de la pointe de la pipette ;
- erreurs liées au manque de vigilance et à la fatigue qui entraînent des tremblements du geste de l'opérateur ;
- techniques éprouvantes pour des opérateurs insuffisamment expérimentés.

A l'issue de cette analyse, nous allons détailler par la suite les apports de la microrobotique et la simulation qui pourraient augmenter d'une manière significative le taux de réussite et d'apporter des solutions pour compléter la formation des praticiens.

1.3 Apports de la microrobotique aux manipulations biologiques

La microrobotique est un domaine émergent, né d'un croisement entre la robotique et les microsystèmes. Aujourd'hui, la microrobotique trouve des applications dans tous les domaines : la santé, l'automobile, l'aéronautique, la chimie des matériaux, l'électronique, l'énergie, l'espace, l'environnement, la défense et les biotechnologies.... La figure 1.4 représente les grands domaines d'applications de la microrobotique. Dans le domaine de la biologie, ces techniques de micro-manipulation peuvent jouer un rôle essentiel en permettant de manipuler et de caractériser le comportement de cellules vivantes.

Lorsque la manipulation vise des objets de dimensions globalement comprises entre $1mm$ et $1nm$ on parle de micro/nano manipulation. Ce domaine concerne aussi bien des produits inertes (assemblage de pièces micro-mécaniques, microélectronique, composants optiques, ...) que vivants (manipulations génétiques...) et représente l'un des domaines majeurs d'application de la microrobotique.

La plupart des tâches de micromanipulation d'objets sont aujourd'hui réalisées manuellement, ce qui devient rapidement très fastidieux lorsque l'on manipule de grandes quantités d'objets. C'est pour cela que le développement de micromanipulateurs, c'est-à-dire de systèmes de micromanipulation appropriés à ces micro-objets est une nouvelle opportunité pour réaliser ces manipulations de manière efficace, reproductible et automatisée. La figure 1.5 représente l'échelle dimensionnelle des objets ainsi que les applications concernées par les techniques de micromanipulation manuelle.

Après ce tour d'horizon général, nous allons focaliser notre attention sur les aspects spécifiques de la micromanipulation lorsqu'elle est appliquée au domaine de la biologie.

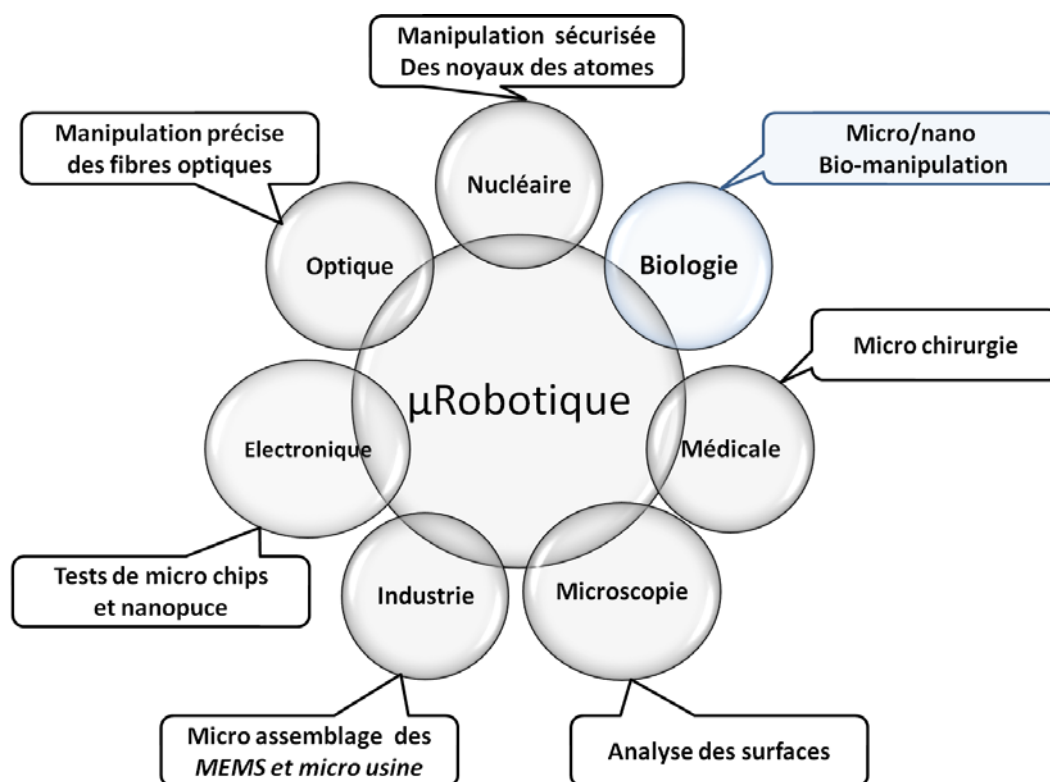


Figure 1.4 – Différents domaines de la microrobotique.

1.3.1 Généralités et applications de la biomicrorobotique

L'objectif des techniques de micromanipulation biologique ou biomicromanipulation, est d'agir sur des cellules biologiques. Elles peuvent permettre d'en caractériser le comportement, d'y injecter des solutions intracellulaires pour par exemple tester de nouvelles molécules pharmaceutiques et/ou toxicologiques. Une des applications phares qui fascine bon nombre de chercheurs est la génétique. En effet, le décodage du génome humain a fait apparaître un nouveau moyen de prodiguer des soins et apporter des traitements à certaines maladies graves. Les techniques de micromanipulation y sont alors essentielles pour réaliser des manipulations précises et non contaminantes. D'autres disciplines de la biologie requièrent également l'emploi de systèmes de micromanipulation. Il s'agit entre autres de la fécondation in vitro, de la microinjection intracellulaire de gènes (ICTS), de l'étude des réactions chimiques en toxicologie.

Une des difficultés majeures à laquelle est confrontée la biomicromanipulation est de permettre le contrôle avec une grande précision des mouvements de l'effecteur terminal. L'outil d'injection doit ainsi être commandé avec des précisions et des résolutions inférieures aux dimensions de l'objet pour les déplacements (i.e. quelques nanomètres) et de l'ordre des forces cytoplasmiques pour les efforts (i.e. inférieurs à $100 \mu\text{N}$).

Différentes limitations technologiques liées aux non-linéarités des matériaux piézoélectriques utilisés (hystérésis, dérive, saturation), à l'influence de l'environnement extérieur (température, humidité, efforts appliqués) ainsi qu'aux architectures de contrôle (robustesse limitée vis-à-vis des perturbations extérieures et erreurs de modélisation, performances dégradées) limitent à l'heure

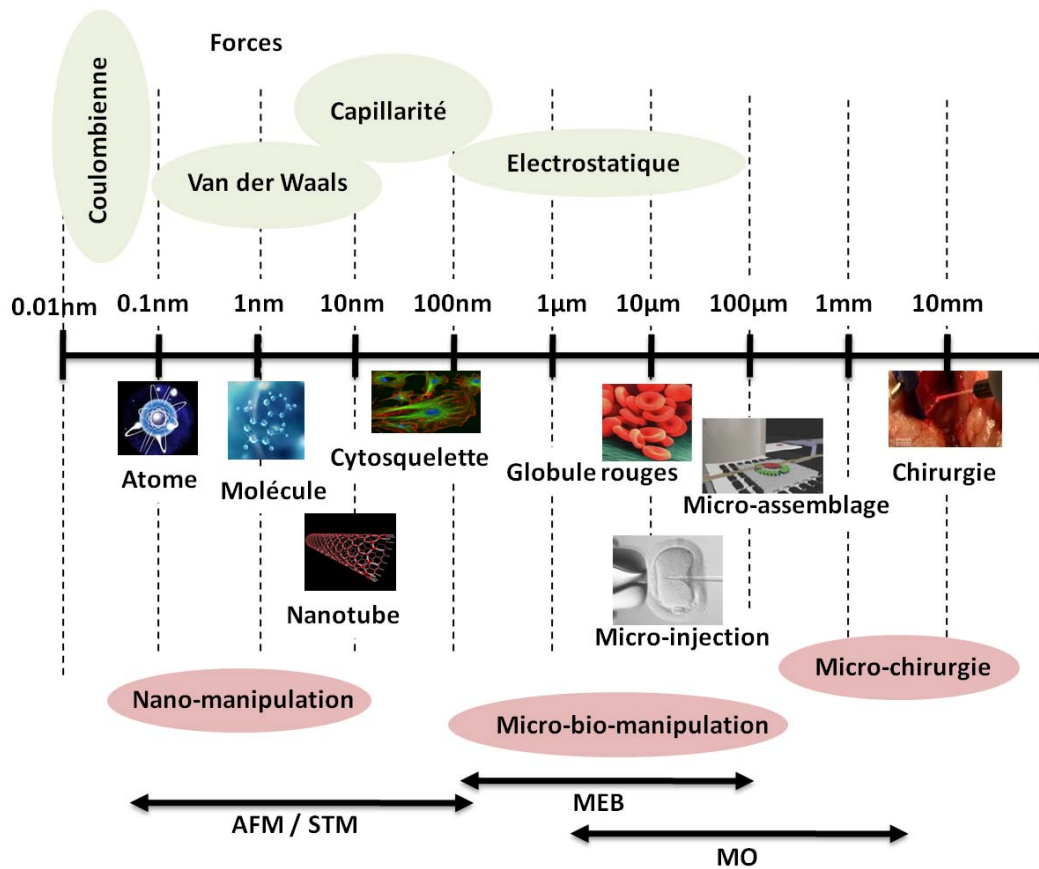


Figure 1.5 – Échelle des objets, techniques d'observation et forces rencontrées dans le domaine de la micro/nano manipulation (MO : Microscope optique, AFM : Microscope à force atomique, STM : Microscope à effet tunnel, MEB : Microscope électronique à balayage.)

actuelle fortement la précision des micromanipulateurs piézoélectriques commerciaux.

1.3.2 Systèmes de télémicroinjection biologique

Les systèmes de télémicroinjection visent à permettre le contrôle de la microinjection, c'est à dire un ajustement précis de la force et de la vitesse du micromanipulation tout en assurant un point d'injection mécaniquement stable. La figure 1.6 illustre l'architecture typique d'une plate-forme de télémicroinjection constituée de deux sous systèmes :

- un système classique constitué de cinq sous-systèmes agissant l'un sur l'autre : l'opérateur humain, le manipulateur Maître (interfaçage Homme/Machine), le canal de communication, le microrobot Esclave (interfaçage Outil/Environnement) et le micro/nano-environnement. Ce système permet des manipulations avec *l'environnement réel* ;
- un système constitué de l'opérateur humain, du manipulateur Maître (interfaçage Homme/Machine), du canal de communication et de l'interface virtuelle. Ce système permet des manipulations sur *l'interface virtuelle*.

C'est le couplage et la synchronisation entre les deux systèmes qui permet d'avoir ce qu'on appelle une plate-forme de télémicroinjection en réalité augmentée. Nous distinguerons sur cette

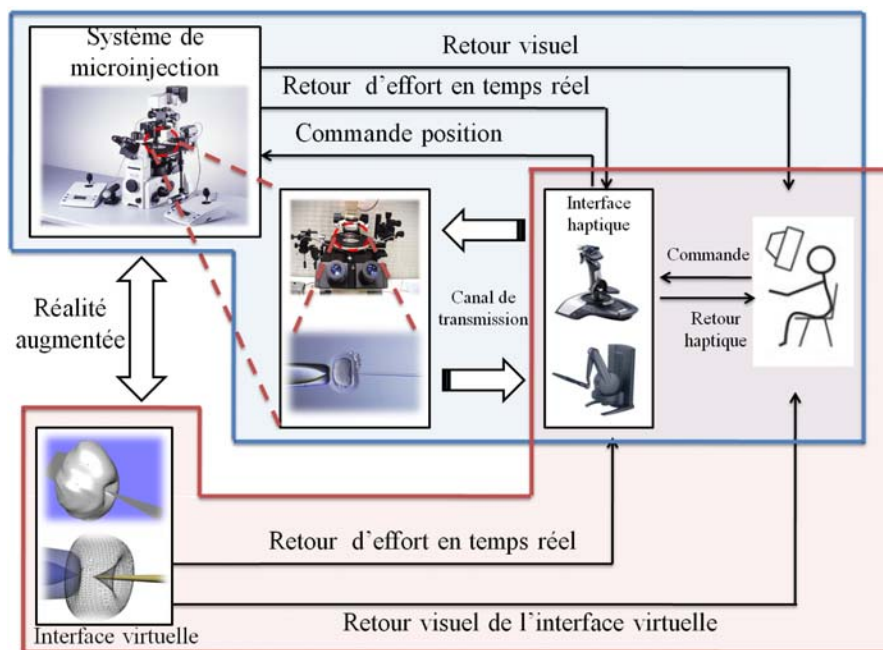


Figure 1.6 – Schéma d'une structure de télémicroinjection maître-esclave couplée avec une interface virtuelle .

base quatre classes de systèmes de microinjection biologique et nous détaillons dans la suite de cette section les aspects technologiques de chaque plate-forme, leurs avantages ainsi que leurs limitations. L'objectif de ce paragraphe ne sera pas de réaliser un état de l'art exhaustif, mais seulement de mettre en avant les différents types de plate-formes de microinjection cellulaire et leurs principales caractéristiques.

1.3.2.1 Téléopération directe

Dans la littérature, de nombreux systèmes de téléopération directe basés sur le retour visuel ont été développés pour des applications de micromanipulation. Le système de biomicromanipulation développé par [171] est certainement le système d'injection et de caractérisation le plus connu. Ce système permet de caractériser et de mesurer les propriétés biomécaniques de membranes d'ovocytes de souris à différents stade de leurs développements. Pour cela, ils utilisent des micromanipulateurs équipés de microcapteurs de forces à deux degrés de liberté (voir la figure.1.7). Ces capteurs de forces permettent de mesurer en temps réel la force de pénétration de la micropipette d'injection. Le coeur de ce type de capteur est composé de deux matrices de condensateurs disposés en série et reliés à quatre ressorts. Grâce aux deux matrices de condensateurs, une mesure de force suivant x et y est possible. Sa résolution est de $0.01 \mu N$ suivant x et de $0.24 \mu N$ suivant y . Il permet donc d'obtenir l'effort exercé en fonction du déplacement de la micropipette et d'en déduire l'effort injection en fonction de la déformation de la biomembrane. Les auteurs proposent également un modèle analytique de dépouillement pour déduire les propriétés mécaniques de la biomembrane à partir des courbes expérimentales. Ce modèle permet ainsi de comparer les modules d'Young, les forces de ponctions et la déformation maximale de la biomembrane de cellules embryonnaires de souris avant et après fertilisation. Malheureusement, leur modèle analytique se base sur une hypothèse de comportement linéaire élastique de la biomembrane qui, comme nous le verrons par la suite, n'est pas réaliste. Il est à noter que nous ne

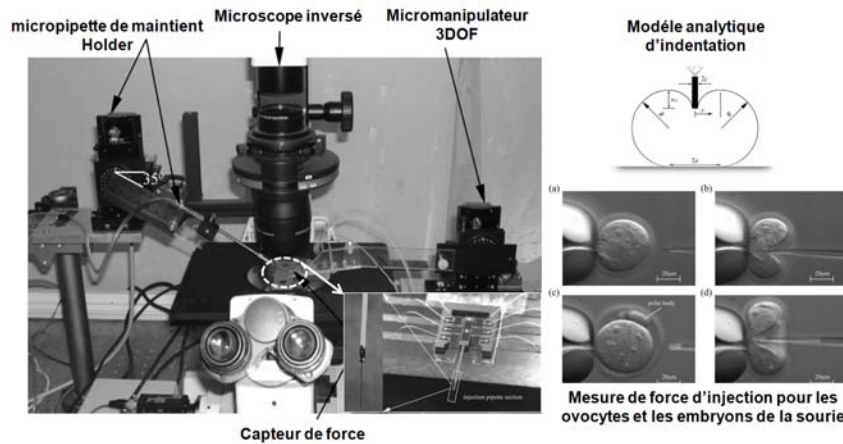


Figure 1.7 – Système de biomicromanipulation développé par [171].

disposons d'aucune information sur le contrôle du geste d'injection.

En s'inspirant des travaux de [171], d'autres groupes ont développé une plate-forme de biomicromanipulation appliquée aux ovocytes de poisson zèbres, qui permet de caractériser et de quantifier les propriétés biomécaniques des ovocytes à différents stades de leur développement [86],[85].

La figure 1.7 illustre un tel système de biomicromanipulation équipé d'un capteur de force qui permet de mesurer les variations de la force de ponction et la déformation de la biomembrane d'ovocytes de poisson zèbre. Afin d'estimer le module d'Young, les auteurs utilisent le même modèle analytique que cité précédemment basé sur une hypothèse de comportement linéaire élastique. Les auteurs ne traitent pas non plus les problèmes de contrôle du geste.

Au contraire de la majorité des méthodes existantes de micro injection qui sont basées sur un contrôle de position sans régulation explicite de la force, [196] proposent une approche de contrôle de la force qui permet de réguler explicitement la force d'injection et de suivre sa direction pendant l'injection afin de mieux sécuriser le geste pour, par exemple, éviter de détruire la cellule (voir figure 1.9). Ils ont ainsi implémenté une approche adaptative de type *contrôle de force par impédance* pour mieux maîtriser le geste d'injection. Cette approche peut également être employée pour compenser les incertitudes sur la rigidité de la membrane de cellules.

1.3.2.2 Téléopération à retour d'effort

Dans cette section, nous présentons les travaux les plus connus et les plus récents concernant les systèmes de microinjection téléopérés couplés à une interface à retour d'effort, introduisant un lien haptique direct entre l'utilisateur et le système d'injection.

L'équipe du laboratoire de mécanique et d'ingénierie de l'université de Drexel aux États Unis a développé un système de biomicromanipulation muni d'un capteur de force permettant de mesurer des forces d'injection cellulaire (figure 1.10). Couplé à un retour visuel et à une interface haptique avec retour de d'effort, ce système permet à l'utilisateur de ressentir en temps réel les forces générées par l'injection d'une solution à l'intérieur d'un ovocyte [140].

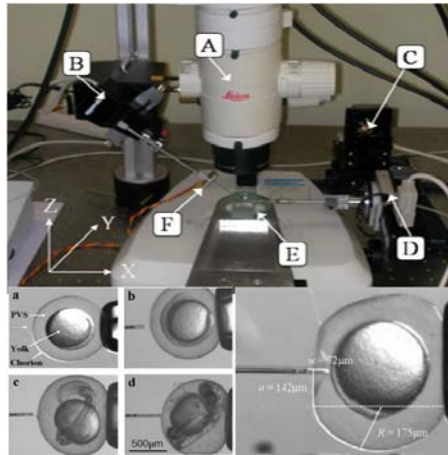


Figure 1.8 – Système de biomicromanipulation développé par [86] pour la caractérisation des propriétés biomécaniques de cellules de poisson zèbre.

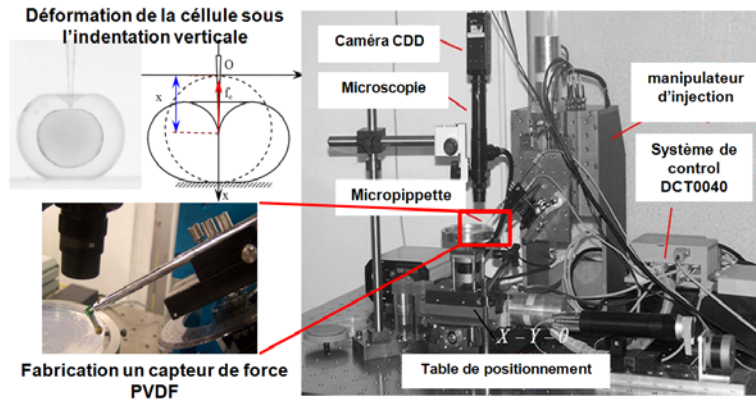


Figure 1.9 – Système de biomicromanipulation développé par [196].

Une campagne expérimentale d'injections dans des ovocytes de poisson zèbre a été menée pour évaluer les gains en performances apportés par le système. Deux scénarios d'essai S_1 , S_2 ont été élaborés pour évaluer les effets bénéfiques :

- d'une part de l'apport du retour visuel seul (V) ;
- d'autre part de l'apport du retour visuel couplé au retour haptique (V+F).

Dans le scénario S_1 l'opérateur ne peut pas visualiser la solution injectée à l'intérieur de l'ovocyte (ovocyte non transparent) alors qu'il le peut pour le scénario S_2 (ovocyte transparent).

La perception visuelle couplée au retour haptique apparaît essentielle à la régulation du geste durant les différentes phases de la microinjection puisqu'elle permet d'augmenter significativement le taux de réussite de l'injection cellulaire par rapport à des expérimentations basées seulement sur le retour visuel. Ainsi, le taux de réussite d'injections pour le scénario S_1 est de 37% seulement lorsqu'il n'y a que le retour visuel (V), alors qu'il monte à 81% pour le retour visuel couplé au retour haptique (V+F).

Si la possibilité de visualiser la couleur de la solution injectée à l'intérieur de l'ovocyte (scénario S_2) augmente significativement le taux de réussite du geste durant la phase d'injection, il est à

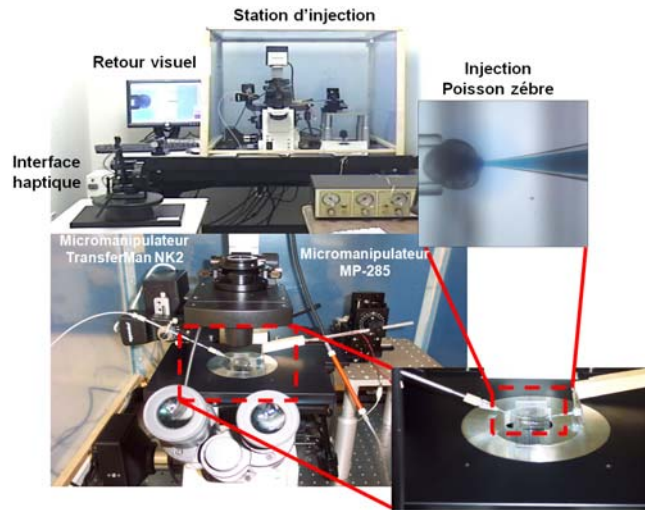


Figure 1.10 – Système de biomicromanipulation développé par [140] afin d'évaluer le rôle du retour haptique.

	<i>Scénario S_1</i>	<i>Scénario S_2</i>
<i>Vision (V)</i>	37 (%)	81 (%)
<i>Vision + Force (V+F)</i>	75 (%)	89 (%)

Tableau 1.1 – Comparaison des résultats du taux de réussite des différents scénarios [140] .

noter que, l'efficacité est encore renforcée par l'apport du retour haptique. Le tableau 1.1 résume les différents taux de réussite d'injections pour les deux scénarios S_1 et S_2 . Cette étude prouve que la combinaison entre le retour visuel et haptique, augmente potentiellement la réussite des tâches de biomicromanipulation pour cette étude.

Les auteurs ne donnent malheureusement pas de précisions sur la stabilité de leur système, ni sur les modalités de couplage entre l'interface haptique et le système d'injection. Ce système présente également des limitations liées à sa résolution :

- il n'est pas adapté à l'étude d'autres types de cellules : s'il permet de manipuler des cellules de grandes tailles (de $500 \mu m$ à $1200 \mu m$) comme des ovocytes de poisson zèbre, il ne permettrait pas d'étudier des ovocytes de souris ou humains, dont la taille est plus réduite (de l'ordre de $50 \mu m$).
- les forces mesurées doivent rester relativement importantes car le capteur de force n'est pas adapté aux mesures de forces plus petites (de l'ordre de quelques micro Newtons au nano Newton).

1.3.2.3 Téléopération en réalité augmentée

Dans cette section, nous présentons des interfaces ou des systèmes de microinjection couplés à des modèles virtuels. Leurs principes reposent sur le concept de Réalité Augmentée (RA) dans lequel la scène modélisée, ou monde virtuel, est superposée au monde réel vu par un microscope ou une caméra.

Dans le cadre du développement d'un système basé sur ce concept, [4] proposent une unité de micromanipulation couplée à une interface virtualisée en 3D. L'approche proposée consiste à

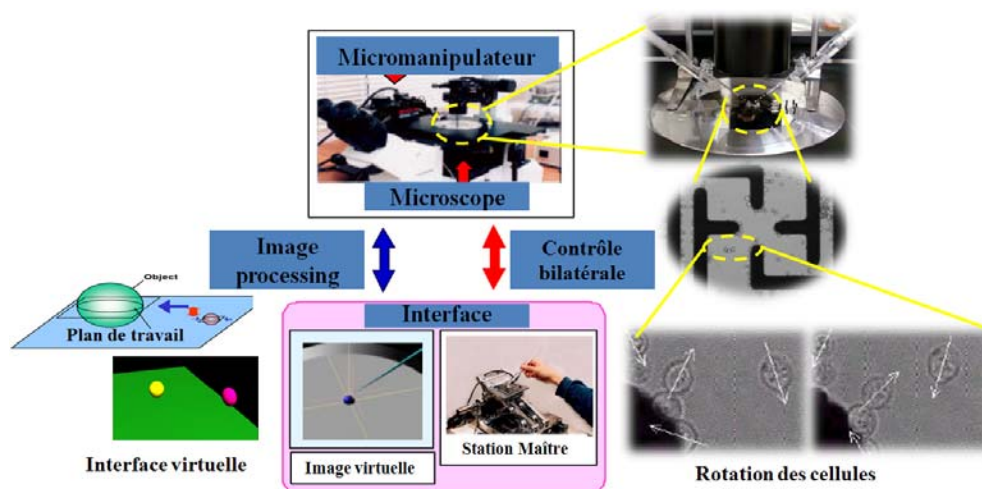


Figure 1.11 – Système de biomicroinjection en réalité augmentée basé sur le retour visuel développé par [4] .

convertir les images 2D de la cellule, issues du microscope optique, en une cellule virtuelle 3D plus facile à manipuler (voir la figure 1.11). Ils utilisent des algorithmes de détection de contours et de minimisation appliqués directement sur des images 2D, afin de reconstruire la scène virtuelle. Un système d'alignement et de rotation 2D a été développé afin de faciliter l'orientation de la cellule sur un plan. La démarche est intéressante mais, si les auteurs utilisent un modèle représentatif de la cellule, celui-ci ne permet malheureusement pas de modéliser des déformations cellulaires. De plus, leur système n'est basé que sur le retour visuel et de ce fait l'opérateur ou le praticien ne peut à aucun moment connaître et quantifier les efforts qu'il exerce sur la cellule (pas de retour haptique).

[148] proposent également un système de microinjection cellulaire assisté par des techniques de réalité augmentée afin d'apporter une assistance à la perception de la scène et au contrôle du geste d'injection. Leur système offre d'une part, le rehaussement des contours des objets manipulés pour compenser le manque de visibilité de la scène et d'autre part, l'affichage de guides visuels pour indiquer à l'opérateur les meilleures configurations d'injection. Le micromanipulateur est de plus contraint dans ses mouvements par les guides virtuels afin d'éviter de détruire les cellules biologiques manipulées. Leur système est également dénué de retour haptique et les outils d'alignement et de rotation de la cellule sont limités à des manipulations en deux dimensions.

La plupart des systèmes en réalité augmentée, comme ceux qui viennent d'être présentés, sont basés sur des modèles purement géométriques qu'il soient 2D ou 3D générés à partir d'images 2D issues du microscope. Une autre génération de systèmes de microinjection en réalité augmentée est, elle, basée sur des modèles biomécaniques de déformation en temps réel, nous allons la présenter dans les prochains paragraphes.

1.3.2.4 Téléopération semi-automatique et/ou automatique

Une des premières plate-formes automatisées a été développée par [170]. Les auteurs proposent un système de biomicromanipulation de cellules embryonnaires basé sur un schéma hybride de retour visuel. Les objets manipulés sont des cellules embryonnaires de souris avec un diamètre

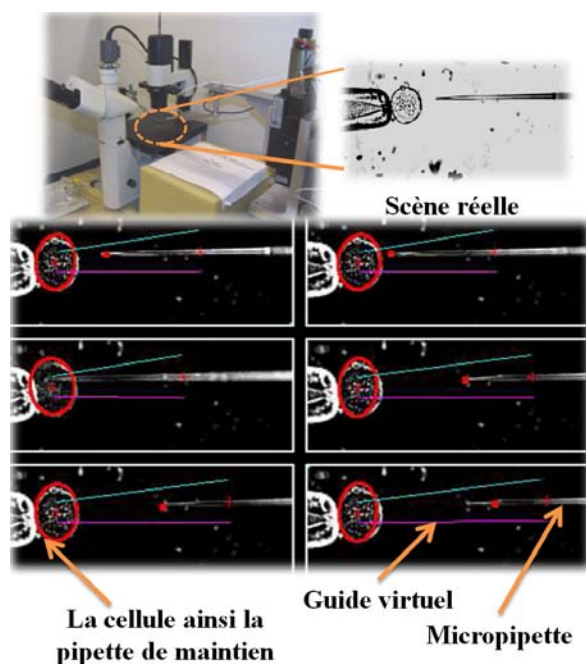


Figure 1.12 – Système de biomicroinjection assisté par les techniques de réalité augmentée développé par [148].

d'environ $55\mu m$. Ce système permet d'injecter de l'ADN à l'intérieur d'un ovocyte. La figure 1.13 illustre le système autonome qui permet de déposer de l'ADN à l'intérieur du nucleus d'une cellule. Différents algorithmes de traitement d'images 2D ont été implémentés qui permettent de détecter le nucleus automatiquement. Ils reposent sur des transformations de Hough¹, et pour suivre le mouvement de la pointe, sur un calcul de flot optique associé à une méthode de minimisation par moindres carrés.

Un schéma de contrôle hybride avec une fonction automatique de commutation permet de basculer entre le mode de détection visuel et le mode de contrôle de position d'injection d'ADN à l'intérieur du nucleus détecté. Le taux de réussite d'injections pour leur système automatisé est optimal (100%) par comparaison à des systèmes manuels pour lesquels le taux de réussite est compris entre 20 et 80%.

Ce système, toutefois, n'est pas réellement entièrement automatisé puisque la pipette de maintien est montée et ajustée manuellement lors du positionnement de la cellule. Il n'est pas possible d'en estimer la robustesse puisque nous ne disposons d'aucune information concernant son comportement vis-à-vis de perturbations externes.

Les auteurs [100], [187] proposent un système de microrobotique qui permet de réaliser des tâches de biomicromanipulation automatisées basé sur une micro plate-forme assurant le maintien et l'immobilisation d'un grand nombre d'embryons, qu'il s'agisse de cellules embryonnaires de souris de diamètre caractéristique de l'ordre de $100\mu m$ ou de cellules embryonnaires de poisson de zèbre de diamètre de l'ordre de $400\mu m$ à $800\mu m$ (figure 1.14). L'objectif de ce système est d'augmenter la rapidité et le taux de réussite des injections cellulaires [100]. Les auteurs affirment d'obtenir de bonnes performances en comparaison avec un système de biomicromanipulation manuel lorsqu'ils l'appliquent à des cellules embryonnaires de souris. Leurs tests montrent que la

1. La transformée de Hough est une technique de reconnaissance de formes, utilisée dans le traitement d'images

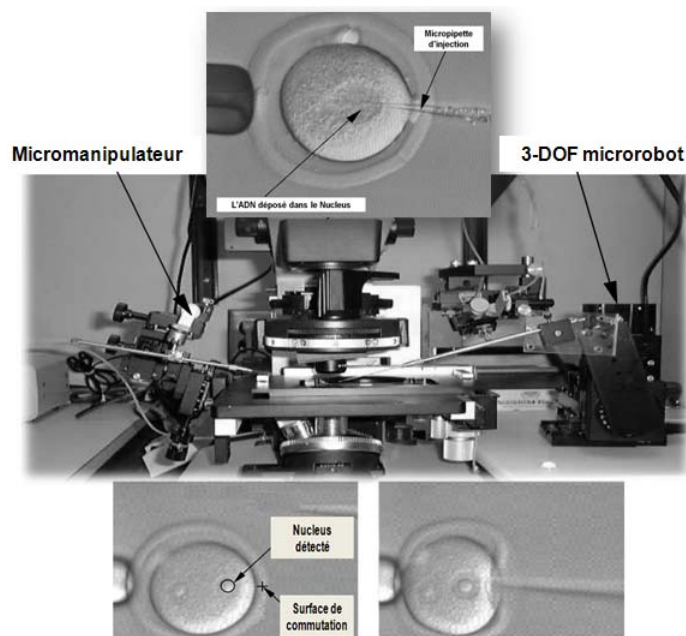


Figure 1.13 – Système de biomanipulation autonome appliqué à la déposé de l'ADN à l'intérieur de Nucleus par [170].

vitesse d'injection est de 9 embryons/min contre 2 embryons/min pour les systèmes de biomanipulation manuels. Le taux de réussite d'injection est de 98.9%, il est à comparer au meilleur taux de réussite pour les systèmes de biomanipulation manuels de 90%. Une légère amélioration est également obtenue sur le taux de survie de cellules.

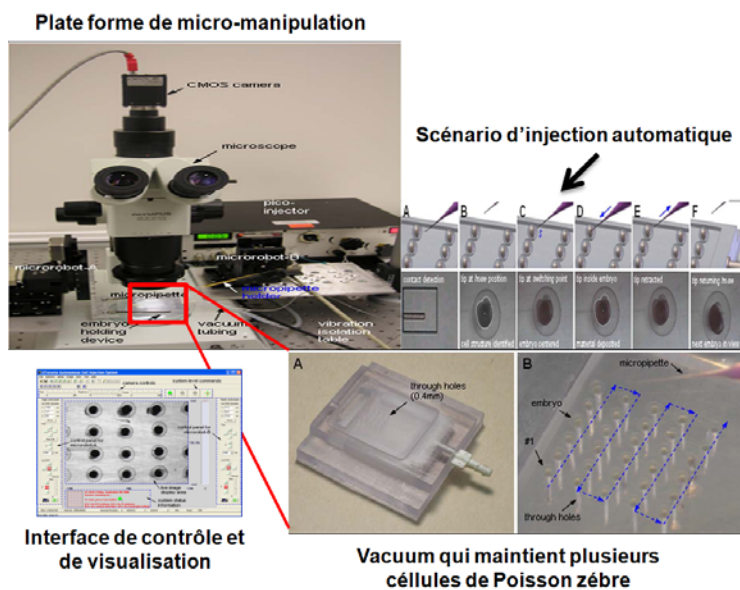


Figure 1.14 – Système de biomanipulation automatisé appliqué au cellules de poisson zèbre développé par [100].

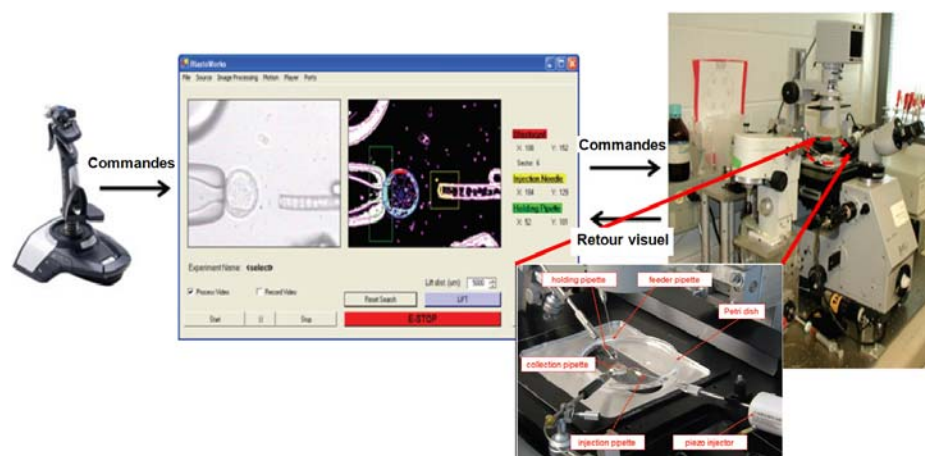


Figure 1.15 – Système de biomicromanipulation développé par [111].

Sur le même principe et avec les mêmes objectifs d'augmentation du taux de réussite et de contrôle du geste d'injection, d'autres chercheurs ont tenté d'introduire d'autres stratégies et systèmes plus adaptés aux tâches de biomicromanipulation. La figure 1.15 illustre aussi un système automatisé téléopéré et assisté par une manette à travers une interface graphique pour des tâches génétiques exécutées sur des blastocystes²[111]. Les auteurs présentent une comparaison entre les résultats de manipulations téléopérées au moyen d'une manette à travers une interface graphique. Plusieurs comparaisons entre les deux modes d'injection sont réalisées. Elles sont basées sur le taux de réussite d'injection, le nombre de développements jusqu'au terme, c'est à dire jusqu'à la naissance des souriceaux ainsi que sur le pourcentage d'apparition de chimères³. Si le model manuel présente un taux de réussite des injections supérieur au mode automatisé, les injections automatisées conduisent à un nombre d'embryon menés à terme supérieur. Il ne s'agit toutefois que de résultats préliminaires. Il est à noter que leur système n'est en fait que semi automatisé, car leur système de maintien est toujours manuel. Aucune information n'est fournie concernant la rapidité et la vitesse d'injection de leur système d'automatisé et les auteurs ne donnent pas de détails concernant les algorithmes de contrôle utilisés pour l'automatisation.

Récemment, un système de microinjection cellulaire automatisé a été commercialisé par la société Fujitsu Computer Systems Corp (figure 1.16). Il permet à priori de réaliser plusieurs injections avec une grande précision sur un nombre élevé de cellules, que se soit des ovocytes ou des cellules souches embryonnaires. 1000 cellules séparées (ovocytes) en 30 minutes et 500 cellules souches embryonnaires en 1 heure. Ce système permet également d'injecter des substances chimiques ou des protéines à l'intérieur de la cellule ou de la structure cellulaire. Ce système est présenté comme un outil plus précis, plus fiable, et plus rapide que les systèmes conventionnels [189], malheureusement, nous ne savons pas quel crédit apporter à ces affirmations puisque la société ne donne pas plus de justifications et ne fournit pas de détails sur la conception de leur système ni sur les lois de contrôle utilisées.

2. Le blastocyste est un stade du développement embryonnaire précoce des mammifères

3. En génétique, une chimère est un organisme qui possède deux ou plusieurs génotypes distincts.

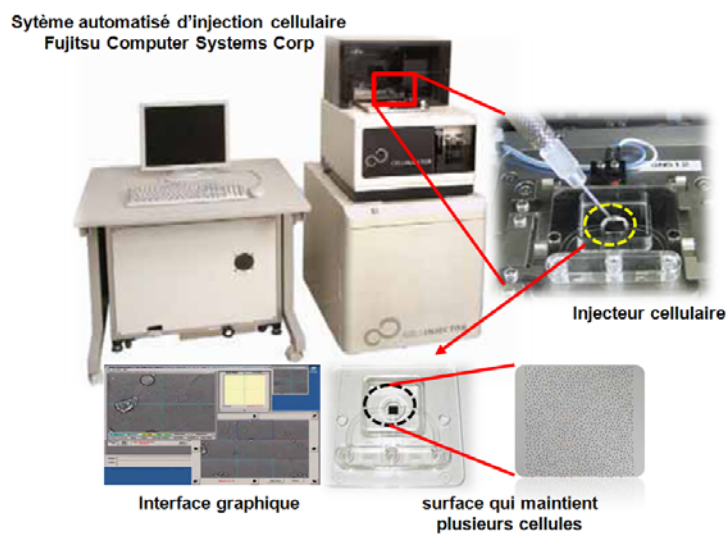


Figure 1.16 – Système de biomicromanipulation automatisé développé par [189].

Systèmes de Téléopération	Applications	Points forts	Limitations
Directe §1.3.2.1 [171] [86] [85] [195] [196]	- Caractérisation et identification biomécanique - Injection cellulaire	- Contrôle de la position et de la force d'injection - Retour visuel - Traitement rapide	- Pas de retour haptique - Systèmes manuels - Modèle analytique élastique linéaire
A retour d'effort §1.3.2.2 [140]	- Caractérisation et identification biomécanique - Injection cellulaire	- Contrôle de la position et de la force d'injection - Contrôle du geste par couplage entre le rendu visuel et le rendu haptique	- Systèmes manuels
Réalité augmentée §1.3.2.2 [4] [148]	- Caractérisation et identification biomécanique - Injection cellulaire	- Contrôle de la position et de la force d'injection - Couplage à une interface virtuel - Guides virtuels	- Pas de retour haptique - Systèmes manuels - Modèles de déformations purement géométriques - Pas de retour haptique
Automatique §1.3.2.2 [170] [189] [187] [111] [100]	- Injection cellulaire	- Contrôle de la position et de la force d'injection - Systèmes rapides, fiables - Gain de temps, de coût - Injection simultanée plusieurs cellules - Détection automatique	- Semi automatique - Peu d'information sur les lois de contrôle ainsi que la robustesse

1.3.3 Synthèse

Des contraintes pouvant être liées aux outils utilisés ou au micro-environnement dans lequel elles sont pratiquées rendent les tâches de microinjection délicates. Le moyen conventionnel d'observation consiste en un microscope optique dont la profondeur de champ demeure limitée et qui, en l'absence d'écran de contrôle, génère une fatigue visuelle importante. La cellule manipulée et le milieu dans lequel elle repose constituent un micro-environnement dans lequel les efforts mis en jeu, obéissent à une dynamique différente de celle de référence à l'opérateur : les forces de gravité et d'inertie peuvent être supplantées par les forces d'adhésion. Ces différences peuvent introduire, d'une part, une mauvaise compréhension de certaines situations durant le déroulement des opérations et d'autre part, des instabilités au niveau de la commande des micromanipulateurs.

Des solutions avec des plate-formes spécifiques ont été proposées pour améliorer et remédier en partie à ces contraintes. Le couplage du système avec une interface virtuelle qui comporte une représentation 2D ou 3D apporte des améliorations significatives. Ces solutions demeurent toutefois basées sur des modèles purement géométriques et manquent de réalisme quand aux déformations de la cellule. Certaines approches requièrent des délais de rafraîchissement trop importants et ne peuvent, de fait, être utilisées en temps réel. Une autre amélioration significative consiste à proposer une interface avec retour d'effort à l'opérateur.

Malheureusement, la plupart des plate-formes de microinjection couplées à une interface à retour d'effort n'exploitent pas complètement cette modalité haptique. En effet, pour pouvoir être réalisées de manière intuitive et efficace, certaines tâches doivent être guidées par des métaphores virtuelles pour diminuer la fatigue mentale de l'opérateur générée par des efforts de concentration. Pour optimiser les résultats obtenus, le couplage virtuel doit être basé sur des architectures plus évoluées qui prennent en compte des perturbations externes diverses, d'origines mécaniques ou humaines. Ainsi, dans les rares cas où ceux-ci sont proposés, les guides sont passifs et se présentent sous la forme d'un simple indicateur visuel. Les guides actifs représentés par des plans de contrainte avec des paramètres physiques variables comme la raideur et les frottements, permettent d'améliorer considérablement les performances gestuelles de l'opérateur.

Le tableau 2.2 résume, pour chaque mode de téléopération, les différentes applications possible en microbiologie et souligne les atouts et les faiblesses de chaque système.

1.4 Apports de la simulation aux systèmes de microinjection

Très peu d'équipes de recherche ont cherché à mesurer et à modéliser les forces de déformations générées par l'insertion d'une micropipette dans une cellule biologique. Elles sont encore moins nombreuses à s'être intéressées aux apports de la modélisation numérique basée sur des modèles mécaniques de déformations cellulaires. Nous allons évoquer les travaux des deux équipes qui sont les seules, à notre connaissance, à avoir appliqué à des systèmes de microinjection en réalité augmentée des modèles mécaniques de déformations cellulaires. Cette présentation a pour objectif de montrer clairement l'apport que représente l'introduction de modèles de déformations mécaniques à l'assistance des praticiens dans la réalisation de leurs gestes.

1.4.1 Approche par modèles masse-ressort-viscosité (PRISME)

Dans ce paragraphe, nous présentons les travaux de l'équipe Systèmes Robotiques Interactifs (SRI) de l'institut PRISME de Bourges en France, qui a mis au point une interface homme

machine (IHM) multisensorielle, intuitive et multimodale dédiée à la télé-micromanipulation. Elle permet d'assister l'opérateur dans ses tâches de manipulation en lui fournissant une aide contextuelle et bien adaptée aux contraintes du micromonde (effets d'échelle, environnement, tâches, etc...).

Une des applications de cette IHM est le domaine biologique, et plus particulièrement celui de la microinjection cellulaire. Le système proposé est multimodal, assisté par les techniques de réalité augmentée (voir la figure 1.17). Cette approche repose sur la superposition d'un modèle

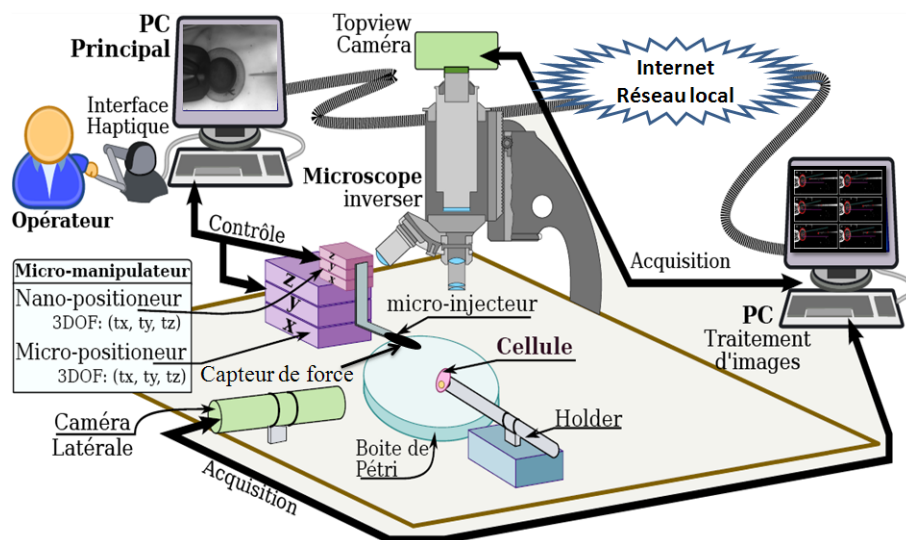


Figure 1.17 – Système de micromanipulation développé au sein de l'institut PRISME.

mécanique virtuel 3D à des images réelles issues du microscope. Le système de microinjection développé consiste dans un premier temps, à rehausser la perception de l'opérateur sur le plan visuel, pour compléter la compréhension de la scène, et dans un deuxième temps, sur le plan haptique pour améliorer la régulation du geste durant les phases d'injection [2].

La reconstruction géométrique 3D de l'environnement de manipulation à partir des images 2D issues du microscope optique, a nécessité le développement de différents algorithmes de traitement d'image. Pour cela, plusieurs prétraitements hors ligne sont appliqués (comme le filtre de Sobel), permettant de minimiser les temps de calculs, d'éliminer les parasites de l'image. Par la suite un algorithme de contours actifs (Snakes) est utilisé pour segmenter les membranes interne et externe. Il repose sur l'utilisation de la transformée de Hough. Sur la base des points de contrôle retournés par le module de traitement d'image et définissant les contours actifs, une méthode numérique de calcul de déformations cellulaires en temps réel est implémentée. Cette méthode est basée sur une approche discrète du type masse-ressort-viscosité. Cette approche viscoélastique permet de reproduire les efforts exercés par la pipette sur la cellule durant la microinjection. La méthode proposée offre également un outil de préparation au geste opératoire, l'opérateur peut ainsi s'entraîner et perfectionner son geste en amont des opérations (voir la figure 1.18). Un autre point important de ce travail est l'introduction d'un guide virtuel, qui permet d'assister l'utilisateur humain dans son geste d'injection et de le fiabiliser.

Cette approche est une méthode intéressante puisqu'elle permet d'obtenir des résultats en temps réel visuellement corrects. De plus, couplée à un système de retour de force, elle devient un outil

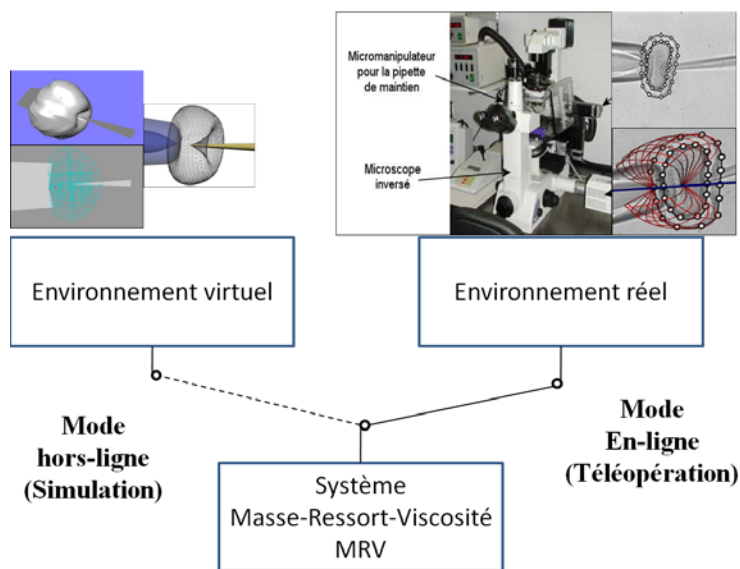


Figure 1.18 – Les deux modes d’utilisation du système discret ; masse-ressort-viscosité (MRV).

performant dans l’apprentissage de gestes d’injection. Toutefois les résultats obtenus en terme de comportement mécanique sont peu réalistes. Le modèle, constitué de masses, de ressorts et d’amortisseurs n’est pas physique. L’identification des paramètres est donc délicate puisqu’il ne s’agit pas des paramètres rhéologiques des cellules étudiées.

1.4.2 Approche par la méthode des éléments de frontière (KAIST)

Kim et al [87] proposent, quant à eux, un système de microinjection en réalité augmentée basé sur un modèle de déformations mécaniques de la membrane cellulaire issu de la mécanique des milieux continus. Le modèle numérique de résolution repose sur la méthode des éléments frontières (Boundary Element Method (BEM)). Le système de microinjection développé combine le retour visuel et le retour haptique. Les forces ressenties par l’opérateur, via une interface à retour d’effort, sont estimées à partir des résultats de la simulation par la méthode des éléments frontières en 2D. Les auteurs se sont essentiellement basés sur une détection globale du contour de cellule en utilisant l’algorithme de contour actif ainsi qu’au suivi du mouvement de la pointe de la micropipette en utilisant un algorithme d’appariement de motifs (*template matching*). Sur la base des points de contrôle retournés par l’algorithme de (*contours actifs*)⁴, les déformations cellulaires sont calculées par la méthode des éléments frontières en temps réel. La figure 1.19 présente leur système de microinjection ainsi que la reconstruction bidimensionnelle issue du modèle de déformation superposé aux images réelles de la cellule de poisson zèbre.

La méthode BEM, puisque basée sur la mécanique des milieux continus, est plus physique et donc réaliste que l’approche par masse-ressort. Sa force est que tous les calculs associés au comportement d’un objet élastique sont effectués à la surface de celui-ci au lieu de devoir être réalisés en tout point du volume comme pour les éléments finis.

Toutefois, cette méthode présente plusieurs inconvénients : seuls les matériaux linéaires, élastiques, homogènes et isotropes peuvent être modélisés par cette approche et il est très difficile d’intégrer des lois de comportement plus complexes en temps réel, en particulier pour prendre

4. Snakes

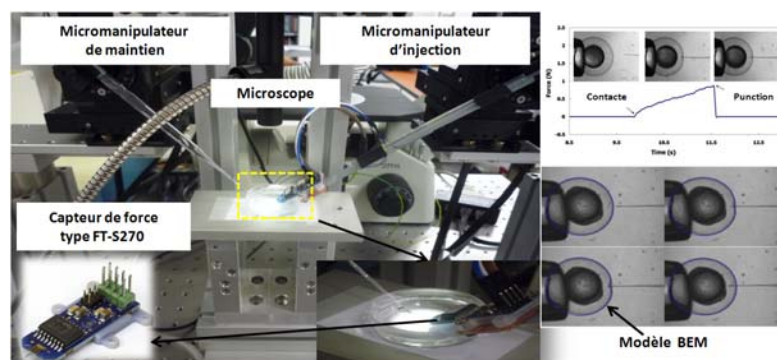


Figure 1.19 – Système de microinjection couplé avec la méthode des éléments frontières (BEM) développé par [87].

en compte les non linéarités physiques, ou de traiter des structures hétérogènes. De plus, ce qui fait la force de la méthode, à savoir de reporter les calculs à la surface de l'objet, devient un inconvénient majeur lorsqu'il s'agit de modéliser une ponction puisqu'alors la surface est modifiée à chaque instant.

1.5 Apports de la simulation à l'apprentissage du geste

1.5.1 Intérêt des simulateurs interactifs

Les simulateurs ont été appliqués à une échelle macroscopique à de nombreux domaines avec succès. Ils peuvent aussi bien être utilisés dans l'aéronautique (simulateur de navette spatiale, simulateur de vol [128]), dans le domaine des transports (simulateur de conduite ou simulateur de poids lourds [63]) ou encore dans le sport (simulateur de formule 1, etc.).

De manière générale, ces simulateurs sont dédiés à la formation, à l'entraînement, au perfectionnement, au développement de nouveaux outils ou encore à la validation de nouvelles techniques. Un simulateur offre donc un entraînement sans risque pour des futurs experts et leur permet d'acquérir un minimum d'expérience avant d'agir sur ou dans un environnement réel. Dans le domaine de l'aéronautique par exemple, la formation inclut un entraînement obligatoire sur simulateur de vol.

Dans le domaine de la manipulation cellulaire, un simulateur devra permettre aux jeunes praticiens de s'entraîner et de se former. Ils pourront également se confronter à des cas rares pour s'y préparer. Pour les praticiens expérimentés, ils pourront s'exercer pour maintenir leur niveau technique, se perfectionner, tester de nouveaux outils ou encore valider de nouvelles techniques.

Dans le secteur médical, du point de vue de la société, le bilan de l'utilisation d'un simulateur est très positif :

- en diminuant la durée de formation d'un praticien, elle génère des économies financières et permet d'améliorer l'adéquation entre le nombre des praticiens formés et les besoins de la sociétés ;
- en améliorant la formation d'un praticien, elle limite les risques de complications pour le patient.

Dans certains cas, lorsque le geste chirurgical peut par exemple engager un processus vital. L'utilisation d'un simulateur fonctionnel doit également permettre à l'expert d'optimiser son geste.

Si l'introduction du simulateur, comme outil de formation et d'apprentissage, a permis, dans de nombreux domaines d'accroître la sécurité en améliorant la pratique des professionnels, il est important de souligner qu'il n'existe à ce jour aucun simulateur interactif pour la fécondation in vitro avec micromanipulation.

1.5.1.1 Classification des simulateurs médicaux interactifs

La présentation qui suit a pour objectif de recenser les différentes classifications des simulateurs proposées dans la littérature. Les simulateurs ont évolué afin de permettre la planification et la simulation d'opérations en préopératoire. La plupart des simulateurs médicaux sont désormais du type SVRE (Simulateur Virtuel avec Retour d'Effort) et font tous appel au concept de réalité virtuelle.

Plusieurs classifications des simulateurs sont possibles. Certains auteurs proposent une classification des simulateurs en 3 générations (voir figure 1.20) en fonction de leur réalisme [150], tandis que [115] a proposé une classification suivant leurs objectifs :

- Simulateur d'Environnement ou d'Immersion Complet (SEC ou SIC) ;
- Simulateur d'Entraînement Partiel de Tâches (SEPT) ou Simulateur d'Immersion Partielle (SIP) ;
- Simulateur d'Enseignement Assisté par Ordinateur (SEAO).

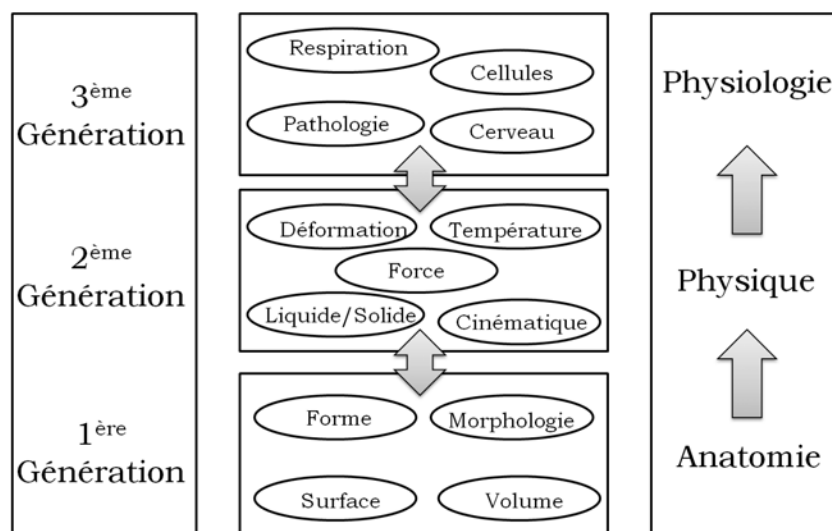


Figure 1.20 – Classification des trois générations de simulateurs suivant [150]

Une autre classification proposée par Silveira [164] en fonction de leur nature, par rapport à leurs composants : Simulateurs Anatomiques (SA), Simulateurs Virtuels (SV), Simulateurs Virtuels avec Retour d'Effort (SVRE) et Simulateurs Anatomiques Instrumentés et/ou Virtuels (SAIV). Enfin, Promayon a classifié les simulateurs selon les caractéristiques recherchées [141]. C'est dans cette optique que notre simulateur de microinjection cellulaire sera élaboré pour tenter de répondre à des critères de :

- **Précision et réalisme** : le critère de réalisme d'une simulation est fortement lié à celui de précision, c'est le degré de fidélité et de fiabilité du modèle à la réalité du comportement des tissus mous modélisés ainsi que le degré de robustesse du geste ;
- **Efficacité calculatoire** : l'efficacité des calculs est un critère important, c'est le temps de calcul nécessaire à la résolution d'un pas de simulation comprenant les calculs des déplacements et des déformations des structures modélisées ;
- **Conformité expérimentale** : c'est le degré d'adéquation de la réponse du modèle physique avec celle de la cellule réelle ;
- **Interaction haptique** en temps réel : La perception haptique permet d'améliorer la perception du contact entre l'outil et les objets déformables, notamment pour des tâches de manipulation en temps réel (découpe, suture, ponction...).

1.6 Fonctionnalités recherchées pour un outil de simulation et d'assistance pour l'injection cellulaire

Actuellement, on voit apparaître de plus en plus d'autres types de simulateurs qu'on pourrait qualifier de simulateurs biologiques, pour lesquels il s'agit de modéliser le tissu biologique non plus à une échelle macroscopique, mais microscopique. C'est à cette catégorie que se rattachera notre simulateur d'injection cellulaire. Pour synthétiser, notre simulateur pourra être vu comme un outil :

De formation

Un des problèmes de la technique ICSI est le découplage entre le mouvement du geste du technicien et le champ de vision. En effet, celui-ci réalise les opérations de microinjection avec une micropipette d'injection sans regarder le mouvement de ses mains, et contrôle son geste opératoire sur une image issue du microscope optique 2D transmise sur un moniteur vidéo. Ce type d'opération demande une capacité de coordination entre la vision en 2D et le mouvement des mains qui ne sont pas intuitifs et nécessitent un apprentissage préalable pour développer des aptitudes de synchronisation de mouvements et de vision découplés. L'intérêt d'un simulateur en réalité virtuelle est alors évident. Le technicien ne regardant durant l'injection que son écran de contrôle, il s'agira simplement de générer en images de synthèse les déformations de cellules biologiques virtuelles réagissant aux gestes de l'opérateur. Ceux-ci seront transmis à l'ordinateur par un appareil doté de capteurs de position. En retour, les forces générées par le contact entre l'outil et la cellule virtuelle calculées et amplifiées par l'ordinateur pourront être transmises à l'utilisateur.

De sécurité

La réalité virtuelle donne un environnement plus sûr et confortable. Les praticiens peuvent commettre des erreurs sans conséquences dangereuses pour l'équipement, les cellules des patients. Les programmes d'entraînement deviennent moins stressants pour les praticiens.

D'assistance et de guidage du geste

Cet outil de simulation permettra également au technicien expérimenté de planifier une stratégie de microinjection particulière et de la répéter préalablement à sa réalisation. Dans ce cas précis, le simulateur aura pour vocation d'aider, de guider et d'assister par la simulation, l'opérateur avant son expérimentation réelle.

Une assistance pourra également être apportée au geste réel du technicien par l'introduction de guides virtuels. Cette assistance par guides virtuels ne concerne pas seulement les aspects visuels mais aussi les aspects haptiques par la mise en place de guides haptiques restreignant les gestes de l'opérateur. Ceci permettra de sécuriser les gestes opératoires (tremblements, gestes brusques) et de maîtriser l'injection en guidant le geste de l'opérateur.

Pédagogique :

Outre son intérêt pour la formation, un tel simulateur pourra être enrichi de fonctionnalités pédagogiques, en proposant par exemple une série d'exercices de difficulté croissante, voire la simulation de situations critiques, en mesurant l'efficacité du technicien à les gérer. Le simulateur d'injection cellulaire développé sera un outil de formation *clinique* car l'opérateur pourra se former et s'entraîner aux techniques ICSI en développant une gestuelle de microinjection proche de celle exécutée en réalité avec une meilleure maîtrise. Il sera également un outil de formation *éthique* pour les nouveaux techniciens car ceux-ci n'auront pas à s'entraîner sur des ovocytes provenant d'animaux ou encore de vieux ovocytes humains. Il sera également viable sur le plan de vue économique car utilisable en permanence et ne nécessitant pas d'équipement particulier.

1.7 Conclusion

Nous avons présenté dans ce chapitre la problématique des techniques d'assistance médicale à la procréation, en particulier la technique de la microinjection intracytoplasmique de spermatozoïde (ICSI). Un état de l'art des différents systèmes de micromanipulation dédiés à la télémicroinjection cellulaire a été réalisé. Nous avons analysé les différents aspects de la télémicroinjection cellulaire, qui nous a conduit à classer les différents systèmes suivant le type de couplage entre opérateur et les systèmes de micromanipulation tout en analysant leurs atouts et leurs limitations. Une analyse plus particulière a été menée pour les systèmes de télémicroinjections en réalité augmentée basés sur des modèles de déformations. Ces systèmes permettent d'un côté, de mesurer et caractériser le comportement mécanique de cellules et d'un autre côté, de contrôler le geste d'injection et de mesurer des forces mises en jeu lors de l'interaction micro-pipette/cellule.

L'analyse des difficultés du geste d'injection et l'apport de la simulation à l'apprentissage du geste, nous a permis de justifier la proposition d'un outil multimodal de simulation et d'assistance à la microinjection cellulaire basé sur le retour haptique.

La compréhension des mécanismes de déformation de la cellule pendant l'insertion d'une micro-pipette est un élément clé nécessaire à la réalisation et développement d'un simulateur réaliste. L'objectif d'un simulateur en temps réel nécessite un compromis entre complexité du modèle cellulaire adapté et rapidité des algorithmes de calcul associés.

Afin de pouvoir traiter les données issues des systèmes de micromanipulation biologiques, de pouvoir modéliser et simuler d'une manière correcte les déformations cellulaires, une revue détaillée des différents modèles biomécaniques de cellules biologiques sera présentée au chapitre II.

Comportement biomécanique de cellules biologiques

Sommaire

2.1	Réponse globale d'une cellule biologique	30
2.2	Organisation globale d'une cellule biologique	31
2.2.1	Structure cytoplasmique	32
2.2.2	Membrane plasmique	33
2.2.3	Noyau cellulaire	34
2.2.4	Cytosquelette	34
2.3	Modélisation de la réponse mécanique globale d'une cellule biologique	37
2.3.1	Première classe : modélisation globale de la cellule par un milieu continu	37
2.3.2	Deuxième classe : modèles énergétiques	41
2.3.3	Troisième classe : modèles micro/nano structuraux	42
2.3.4	Conclusion	48

2.1 Réponse globale d'une cellule biologique

La biomécanique peut se définir aujourd'hui comme la science qui étudie la structure et les fonctions des systèmes biologiques au moyen des méthodes de la mécanique. Elle explore les propriétés mécaniques des organismes vivants et analyse les principes d'ingénierie faisant fonctionner les systèmes biologiques. Elle cherche de plus à caractériser les réponses spatio-temporelles des matériaux biologiques, qu'ils soient de nature solide ou fluide, à des sollicitations imposées comme des efforts, des contraintes internes ou externes. Si certains types de tissus biologiques comme les tendons, les muscles, les vaisseaux sanguins, les os...ont fait l'objet d'une grande attention de la part de plusieurs équipes de recherche les tissus très mous tels que le foie, les reins, les cellules ou le cerveau ont été assez peu étudiés en raison de difficultés technologiques [33], [156], [121].

La détermination de paramètres biomécaniques, en particulier ceux des cellules, est un problème très complexe. Puisqu'il s'agit d'organismes vivants, ceux-ci sont le siège de processus biochimiques dynamiques qui peuvent faire varier les propriétés mécaniques. Les paramètres mécaniques peuvent ainsi changer en fonction de la nature et de l'intensité des actions exercées par des mécanismes dits de *mécanotransduction*. Ils sont également hautement dépendants du type de cellules, des conditions physiques d'étude et des interactions physiologiques et chimiques de la cellule avec son environnement [135],[143], [110]. L'analyse des résultats expérimentaux de la littérature fait ainsi apparaître une grande variabilité des propriétés mécaniques des cellules, en particulier celles associées à la viscoélasticité des cellules. Afin d'illustrer cette diversité, nous pouvons prendre comme exemple la valeur du module de viscosité d'une culture de fibroblastes (Swiss 3T3) : par une technique dite d'électron spin resonance ou par le technique FPR,¹ la valeur obtenue est de l'ordre de $2 \text{ à } 3 \cdot 10^{-3} \text{ Pa s}$ [110], [135] tandis que par microscopie à fluorescence, les ordres de grandeur n'ont plus rien à voir puisque la valeur trouvée vaut $4 \cdot 10^5 \text{ Pa s}$ [143]. Si cette variabilité peut s'expliquer par des différences dans les conditions d'expérimentation (température, milieu d'étude), des différences d'état et de morphologie des cellules étudiées (méthode de prélèvement et de conservation de la cellule), de la manière d'appliquer des contraintes à la cellule [109], [67], du rapport entre la taille de l'outil et celle de la cellule [182], elle est problématique pour la **recherche et la définition de grandeurs mécaniques intrinsèques aux cellules** que l'on souhaiterait décorréler de l'activité biochimique.

Même si les données expérimentales sont rares et présentent une grande dispersion, ces connaissances expérimentales sont essentielles puisqu'elles seules pourront nous permettre de modéliser de manière réaliste les déformations d'une cellule et donc d'assurer la fiabilité d'une simulation. Une modélisation pertinente dépendra bien évidemment de la valeur des grandeurs expérimentales mesurées mais également et c'est un point essentiel, de la manière dont ces grandeurs seront analysées pour en déduire des propriétés mécaniques. Nous allons dès à présent évoquer quelques faits saillants de la réponse mécanique d'une cellule biologique. Nous y reviendrons, en les analysant plus précisément, dans la suite de ce mémoire. Cette réponse mécanique globale de la cellule est classiquement étudiée par un essai au cours duquel il s'agit d'appliquer un effort, ou une déformation directement à la structure cellule. La figure (2.1) illustre le type de réponse non-linéaire caractéristique obtenue pour différentes cellules embryonnaires de souris ou de poisson zèbre lorsque la cellule est déformée par une micropipette ou un microindenteur [171], [86], [95].

1. Fluorescence Photobleaching Recovery : Les mesures de fluorescence de recouvrement de la surface de photoblanchiment

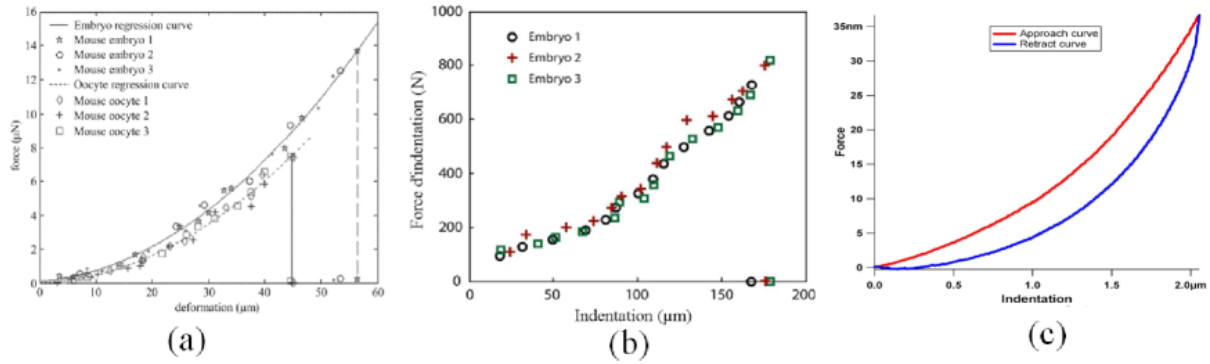


Figure 2.1 – Réponse non-linéaire de différents types de cellule déformées par différents systèmes :
 (a) méthode de microinjection appliquée sur des cellules embryonnaire de souris [171]
 (b) caractérisation de cellules de poisson zèbres basée sur un système d'injection [86]
 (c) caractérisation des cellules souche de souris par indentation en microscopie à force atomique [95]

Ces courbes présentent, malgré des différences d'échelles, de fortes similitudes et mettent en évidence une réponse non-linéaire de la cellule². Cette non-linéarité pourrait s'expliquer de plusieurs manières :

- comportement non-linéaire du *matériau cellule* :
 les déplacements et déformations demeurent petits mais la loi de comportement reliant contraintes et déformations est non-linéaire ;
- comportement non-linéaire de la *structure cellule* :
 la loi de comportement reliant contraintes et déformations demeure linéaire mais les déplacements, les déformations ou les rotations ne sont plus modérés ;
- interaction non-linéaire entre la *structure cellule* et l'outil de manipulation : ces interactions peuvent générer des efforts de contact, de frottement ou encore d'adhésion ;
- toute combinaison des trois cas précédents.

Pour nous permettre d'interpréter la (ou les) origine(s) de cette (ces) non-linéarité(s) nous devons nous intéresser plus précisément à la nature et aux caractéristiques physiques d'une cellule. C'est l'objectif de la suite de ce chapitre dans lequel nous allons présenter, après quelques généralités sur les cellules, l'architecture globale d'une cellule ainsi que ses différents composants. Nous essaierons de définir leurs caractéristiques géométriques, physiques, mécaniques,... ainsi que leurs rôles au sein de la cellule.

2.2 Organisation globale d'une cellule biologique

La cellule³ est l'unité structurale, fonctionnelle et reproductrice constituant tout ou partie d'un être vivant, à l'exception des virus. Chaque cellule est une entité vivante qui, dans le cas d'organismes multicellulaires, fonctionne de manière autonome, mais coordonnée avec les autres. Les cellules de même type sont réunies en tissus, eux-mêmes réunis en organes. Il existe deux principales formes de cellules : d'une part des cellules sans noyau nommées *procaryotes* et

2. La courbe la plus à droite met également en évidence une hystérésis sur un cycle charge-décharge.

3. En latin *cellula* signifie petite chambre.

d'autres part des cellules nucléées nommées *eucaryotes*. Si les bactéries et les cyanobactéries se rattachent à la première forme, la majorité des cellules du corps humain comme les épithéliales, les endothéliales et les neurones, font partie de la seconde famille. De ce fait, pour la suite, nous focaliserons notre étude sur la cellule nucléée qui présente un haut degré de structuration interne.

La cellule nucléée est constituée d'une *membrane cytoplasmique* délimitant le milieu extracellulaire du milieu intracellulaire, d'un *cytoplasme* situé entre le noyau et la membrane plasmique ainsi que d'un *noyau* séparé du milieu intracellulaire par la membrane nucléaire. Au niveau de la membrane cytoplasmique se trouvent des molécules transmembranaires complexes, qui représentent des liens physiques directs entre le cytoplasme et le milieu extracellulaire. Ces points d'ancrage de la cellule adhérente à son voisinage immédiat, sont appelés *points focaux d'adhérence* ou *plaques d'adhésion* (voir la figures 2.2).

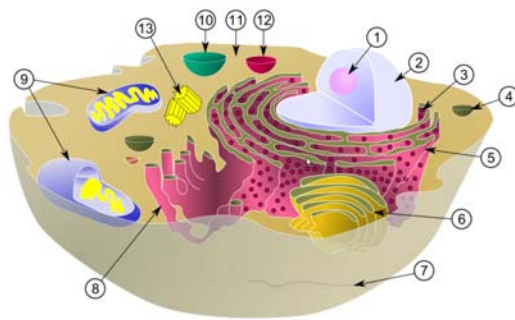


Figure 2.2 – Organisation des différents composants d'une cellule biologique eucaryote typique : (1) Nucléole, (2) Noyau, (3) Ribosome, (4) Vésicule, (5) Réticulum endoplasmique rugueux, (6) Appareil de Golgi, (7) Cytosquelette, (8) Réticulum endoplasmique lisse, (9) Mitochondrie, (10) Cytosol, (11) Vacuole, (12) Lysosome, (13) Centriole (d'après <http://fr.wikipedia.org/wiki/Organite>).

2.2.1 Structure cytoplasmique

Le cytoplasme constitue la principale région fonctionnelle de la cellule. Il regroupe l'ensemble des substances présentes à l'intérieur de la membrane plasmique et à l'extérieur du noyau. Dans une cellule eucaryote, le cytoplasme peut occuper de 50 à 80% du volume de la cellule, lequel se compose à 70% d'eau. C'est un milieu complexe, organisé et dynamique constitué d'un milieu plus ou moins homogène, le *cytosol*, dans lequel baignent les organites. Ce milieu est entrecoupé par un réseau de membranes, connues sous le nom de *réticulum endoplasmique*, qui servent de surface de travail pour toutes les activités du métabolisme cellulaire qui assurent le renouvellement constant des constituants moléculaires et cellulaires. Il contient également des ribosomes⁴, des substances de réserve, des plasmides et un chromosome circulaire.

En termes de structure, le cytosol, assimilé à un liquide aqueux, ne présente pas de forme stable, même si, temporairement, il peut prendre deux types de consistance : l'une de type gel et l'autre de type fluide. Ce sont pourtant les changements de formes de la structure cytoplasmique qui, d'une part, permettent à la cellule de s'adapter aux nécessités métaboliques et, d'autre part,

4. Les ribosomes sont des granules cytoplasmiques présents dans toutes les cellules, mesurant environ une vingtaine de nanomètres. Par ailleurs, ils sont porteurs de l'ARN ribosomique.

jouent un rôle important lors du mouvement cellulaire [162]. C'est en fait la présence au sein du cytoplasme d'un *cytosquelette*, en évolution dynamique, qui lui permet de maintenir sa forme ou au contraire de se déformer.

Le cytoplasme n'est pas une structure totalement étanche. Des pores dans la membrane nucléaire permettent des *échanges internes* de molécules entre le noyau et le cytoplasme. Il s'agit surtout de l'ARN et des molécules régulatrices de l'expression du génome. En effet, même si la plus grande partie du génome est contenue dans le noyau cellulaire, certains organites du cytoplasme, comme les mitochondries, possèdent une certaine quantité d'ADN codant [142] qui se transmet la plupart du temps par voie maternelle. Des *échanges externes* sont également possibles avec le milieu environnant au travers des membranes plasmiques.

2.2.2 Membrane plasmique

Les membranes plasmiques, ou plasmalemmes, sont les membranes qui délimitent une cellule. Elles séparent ainsi le cytoplasme du milieu extérieur. Elles jouent de multiples rôles dans la vie cellulaire :

- elles forment des barrières séparant les milieux externes et internes de la cellule quasi-imperméable mais autorisant cependant des échanges contrôlés entre les deux compartiments ;
- elles comportent sur leurs surfaces externes des sites de reconnaissances spécifiques qui permettent la réception de signaux moléculaires de différentes origines ;
- elles contiennent des enzymes qui sont des sites d'activités biochimiques ;
- elles sont capables d'adapter leur forme, comme dans le cas des globules rouges, ou de résister à des cycles de contraction-relaxation, comme dans le cas des cellules musculaires.

Afin de mieux comprendre le fonctionnement des membranes qui sont loin d'être des enveloppes inertes faites de structures fixes, il nous faut comprendre les interactions de leurs constituants. La membrane plasmique est un film très fin constitué de molécules protéiques et de lipides (phospholipides, glycolipides et cholestérol) dont l'arrangement conditionne ses propriétés élastiques de résistance et de flexibilité [149], [41]. D'une façon générale, une membrane plasmique est globalement structurée selon le modèle de la *mosaïque fluide* proposé par Singer et Nicholson [165].

La figure (2.3) illustre l'architecture d'une membrane plasmique selon Singer et Nicholson, elle est constituée sur ces faces externes de deux couches de feuillets de phospholipides ou *bicouche phospholipidique* dans laquelle les chaînes hydrophobes se font face, les têtes polaires étant orientées vers les phases aqueuses. La membrane est traversée de part et d'autre par des protéines intégrales ou intrinsèques dont les séquences hydrophobes leur permettent d'être dissoutes au cœur de la bicouche. Des protéines périphériques, ou extrinsèques, sont quant à elles liées par des liaisons faibles en énergie soit aux têtes polaires des phospholipides soit aux protéines intrinsèques sur l'une ou l'autre face de la membrane. Enfin, des protéines sont également localisées à l'extérieur de la bicouche mais ancrées dans la membrane par liaison covalente à une molécule de glycophosphatidylinositol (GPI). Il est à noter que les membranes naturelles sont asymétriques : les protéines intrinsèques ne le sont pas et les protéines extrinsèques sont différentes des deux côtés de la membrane. De même, les lipides polaires sont répartis de manière asymétrique sur les deux couches de la membrane [36].

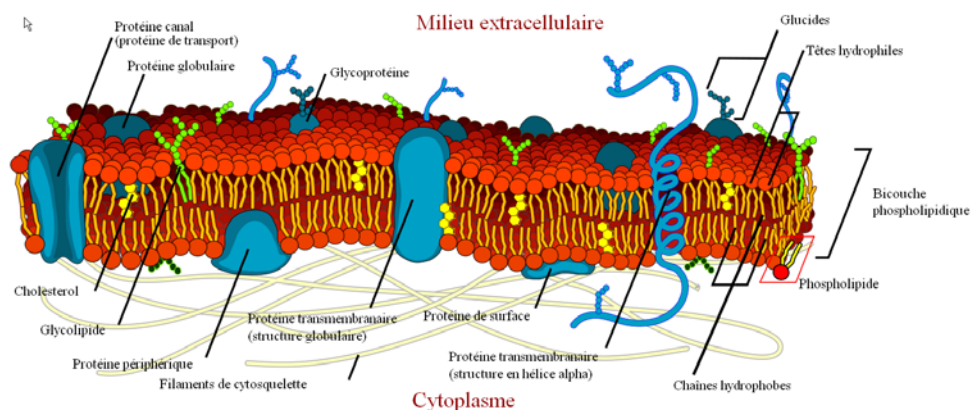


Figure 2.3 – Membrane plasmique selon le modèle de la *mosaïque fluide* proposé par Singer et Nicholson, illustration tirée de : http://fr.wikipedia.org/wiki/Fichier:Cell_membrane_detailed_diagram_fr.svg

D'un point de vue mécanique, la phase lipidique des membranes biologiques peut-être considérée comme fluide dans les conditions physiologiques normales. Elle permet donc le déplacement latéral des constituants mais ces mouvements peuvent être limités par la formation d'agrégats et/ou d'interactions avec le milieu interne (cytosquelette) ou externe (matrice).

2.2.3 Noyau cellulaire

Le noyau est un organite, présent dans les cellules eucaryotes, et contenant la majorité du matériel génétique de la cellule. Il a deux fonctions principales : contrôler les réactions chimiques du cytoplasme et stocker les informations nécessaires à la division cellulaire. Le matériel génétique (ADN) est lui aussi présent dans le noyau, sous la forme d'un complexe ADN-protéines appelé chromatine et composé de plusieurs unités discontinues appelées chromosomes. Le noyau est de fait, le centre de contrôle, la source d'informations déterminant ce que sera la cellule, à quoi elle servira, quand elle devra se multiplier. Il n'y a généralement qu'un seul noyau par cellule. Il a un diamètre variant de 5 à 7 μm , ce qui fait de lui le plus grand des organites présents dans la cellule.

Le noyau peut lui-même s'envisager grossièrement comme une *petite cellule interne*. Son enveloppe est constituée de deux membranes dont l'externe se prolonge avec le réticulum endoplasmique. Des pores permettent de laisser passer des ions et certaines molécules comme l'ARN au travers de l'enveloppe nucléaire. À l'intérieur du noyau se trouvent un ou plusieurs nucléoles entourés par une matrice fibreuse appelée le nucléoplasme. Ce nucléoplasme est un liquide ayant une consistance gélatineuse (similaire à ce niveau au cytoplasme), dans lequel de nombreuses substances sont dissoutes. Ces substances comprennent des nucléotides triphosphates, des enzymes, des protéines et des facteurs de transcription.

2.2.4 Cytosquelette

Il est maintenant largement admis que les grandes fonctions biologiques d'une cellule nucléaire sont étroitement liées à son architecture tridimensionnelle et à son interaction avec son micro-environnement. Parmi les organites qui baignent dans le cytoplasme, le cytosquelette (CSQ) joue un rôle prépondérant sur les formes que peut prendre une cellule. Ce dernier re-

présente ainsi une véritable *charpente pour la cellule*, qu'elle soit adhérente ou embryonnaire. Il constitue un continuum physique entre les points focaux d'adhérence situés sur la membrane plasmique et le noyau. Le CSQ se présente lui-même sous la forme d'une structure tridimensionnelle complexe principalement formée de trois types de filaments polymériques (figure 2.4) hautement interconnectés et reliés à la matrice extracellulaire via les points focaux d'adhérence [109], [71]. Ces trois sous réseaux filamenteux s'organisent en interagissant entre eux et génèrent une tension interne au cytosquelette [58], [60]. C'est cette tension interne qui conditionne la forme et la stabilité de la cellule [65].

Pour comprendre comment des contraintes appliquées agissent sur une cellule, il apparaît ainsi nécessaire de caractériser le comportement mécanique du cytosquelette et de comprendre le rôle de ses principaux constituants que sont les *filaments d'actine*, les *microtubules* et les *filaments intermédiaires*.

2.2.4.1 Réseau de filaments d'actine

Les filaments d'actine (actine-F) ou microfilaments, sont des polymères à structure en double hélice avec un diamètre moyen de 5 nm , une longueur de persistance d'environ $17\text{ }\mu\text{m}$ de l'ordre de grandeur du diamètre de la cellule. Leur structure montre une dynamique biologique au sens où ils sont engagés dans un double processus de polymérisation à une extrémité du filament et de depolymérisation à l'autre extrémité. Ils s'organisent en sous réseaux qui diffèrent les uns des autres structurellement en fonction de leur localisation dans la cellule [20], [82].

L'un des rôles principaux de l'actine est de générer, à différents endroits du cytoplasme, une tension cellulaire. Cette tension est obtenue par le regroupement des filaments d'actine en faisceau de fibres couplés à des molécules de myosine qui en sont les véritables *moteurs moléculaires*⁵.

De nombreuses recherches et plusieurs techniques ont été développées afin de déterminer les caractéristiques rhéologiques des microfilaments. S'il est clair que leur comportement est *viscoélastique*, les auteurs ne peuvent pas néanmoins certifier que les filaments d'actines testés ont un comportement mécanique plutôt de type *fluide viscoélastique* que de type *solide viscoélastique* [72]. Cette difficulté est due à la grande variabilité des mesures de propriétés en fonction de divers facteurs physiques comme la concentration cytoplasmique, la présence ou non de certaines protéines, la longueur des filaments et leur degré de connection, mais également de facteurs environnementaux liés aux conditions de déroulement des essais comme la vitesse de déformation [17],[73],[134].

2.2.4.2 Microtubules

Un microtubule est un tube dont la paroi est constituée de plusieurs protofilaments de tubuline, de diamètres extérieur de 30 nm et intérieur de 18 nm . Sa longueur, variable du fait de sa dynamique interne, est comprise entre 2.5 et $10\text{ }\mu\text{m}$ dans le cas des cellules endothéliales et musculaires, et peut atteindre $20\text{ }\mu\text{m}$ dans le cas de cellules nerveuses. Les microtubules sont les constituants les plus rigides du cytosquelette.

5. Les moteurs moléculaires sont des moteurs dans lesquels les mouvements individuels de quelques molécules sont à l'origine de la conversion d'une forme d'énergie (le plus souvent chimique) en travail.

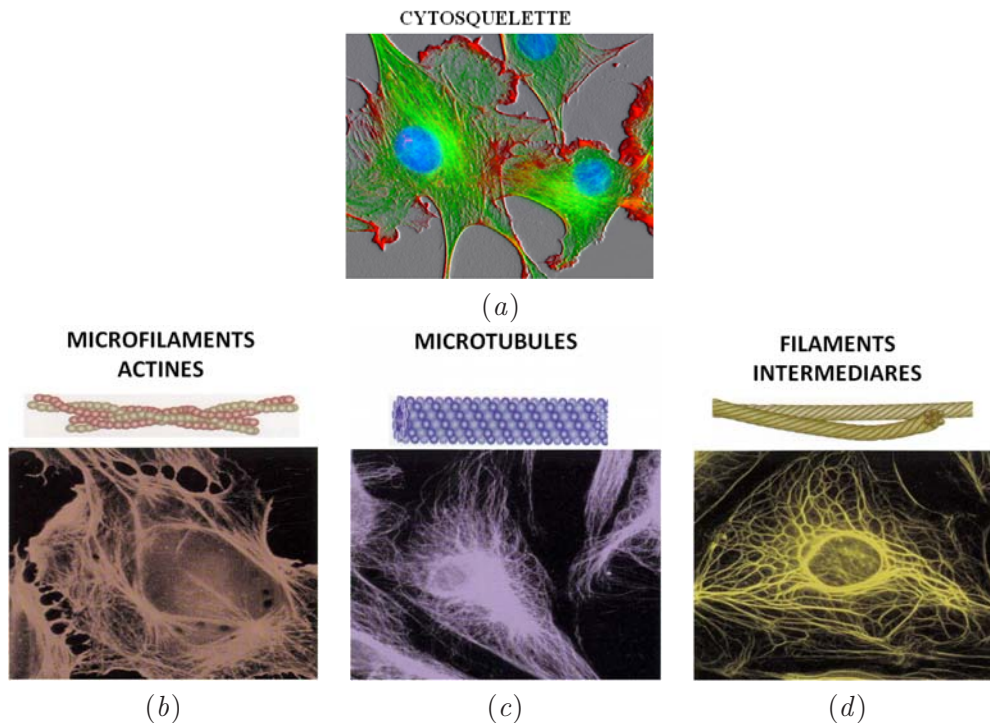


Figure 2.4 – Structure microscopique du cytosquelette : (a) Cytosquelette, (b) Microfilaments (c) Microtubules , (d) Filaments intermédiaires.

Tout comme les filaments d'actine, ils sont en constant état dynamique de polymérisation et dépolymérisation. Cet état est régulé par certaines protéines appelées MAP (Microtubule Associated Proteins) qui sont également à l'origine de la diversité des structures adoptées par les microtubules. Ce sont des structures polaires : l'extrémité dont la croissance est rapide est appelée l'extrémité "plus", tandis que l'extrémité dont la croissance est lente est appelée extrémité "moins". Par ailleurs, il semble que les microtubules sont connectés suivant des angles particuliers aux filaments d'actine par des protéines spécifiques de liaison et que leurs interactions contribuent à fournir une tension interne garantissant la stabilité de l'architecture des cellules eucaryotes [83], [53], [58].

De façon générale, les microtubules sont présentés comme les véritables "*piliers*" du cytosquelette. Mitchison et al. estiment qu'ils sont environ 300 fois plus résistants à la torsion que les microfilaments [122]. Janmey et al. montrent que les microtubules se comportent comme des *solides élastiques* présentant une haute rigidité et une relativement faible déformation à rupture d'environ 50% [72].

2.2.4.3 Réseau de filaments intermédiaires

Un filament intermédiaire est un entrelacement de huit protofilaments de forme à peu près cylindrique d'environ 10 nm de diamètre. Ils sont appelés intermédiaires car leur diamètre apparent est compris entre celui des microfilaments et des microtubules.

Le rôle biologique des filaments intermédiaires est moins bien connu que celui des deux autres types de composants du cytosquelette et de nombreuses études sont en cours pour comprendre leur comportement ainsi que leur fonction. De manière générale, les filaments intermédiaires semblent également impliqués dans la stabilité cytoplasmique et l'adhésion cellulaire.

D'un point de vue mécanique, les filaments intermédiaires possèdent une grande résistance à la traction. Une fois constitués, ils sont stables, ne se dissocient pas et constituent un groupe hétérogène de fibres du cytosquelette [26]. Par ailleurs, Brodland et al. considèrent que les filaments intermédiaires rigidifient les microtubules en les empêchant de fléchir et leur permettent de supporter des efforts de compression 10 fois plus importants [15].

Conclusion

Dans les paragraphes précédents, nous avons donné une description assez générale de la cellule ainsi que de sa structure interne : membrane, cytoplasme, cytosquelette et noyau.

De nombreux modèles ont été développés pour essayer de quantifier et analyser la réponse mécanique cellulaire. Nous détaillerons les principaux d'entre eux dans la prochaine section. Il ressort toutefois de la présentation précédente qu'il semble nécessaire d'utiliser des modèles biomécaniques performants qui puissent rendre compte de la complexité structurale du cytosquelette, *charpente de la cellule*.

A partir de l'analyse de ces modèles, nous tenterons de déterminer le modèle qui nous semble le plus adapté pour modéliser au mieux le comportement biomécanique de la cellule tout en limitant le coût des calculs engendrés.

2.3 Modélisation de la réponse mécanique globale d'une cellule biologique

Dans cette partie, nous répertorions les principales approches, apparues ces dernières années pour modéliser le comportement mécanique d'une cellule biologique. La plupart de ces approches peuvent se rattacher à l'une des trois principales classes que sont les approches par milieu continu, énergétique et micro/nano structurelles (voir la figure 2.5).

2.3.1 Première classe : modélisation globale de la cellule par un milieu continu

Les premiers modèles développés sont basés sur une approche rhéologique. Ces modèles s'appuient sur une représentation globale de la cellule et permettent donc de quantifier des *propriétés biomécaniques globales* de la cellule étudiée en utilisant différentes techniques expérimentales (micro/nanomanipulation, magnétocytométrie, AFM, etc...). Ces modèles considèrent la cellule comme un milieu continu constitué d'un matériau solide ou fluide équivalent, dont le comportement peut être élastique, visqueux ou viscoélastique. Ils ont été développés dans un premier temps pour analyser les expériences dans les essais d'aspiration par micropipette.

- Une première possibilité est de considérer la cellule comme un matériau solide (voir la figure 2.6) :

La modélisation la plus simple est celle d'un milieu élastique linéaire isotrope incompressible où la cellule est vue comme un milieu semi-infini soumis à des petites déformations [180]. Cette approche permet de relier la valeur du module d'Young apparent de la cellule à la pression appliquée ΔP et à la hauteur de matière aspirée δ :

$$\delta = \frac{\Delta P}{E} \Phi \quad (2.1)$$

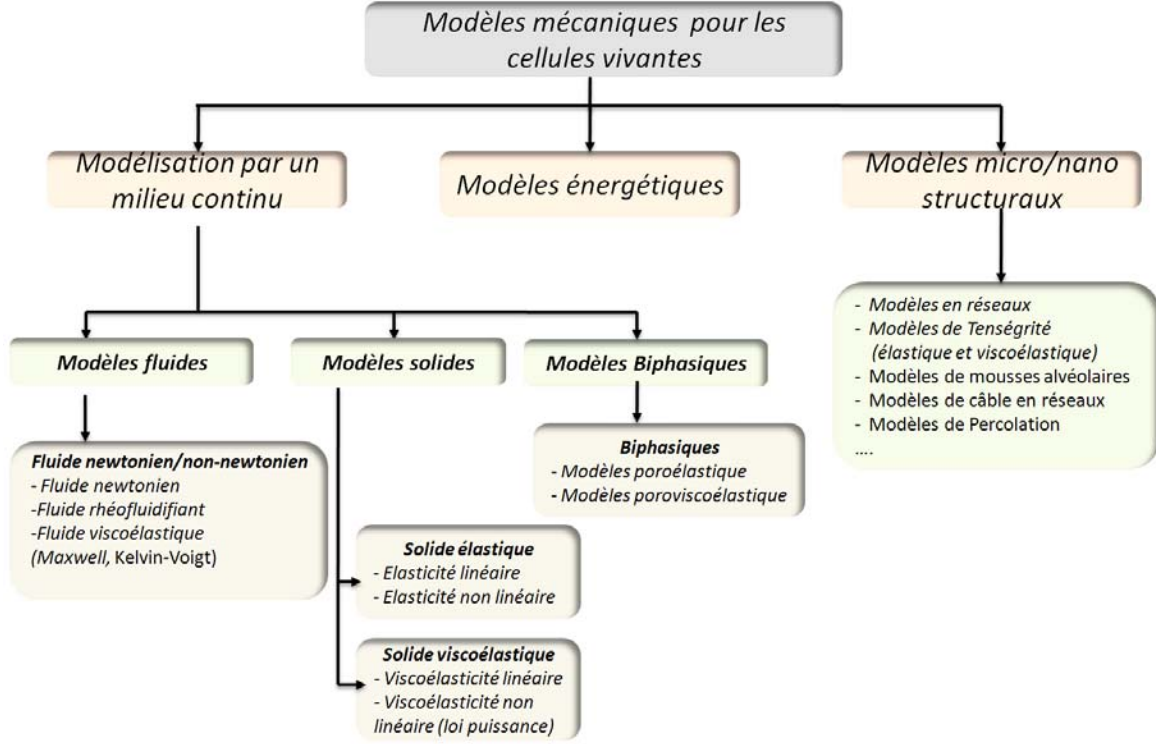


Figure 2.5 – Classification des modèles biomécaniques pour la modélisation cellulaire suivant [99] et [101].

où ϕ est un facteur de forme prenant en compte les géométries de la pipette et de la cellule.

De nombreux auteurs ont choisi de prendre en compte la dépendance à la vitesse de sollicitation sur les déformations cellulaires en modélisant la cellule comme un solide viscoélastique [154], [152], [78]. Ce type de modèle a également permis d'analyser les déformations exercées par une micropipette d'aspiration. Le modèle rhéologique sous-jacent est un modèle de Zener qui repose sur l'association d'un élément élastique en parallèle avec un élément de Maxwell⁶. La relation entre déformation de cisaillement (ou déviateur des déformations) et contrainte de cisaillement (déviateur des contraintes) peut s'écrire :

$$\begin{aligned} \tau_{ij} + \frac{\mu}{K_2} \dot{\tau}_{ij} &= K_1 \gamma_{ij} + \mu \left(1 + \frac{K_1}{K_2} \right) \dot{\gamma}_{ij} \\ \left(\sigma'_{ij} + \frac{\mu}{K_2} \dot{\sigma}'_{ij} \right) &= K_1 \epsilon'_{ij} + \mu \left(1 + \frac{K_1}{K_2} \right) \dot{\epsilon}'_{ij} \end{aligned} \quad (2.2)$$

où K_1 et K_2 sont les constantes de raideurs des ressorts et μ la viscosité du ressort ; $\sigma'_{ij} = \sigma_{ij} - \frac{1}{3} \sigma_{kk} \delta_{ij}$ ($\sigma_{kk} = \text{tr}(\boldsymbol{\sigma})$ et δ_{ij} symbole de Kronecker)

- En raison de la très forte proportion de liquide dans une cellule, d'autres auteurs voient la cellule comme un milieu continu constitué d'un fluide incompressible entouré d'une membrane élastique précontrainte. Le comportement du fluide qui représente les propriétés moyennes du cytoplasme peut-être de type Newtonien (relation linéaire entre tenseur contraintes et tenseur taux de déformation) ou de type Maxwell [44], [39], [38] ou encore

6. Un ressort en série avec un amortisseur

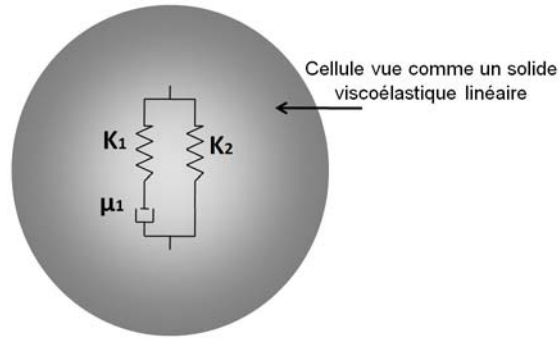


Figure 2.6 – Cellule décrite comme un solide homogène viscoélastique linéaire par [154], [152] et [78].

de type rhéofluidifiant⁷ [181]. Hochmuth a enrichi la modélisation en y ajoutant la représentation du noyau [62].

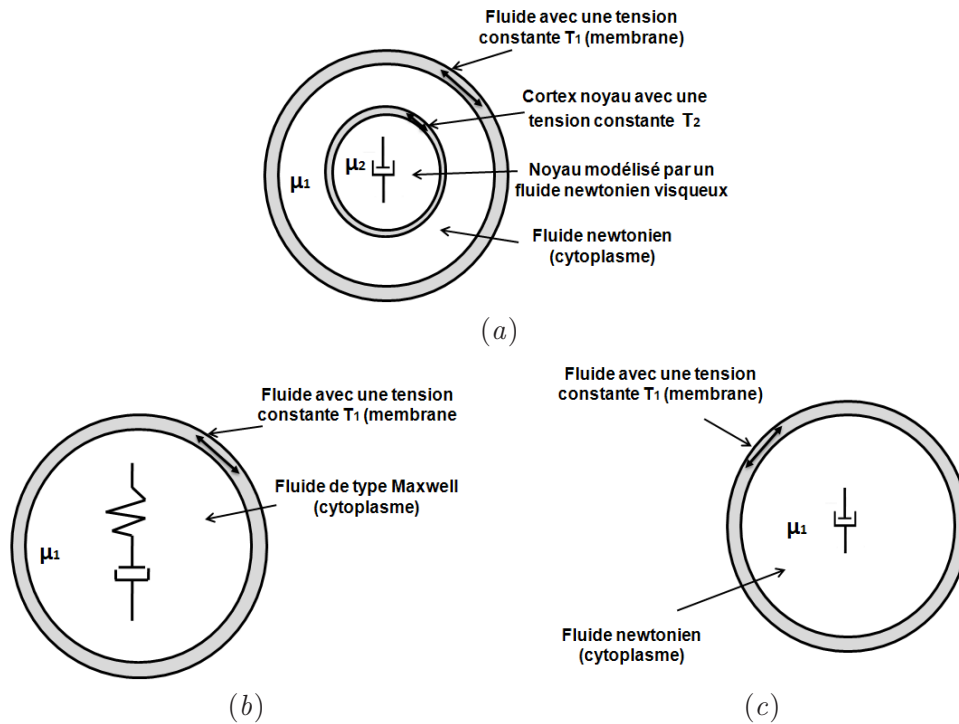


Figure 2.7 – Modélisation d’une cellule par un fluide et une membrane sous tension : (a) et (b) Cytoplasme modélisé comme matériau fluide visqueux [44] et [38], [62], (c) Cytoplasme modélisé par un fluide de type Maxwell [39].

Le principal intérêt et la principale force de ces approches globales réside dans une description du comportement mécanique de la cellule avec un nombre de paramètres réduit et l’obtention de solutions analytiques dans des configurations simples : symétrie de révolution, hypothèse des

7. La viscosité (le temps de relaxation) diminue lorsqu’on augmente le taux de cisaillement (elle serait constante pour un fluide Newtonien)

petites perturbations. Dans ce cadre, les modèles cellulaires continus donnent des résultats en bonne adéquation avec les données expérimentales vis-à-vis de propriétés mécaniques globales. Cependant, ces modèles ne prennent pas en compte le support cytosquelettique de la cellule. Le cytoplasme est souvent considéré comme un matériau homogène à comportement élastique linéaire donc sans prise en compte de non-linéarités géométriques. Leur caractère global engendre l'impossibilité de les utiliser pour suivre l'évolution de la déformée d'une cellule soumise à un chargement extérieur. Avec le recours à des méthodes numériques de résolution d'équations aux dérivées partielles, ces modèles continus peuvent s'appliquer à des géométries plus complexes, s'affranchir de l'hypothèse des petites perturbations, modéliser le cytoplasme comme un milieu biphasique... et permettre le suivi des déformations de la cellule en tout point. Nous proposons ci-dessous quelques exemples :

- Karcher et al. s'intéressent à la micromanipulation par magnétocytométrie et modélisent la cellule comme un domaine cylindrique divisé en deux parties : une partie principale représente le cytosquelette et une deuxième partie regroupe la membrane et le cortex d'actine [81]. Les deux parties sont considérées comme des fluides viscoélastiques de type Maxwell ou des solides viscoélastiques de Voigt et la microbille magnétique comme un solide élastique à forte raideur (figure 2.8). La résolution numérique permet ici de déterminer une solution pour un chargement brisant la symétrie de révolution et pouvant engendrer de grandes déformations.

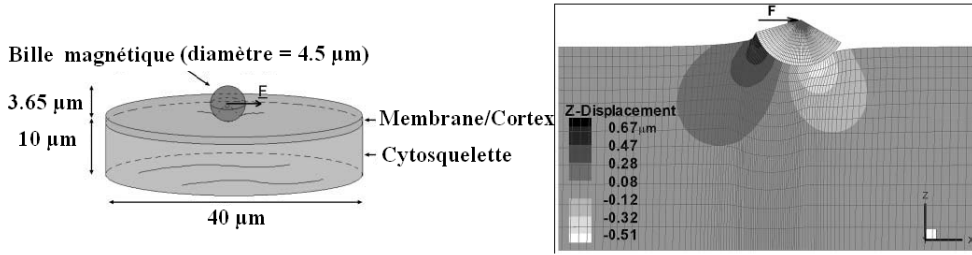


Figure 2.8 – Cellule modélisée par un domaine cylindrique divisé en deux parties et résolution numérique par éléments-finis [81].

- Dans le but d'étudier les paramètres géométriques et les propriétés mécaniques des chondrocytes⁸, Guilak et al. utilisent une modélisation biphasique de la cellule dont la phase solide est considérée comme un solide élastique linéaire et la phase fluide est vue comme un fluide incompressible [56]. Les relations entre contraintes et déformations dans les deux phases peuvent s'écrire :

$$\begin{cases} \sigma^s = -\Phi^s P \mathbf{I} + \lambda^s \text{tr}(\epsilon) \mathbf{I} + 2\mu^s \epsilon \\ \sigma^f = -\Phi^f P \mathbf{I} \end{cases} \quad (2.3)$$

avec les notations suivantes : s pour phase solide et f pour phase fluide, P pression dans le fluide, Φ^s et Φ^f fractions volumique de solide et d'un fluide ($\Phi^s + \Phi^f = 1$) et λ^s et μ^s sont les deux constantes d'élasticité de Lamé.

8. Ce sont de cellules arrondies et volumineuses (d'un diamètre de 20 à 40 μm) présentes dans le cartilage

La résolution est réalisée par la méthode des éléments finis avec un calcul multiéchelles : un premier calcul est réalisé sans cellule pour définir les conditions aux limites à appliquer à la cellule puis la réponse de la cellule est étudiée.

- Caille et al.[18] ont proposé une approche bidimensionnelle pour étudier et quantifier la compression mécanique de cellules endothéliales. Différents types de cellules (cellules rondes, aplaties et des noyaux isolés) sont soumises à des forces de compression entre deux lamelles de verre (figure 2.9). Les auteurs modélisent la cellule comme constituée d'un noyau et du cytoplasme tous deux vus comme des matériaux solides homogènes, isotropes et hyperélastiques de type Néo-Hookéen avec comme seul paramètre matériel le module d'Young (le coefficient de Poisson est pris égal à 0.5 pour assurer l'incompressibilité. Ici la modélisation par éléments-finis permet de prendre en compte de grandes déformations. Les modules élastiques déduits par comparaison entre les données expérimentales et les simulations sont en bon accord avec les valeurs trouvées dans la littérature.

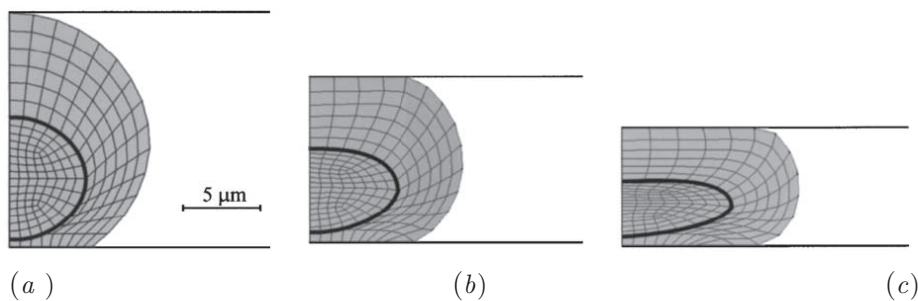


Figure 2.9 – Géométrie et maillage d'une cellule modélisée par un matériau hyperélastique d'après [18]. (a) Cellule ronde au repos , (b) Maillage déformé (30% de compression) (c) Maillage déformé (50% de compression).

2.3.2 Deuxième classe : modèles énergétiques

Dans la plupart des modèles continus, la cellule est vue comme un solide ou un fluide avec propriétés mécaniques constantes (approches dites *passives*). Récemment, d'autres auteurs ont tenté de développer des approches considérant la cellule comme un système actif consommant de l'énergie avec des propriétés en évolution. Kruse et al. et Julicher et al. considèrent ainsi le cytoplasme comme un gel actif polaire [92], [76]. Une théorie hydrodynamique macroscopique est proposée pour décrire ses propriétés mécaniques. Cette approche permet de rendre compte, dans la modélisation du cytoplasme vu comme un gel viscoélastique, de la polymérisation et la dépolymérisation de l'actine ainsi que des contraintes actives induites dans le gel. Elle a été appliquée pour décrire les mouvements 2D d'un lamellipode⁹ et pour résoudre les instabilités liées à l'actine.

Le revers de ces approches *actives* est qu'elles requièrent une modélisation précise des filaments sur toute leur longueur ce qui engendre des temps de calcul qui devraient être prohibitifs pour cellule complète.

9. Le lamellipode est une large extension membranaire faite de polymères d'actine que la cellule utilise pour explorer son environnement à la recherche d'une matrice extra-cellulaire.

2.3.3 Troisième classe : modèles micro/nano structuraux

Au fur et à mesure des avancées technologiques, la microscopie s'est imposée comme une technique indispensable pour accéder aux propriétés de la matière, inanimée ou vivante. Elle permet désormais de manipuler et de mesurer les propriétés biomécaniques de filaments de l'ordre de quelques nanomètres. Plusieurs nouvelles techniques expérimentales ont vu le jour avec l'arrivée des microscopes électronique et à force atomique. Ces techniques ont permis aux biologistes d'affiner leurs recherches et d'enrichir leur perception du cytoplasme en faisant apparaître le rôle primordial joué par le réseau 3D que constitue le cytosquelette.

Nous présentons par la suite une revue de différentes approches micro/nano-structurales mises en oeuvre pour tenir compte du rôle du cytosquelette.

2.3.3.1 Modèles de percolation

Les modèles de percolation considèrent le cytosquelette comme un gel dynamique de plusieurs réseaux filamenteux (les filaments d'actine, les microtubules et les filaments intermédiaires) interconnectés qui s'assemblent et se désassemblent en permanence suivant un processus de percolation¹⁰ [47]. Dans ces modèles (figure 2.10), la notion de connectivité est essentielle :

- au delà d'un certain seuil de connexion, le signal mécanique transmis localement par la matrice extracellulaire via les récepteurs transmembranaires se propage dans toute la cellule jusqu'au noyau ;
- en revanche, en dessous de ce seuil, aucun signal n'est transmis par le cytosquelette.

La connectivité joue donc un rôle primordial puisque c'est de ses propriétés que va dépendre la propagation des signaux intracellulaires.



Figure 2.10 – Modèle de percolation utilisé par [47].

Shafir et al. ont étudié des modèles similaires où la cellule est représentée par deux cubes imbriqués : un cube d'arrête de $5\ \mu\text{m}$ représente le noyau et est situé à l'intérieur d'un autre cube de $10\ \mu\text{m}$ [161]. Le cytosquelette est modélisé par des tiges rigides (filaments d'actine) reliées par des éléments élastiques (ressorts). La concentration des filaments a été choisie de manière à dépasser le seuil de percolation. Ces auteurs ont étudié les propriétés de transfert d'énergie

10. La percolation est un processus physique critique qui décrit pour un système, une transition d'un état vers un autre.

du cytosquelette, en appliquant différents signaux mécaniques au niveau de la membrane. Une comparaison est réalisée entre le niveau d'énergie transmis au niveau du noyau par rapport à celui présent au niveau de la membrane. Les résultats obtenus montrent que le cytosquelette étudié se comporte comme un filtre passe-bande réglable. Pour une plage de fréquences de stimulation donnée qui dépend de certaines molécules de liaisons, la transmission d'énergie atteint une valeur maximale, en dehors de cette plage, les signaux sont presque incapables d'atteindre leur destination. D'autres chercheurs ont montré l'influence de la concentration des protéines de liaison des filaments sur le comportement mécanique des réseaux filamenteux [185], [186].

Ces modèles de percolation ne contrôlent cependant pas la tension interne c'est à dire l'équilibre entre les efforts de tension et les efforts de compression supportés par les différents composants du cytosquelette en interaction avec le micro-environnement. De plus, ces modèles ne suivent pas une structure tridimensionnelle et une redistribution bien contrôlée.

2.3.3.2 Modèles de mousses alvéolaires

Dans ces approches, seul le cytosquelette d'actine est pris en considération. Le volume élémentaire représentatif du réseau d'actine est une unité alvéolaire de forme cubique. Cette structure est formée de poutres interconnectées qui sont responsables de sa déformation globale lorsqu'elles fléchissent, se tordent ou s'étirent sous l'action d'une force [50].

Satcher et al. ont utilisé les modèles de mousses alvéolaires pour étudier la contribution du cytosquelette d'actine dans la réponse élastique de cellules endothéliales [151]. Ils ont considéré une unité alvéolaire constituée de poutres élastiques sur lesquelles une force est appliquée (illustration sur la figure 2.11). Ces auteurs ont montré que le module d'Young du réseau peut se déduire du module d'Young d'un filament d'actine isolé (i.e. une des poutres du modèle).

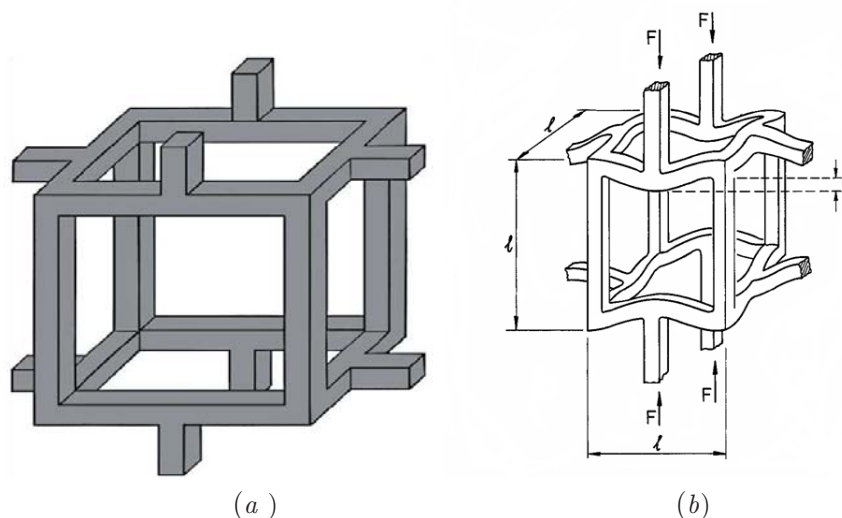


Figure 2.11 – Modèle de mousse alvéolaire utilisé par [151] : (a) alvéole au repos, (b) alvéole déformée.

Stamenovic et al. ont montré que les modèles de mousse alvéolaires permettent de prédire correctement les propriétés élastiques de cellules testées par micromanipulation avec des micro-

plaques¹¹, où par microscopie à force atomique [166]. Par contre ces prédictions ne sont pas en accord avec les résultats obtenus par d'autres techniques expérimentales comme la magnétocytométrie où les pinces optiques, où les forces sont appliquées spécifiquement au cytosquelette via les récepteurs transmembranaires.

Comme ces modèles ne prennent en compte qu'un seul des trois types de filaments composant le cytosquelette, ils ne peuvent rendre compte de certains aspects essentiels comme le rôle de la réorganisation spatiale des filaments et de leurs interactions [166], [190] ou encore celui de la tension interne de la structure et de ses liaisons avec le support externe.

D'autres modèles plus évolués sont donc nécessaires pour décrire le comportement du cytosquelette.

2.3.3.3 Modèles de tenségrité

Les structures ou systèmes de tenségrité au sens strict datent des années 40 et ont été coinventés par l'architecte Fuller, père des dômes géodésiques. Il a, dès 1929, proposé un nom pour ces structures particulières dans lesquelles, l'équilibre entre éléments en traction et éléments en compression joue un rôle essentiel : "*islands of compression in an ocean of tensions*". Il forge l'expression "tensegrity" à partir de "tensional integrity", d'où la traduction française par le mot *tenségrité* [48].

Le principe général de la construction de systèmes de tenségrité se caractérise essentiellement par le fait qu'ils sont constitués avec deux éléments de base : des barres travaillant en compression et des câbles tendus. Les barres sont disjointes tandis que les câbles forment un ensemble continu. Une structure de tenségrité est donc un système réticulé dans un état d'auto-équilibre stable comprenant un ensemble discontinu de composants comprimés à l'intérieur d'un continuum de composants tendus [127].

Si les systèmes de tenségrité ont été conceptualisés dans un premier temps dans les domaines de l'architecture et du génie civil, ils trouvent désormais d'autres opportunités d'application notamment dans le domaine de la biologie tissulaire et de la santé. Ils sont utilisés à différentes échelles pour décrire le comportement du corps humain, des tissus vivants comme les muscles et des cellules vivantes.

C'est Ingber qui, en remarquant l'existence de nombreuses analogies entre les structures de type tenségrité et la structure cytosquelettique, est le premier à développer les modèles de tenségrité spécifiquement dédiés à l'étude de la biomécanique cellulaire [65], [66]. Selon Ingber, la stabilité structurelle dans les cellules et les tissus cellulaires dépend d'un équilibre de forces entre les réseaux de microtubules et de micro filaments contractiles (figure 2.12). Les filaments intermédiaires peuvent être assimilés à des contreforts élastiques et le noyau vu lui-même comme une structure de tenségrité avec des fibres de chromatine comprimées interconnectées avec une matrice nucléaire sous tension continue.

Le tableau 2.1 illustre un certain nombre d'analogies structurelles et mécaniques entre les modèles de tenségrité et le cytosquelette d'une cellule biologique. Ces analogies restent toutefois qualitatives et doivent encore être confirmées expérimentalement [65].

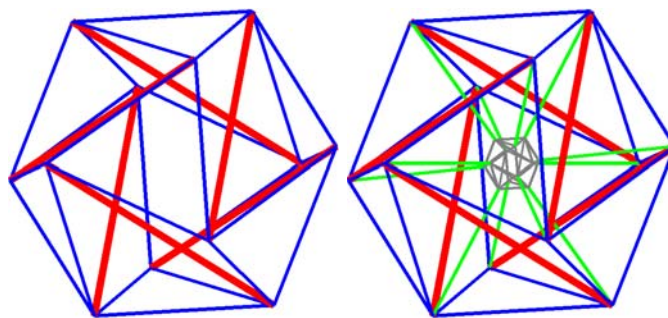


Figure 2.12 – Structures de tensegrité avec et sans modélisation du noyau d’après [65] et [66].

Structure du cytosquelette (CSQ)	Structure de tensegrité
Microtubules associés aux filaments intermédiaires	Éléments quasi-rigides et incompressibles Éléments viscoélastiques
Réseau en tension : filaments d’actines	Câbles tendus
Supports de compression : microtubules	Barres comprimées
Points focaux d’adhérence Mécanorécepteurs transmembranaires	Noeuds fixés Conditions d’efforts aux noeuds
Réorganisation spatiale des filaments du CSQ	Déplacements spatiaux des éléments constitutifs

Tableau 2.1 – Analogie entre la structure de tensegrité et la structure du cytosquelette suivant [65]

Par la suite, cette approche a fait école et de nombreuses équipes de recherche se sont intéressées à la modélisation du cytosquelette à partir du concept de tensegrité :

- Stamenovic et al. ont étudié l’impact du fléchissement des barres, représentant la possibilité qu’auraient les microtubules de flamber pour un certain niveau de compression, sur les propriétés mécaniques élastiques globales du cytosquelette [167].
- A partir de la structure de tensegrité, Wendling et al. ont analysé les relations entre contraintes et déformations en appliquant différents modes de chargement : traction, compression et cisaillement [191]. Les mêmes auteurs poursuivent leurs recherches visant à comprendre la contribution du réarrangement structural sur la réponse d’une cellule soumise à des contraintes externes cycliques du type traction-compression.
- Une approche reposant sur le même modèle de tensegrité a permis la prédiction, dans la réponse du cytosquelette à un effort de compression, d’une courte phase d’adoucissement induite par le flambement élastique des microtubules précédant la mise en tension du cytosquelette entraînant une phase de durcissement [184].
- Canadas et al. ont analysé la réponse viscoélastique du cytosquelette en se basant sur

11. La cellule est comprimée entre deux microplaques de verre.

un modèle d'éléments discrets de la structure tenségrité et une mécanique non régulière pour les contacts¹². En appliquant sur les deux noeuds supérieurs de la structure de tenségrité à 30 éléments des oscillations de faible amplitude, ils ont pu étudier la dépendance en fréquence des propriétés mécaniques.

On peut déduire de ce qui précède que les modèles de tenségrité constituent un outil précieux pour décrire les propriétés mécaniques du cytosquelette et rendre compte de nombreuses caractéristiques de cellules vivantes. Parmi les modèles mécaniques cellulaires développés à ce jour, les modèles de tenségrité semblent être les seuls à prendre en compte à la fois :

- la structure tridimensionnelle du cytosquelette issue de l'assemblage de plusieurs types de filaments,
- l'état d'équilibre autocontraint du cytosquelette,
- l'existence, pour les cellules adhérentes, de points focaux d'adhérence.

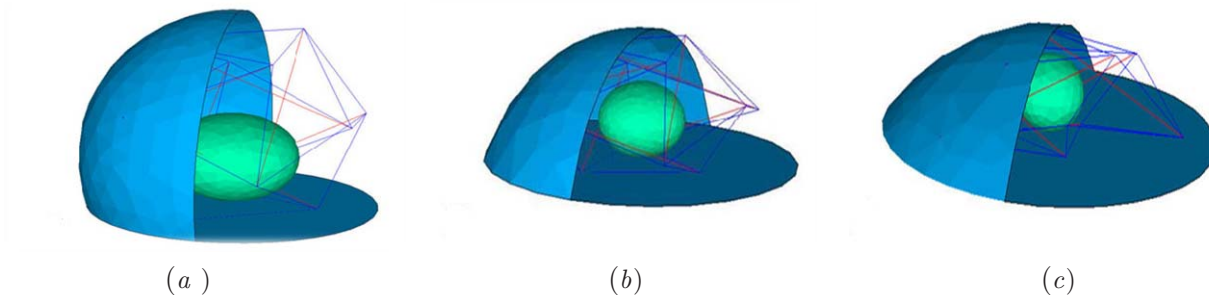


Figure 2.13 – Modèle 3D de la cellule développé par [114] pour l'étude de la compression cellulaire.

2.3.3.4 Extensions couplant approche tenségrité et approche continue

D'autres approches ont vu le jour, avec toutes pour même objectif l'analyse des déformations cellulaires, en utilisant les potentialités de la représentation du cytosquelette comme une structure de tenségrité. L'apport de méthodes numériques performantes comme les éléments finis a permis d'étendre les développements en permettant de coupler une *modélisation microstructurale de type tenségrité pour le cytosquelette* à une *modélisation continue de la membrane, du cytoplasme*, le noyau pouvant être modélisé par l'une ou l'autre des approches. C'est la voie qu'ont suivie McGarry et al. en considérant que le cytoplasme et le noyau sont constitués d'un matériau à comportement élastique linéaire et isotrope et que la structure cytosquelettique est une structure de tenségrité composée de 6 barres et de 24 câbles [114]. Leurs simulations numériques ont été réalisées avec la méthode des éléments finis au moyen du code de calcul ANSYS. Le cytoplasme ainsi que le noyau sont discrétisés par des éléments tétraédriques à 4 noeuds, tandis que, la membrane est discrétisée par des éléments de coque surfacique à 3 noeuds. Le cytosquelette qui est modélisé par la structure de tenségrité est discrétisé par des éléments linéiques à 2 noeuds (barres et câbles) (voir figure 3.1). Les auteurs ont étudié la réponse à des sollicitations de compression. Leur approche semble prometteuse et il est dommage qu'aucune confrontation avec des données expérimentales n'ait été réalisée qui aurait permis de corroborer les résultats obtenus.

12. Non Smooth Contact Dynamics

Modèles	Forces	Limitations
Continus §2.3.1	- Modélisation du cytoplasme, de la membrane et du noyau - Modèles de fluides ou de solides - Solutions analytiques sur cas simples - Solutions numériques sur cas complexes - Multiples comportements possibles ⇒ élasticité, viscosité, viscoélasticité... - Paramètres rhéologiques	- Structure cytosquelettique ignorée - Cas simples analytiques ⇒ matériaux homogènes ⇒ petites transformations - Cas complexes ⇒ temps de calcul important - Approches passives - Interactions locales et chimiques ignorées
Energétiques §2.3.2	- Modélisation du cytoplasme - Approches actives - Interactions chimiques ⇒ polymérisation et dépolymérisation de l'actine - Paramètres rhéologiques	- Temps de calculs prohibitifs - Structure cytosquelettique ignorée
Micro/nano structuraux : - Modèles de percolation §2.3.3.1 - Modèles de mousses alvéolaires §2.3.3.2	- Cytoplasme visqueux, noyau - Effets de mécanotransduction - Protéines de liaison prises en compte - Volume élémentaire représentatif - Filaments d'actines du cytosquelette	- Pas de contrôle de la tension interne - Considérations hypothétiques - Interactions chimiques ignorées - Ne contrôle pas la redistribution interne - Cytosquelette partiel ⇒ absence de filaments intermédiaires ⇒ absence de microtubules - Approches passives - Interactions chimiques ignorées
Tenségrité §2.3.3.3	- Structure précontrainte - Description de tous les éléments du cytosquelette ⇒ filaments d'actines ⇒ filaments intermédiaires ⇒ microtubules - Propriétés rhéologiques - Points focaux d'adhérence - Structure 3D et réorganisation spatiale	- Considérations hypothétiques - Processus chimiques ignorés - Modèles statiques - Modèles statiques

Tableau 2.2 – Comparaison entre différentes modélisations disponibles pour l'étude de la réponse biomécanique de cellules biologiques.

2.3.4 Conclusion

Dans ce chapitre, nous avons tout d'abord présenté la structure globale d'une cellule biologique ainsi que ses composants internes en précisant leurs rôles et leurs comportements mécaniques respectifs. Nous avons réalisé une analyse plus détaillée des caractéristiques spécifiques du cytosquelette en raison du rôle essentiel qu'il joue dans la déformation d'une cellule. Nous avons ensuite présenté les principales approches permettant de modéliser la réponse mécanique d'une cellule biologique. Nous avons classé ces approches en trois catégories distinctes. À partir de l'analyse de ces modèles, le tableau 2.2 tente de dresser une synthèse de ces différentes approches en évaluant leurs forces et leurs faiblesses dans la description du comportement biomécanique.

Parmi les modèles mécaniques de déformations cellulaires étudiés dans ce chapitre, deux modèles seront développés au cours de cette thèse, une modélisation par milieu continu, basée sur un matériau solide viscoélastique et une modélisation prenant en compte l'aspect structurel du cytosquelette et basée sur un modèle de tensegrité.

Même si nous avons déjà quelque peu évoqué, dans ce chapitre, les méthodes numériques nécessaires à l'étude de la réponse mécanique tridimensionnelle d'une structure biologique, nous y reviendrons dans le prochain chapitre. Son objet est en effet de réaliser une description des méthodes numériques qui peuvent s'appliquer à la simulation et à la modélisation des déformations de tissus biologiques en temps réel.

Méthodes numériques en biomécanique cellulaire

Sommaire

3.1	Introduction	49
3.2	Modèles non-physiques (géométriques)	50
3.3	Modèles physiques	52
3.3.1	Méthodes discrètes	52
3.3.2	Modélisations continues	55
3.4	Méthodes meshless (sans maillage)	66
3.5	Conclusion	67

3.1 Introduction

Quelque soit le type de simulateur chirurgical utilisé, le vrai challenge réside aujourd’hui dans la modélisation physique des tissus biologiques afin de reproduire au mieux leurs comportements biomécaniques face à la manipulation ou à l’interaction avec des instruments. De plus, celui-ci doit être capable de simuler avec précision et réalisme les déformations de structures complexes, tout en conservant une complexité compatible avec une utilisation interactive en temps réel.

Dans cette section nous abordons les différentes méthodes numériques de modélisation utilisées pour modéliser les objets déformables (en particulier les tissus biologiques) qui sont classées dans deux grandes familles distinctes : les modèles non physiques (ou encore appelés modèles géométriques) et les modèles physiques. Nous distinguerons principalement deux sous classes dans la catégorie des modèles physiques, des modèles dits *continus* et des modèles dits *discrets*. D’une manière assez générale, nous avons répertorié les différentes approches de modélisation en fonction de leur complexité et réalisme, ainsi qu’en fonction de leur coût en temps de calcul (voir la figure 3.1). Par la suite, nous détaillerons les modèles numériques physiques dits continus, compte tenu de l’intérêt qu’ils représentent pour satisfaire les contraintes de simulation temps réel et réaliste.

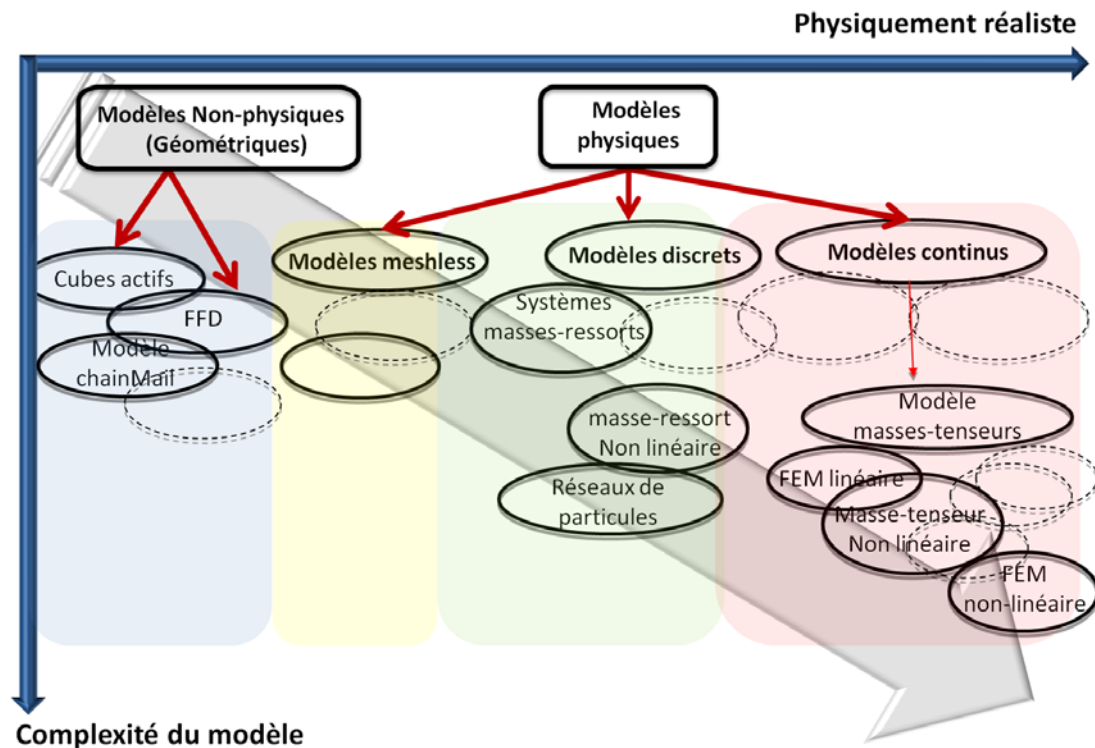


Figure 3.1 – Schéma illustrant les différentes classes de modèles de déformation suivant leur complexité, leur réalisme ainsi que le coût de calcul [49].

3.2 Modèles non-physiques (géométriques)

La présentation qui suit a pour objectif de donner un aperçu des principales classes impliquées dans la simulation des tissus biologiques en utilisant des modèles non-physiques. Les premiers modèles qui ont été développés ont permis de déformer des objets en se basant uniquement sur leurs géométries sans prendre en compte leurs aspects physiques. A titre d'exemple, nous pouvons citer les simulations réalisées à l'aide de *metaballs* qui ont été utilisées pour la modélisation des déformations du corps humain [5]. D'autres auteurs ont également utilisé ces mêmes modèles dans leurs simulateur *Bodybuilder* afin de modéliser les connections entre les différentes articulations du squelette [163][131].

Un autre modèle a été largement exploité dans différentes simulations, c'est le modèle de déformation de forme libre (FFD). Yamashita et al.[197] ont utilisé ce modèle dans leur environnement virtuel nommé *ViSurf* en utilisant l'adaptation de [192]. Cover et al. [27] utilisent dans leur simulateur de chirurgie de la vésicule biliaire le modèle de déformation de forme libre, afin de manipuler directement leurs objets, ils ont conclu que cette approche était lente pour des interactions en temps réel.

Dans le but d'augmenter le réalisme des simulations chirurgicales, Sela et al.[160] ont présenté des simulations de coupures et d'incisions dans une peau pour des applications en chirurgie abdominale laparoscopique. La méthode utilisée se base sur le calcul des déformations locales dues à l'instrument à partir des déformations globales [9].

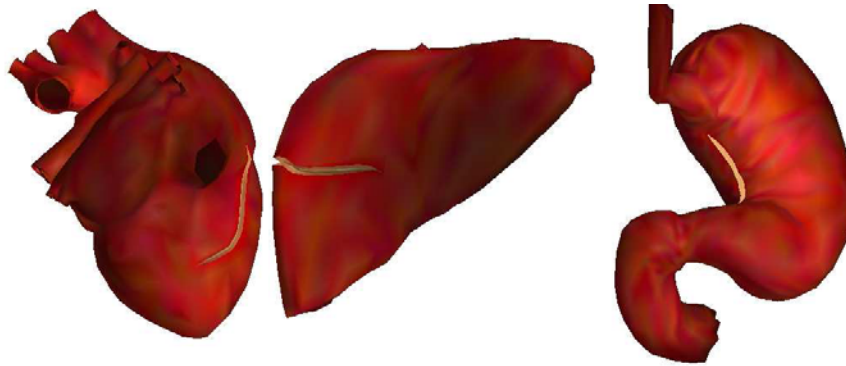


Figure 3.2 – Déformations basées sur le modèle de FFD [160].

Une autre approche, intitulée méthode *3D Chainmail*, a été proposée par Gibson et al.[51]. Son principe peut se comparer à une chaîne constituée de mailles ; l’objet est décomposé en noeuds. Chaque noeud est associé à un élément rigide de la chaîne. La déformation qui gouverne le modèle déformable est décrite par une propagation des contraintes en déplacements que l’objet subit à sa surface. Citons par exemple les simulateurs chirurgicaux de Gibson et al. qui ont implémenté ce modèle dans leur simulateur de chirurgie arthroscopique du genou ainsi que celui de Schill et al.[153] pour des opérations intra-oculaires. L’approche *ChainMail* est intéressante car elle permet de simuler à partir d’un modèle simple différentes lois mécaniques en jouant sur les contraintes de distance et de relaxation. Malheureusement, les comportements obtenus à partir de ce modèle ne sont pas physiquement réalistes puisqu’aucun lien ne peut être établi entre les paramètres du modèle et les caractéristiques physiques obtenues empiriquement.

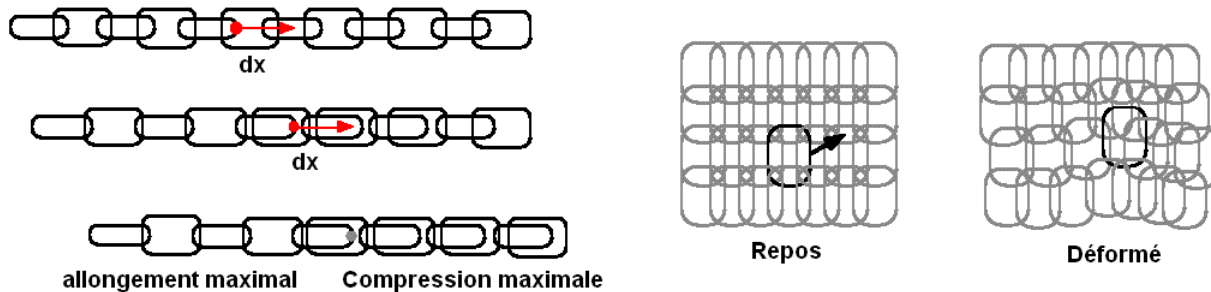


Figure 3.3 – Déformation du modèle de chainMail en 1D et 2D développé par [51] .

Bro-nielsen[13] a proposé une extension en 3D des surfaces actives destinée à la simulation d’opérations chirurgicales cranio-faciales. Ce modèle est basé sur la discrétisation de l’objet en un ensemble de volumes, en définissant une fonction d’énergie qui permet de contrôler les interactions et les déformations de l’ensemble. Ce modèle a pu être utilisé pour le calcul des déformations de tissus cérébraux soumis à des contraintes mécaniques en neurochirurgie [188][21]. Le principal inconvénient de ce modèle est qu’il ne prend pas en compte les propriétés physiques des objets en déformation, puisque l’énergie est basée exclusivement sur l’intensité à partir des images scanner ou IRM.

Dans cette section, nous avons présenté différents modèles géométriques utilisés dans la modéli-

sation de tissus biologiques. Toutefois, il est nécessaire de constater que le principal défaut de ces modèles réside dans le fait qu'ils ne sont généralement pas reproductibles et que ceux-ci ne peuvent pas être généralisés. N'étant pas basés sur des lois physiques, ces modèles vont entraîner des imprécisions notables sur les interactions entre les différents objets ce qui diminuera le réalisme du simulateur. Pour ces différentes raisons, les modèles géométriques ne seront utilisés que pour l'animation d'objets (déformation de tissus biologiques par exemple) où la validation expérimentale n'est pas primordiale.

3.3 Modèles physiques

3.3.1 Méthodes discrètes

3.3.1.1 Systèmes masses-ressorts

A l'heure actuelle, les modèles les plus connus et utilisés par la communauté graphique sont les réseaux de types *masses-ressorts*. Ces modèles consistent en un ensemble de points (ou noeuds) reliés entre eux par des segments. Les points représentent des masses considérées comme ponctuelles, et les segments sont considérés comme des ressorts. Ce modèle physique a donné lieu au développement de nombreux simulateurs dans le domaine médical. Citons notamment le simulateur de chirurgie laparoscopique *KISMET* adapté notamment à l'enlèvement de la vésicule biliaire et à des opérations gynécologiques [93],[84],[19]. D'autres applications en chirurgie maxilo-faciale utilisant la même approche ont été proposées par [97],[91].

Dans une plus grande échelle, Aulignac et al.[29],[30] ont développé un modèle de la cuisse

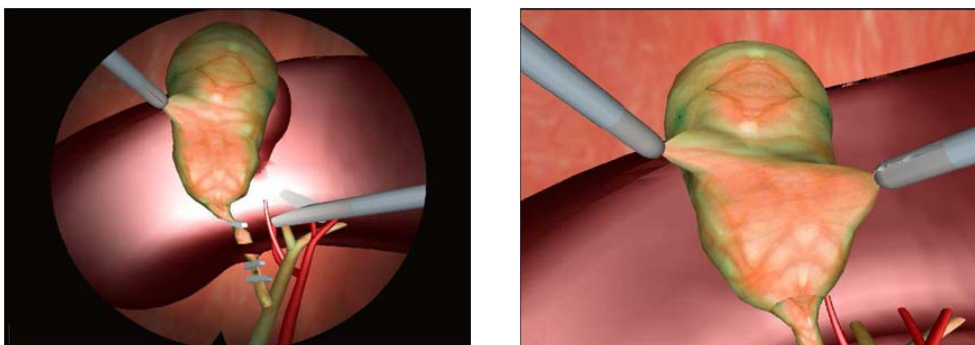


Figure 3.4 – Simulateur de chirurgie laparoscopique "Karlsruhe Endoscopic Surgery Trainer" appliqué pour des opérations gynécologiques [93],[84].

humaine constitué d'une couche surfacique basée sur les systèmes masses-ressorts linéaires où chaque masse est reliée à un support fixé par un ressort non-linéaire orthogonal à la surface. Un autre modèle physique basé sur une reconstruction géométrique réaliste à partir d'images échographiques a été proposé par Padilla et al.[132]. Ce simulateur basé sur l'approche masses-ressorts permet la simulation des déformations et des découpes en temps réel de la résection de la prostate construite géométriquement à partir des images échographiques.

Contrairement aux cas précédents, Meseure et al.[117] adoptent une stratégie de décomposition en deux composantes de l'objet modélisé. La première composante représente une partie rigide de l'objet qui est virtuelle dans la mesure où elle n'interagit pas dans l'environnement. La deuxième composante, quant à elle, prend la forme d'un maillage surfacique déformable basé sur des ressorts amortis. Sachant que les deux composantes sont reliées par des ressorts de longueur

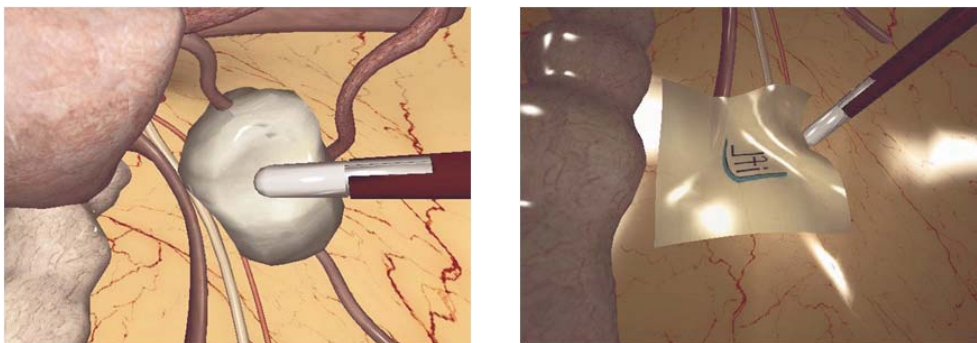


Figure 3.5 – Déformation d'un ovaire dans le simulateur d'apprentissage au geste médical de la bibliothèque SPORE [117].

non nulle, ces modèles ont été incorporés dans un simulateur de coelioscopie gynécologique couplé à un interface à retour d'effort (voir la figure 3.5).

Une approche similaire étendue au cas de maillages volumiques déformables a été proposé par Ammi et al.[2] dans le cadre d'un simulateur d'entraînement et d'apprentissage du geste de micro injection cellulaire. Les auteurs proposent de modéliser la cellule biologique sous forme sphérique à partir d'éléments masses-ressorts-amortisseurs. Le maillage de la cellule biologique est illustré sur la Fig.3.6. Le *nucleus* est maillé à partir de liaisons volumiques en "X" dans le but de réduire les instabilités, c'est-à-dire des sauts brusques de noeuds alors que l'enveloppe *cytoplasmique* est maillée à partir de liaisons surfaciques triangulaires. Ces deux structures sont ensuite assemblées suivant un volume sphérique pour former le corps de la cellule (fig.3.6.b).

En résumé, ces systèmes masses-ressorts présentent plusieurs avantages :

- des modèles efficaces, rapides, simples à implémenter et bien adaptés à la simulation de déformation en temps-réel ;
- les modèles donnent une représentation paramétrique : plusieurs comportements sont possibles (déformations élastiques, plastiques, cisaillement, traction, flexion, etc) selon les valeurs de ses paramètres (élasticité, viscosité, linéaire ou non-linéaire) ;
- la résolution du système complet possède une complexité¹ linéaire $O(n)$ par rapport aux nombre n de noeuds du maillage.

Néanmoins, ces modèles présentent certains inconvénients :

- la relation entre les paramètres physiques des objets modélisés et les coefficients de raideur des ressorts n'est pas toujours facile à déterminer et reste le plus souvent très approximative ;
- la masse de l'objet est représentée de manière discontinue, ce qui conduit à un comportement mécanique peu réaliste. La comparaison est assez difficile entre les déformations induites par les systèmes masses-ressorts avec des données expérimentales.

1. La complexité d'un algorithme donne le nombre d'opérations élémentaires exécutées en fonction de la taille des paramètres en entrée. Bien souvent, on donne juste son ordre de grandeur.

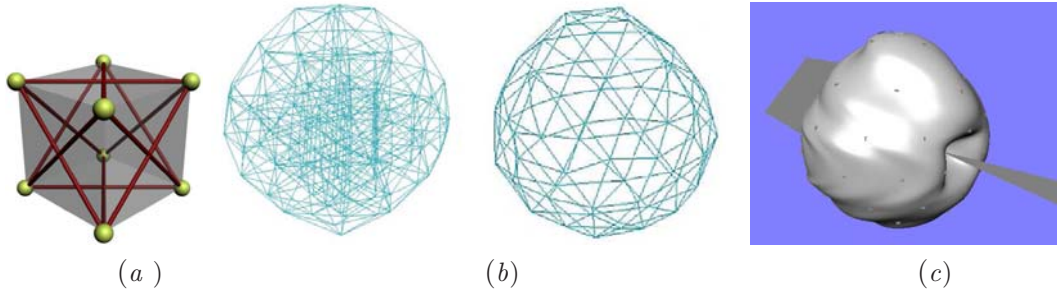


Figure 3.6 – Modélisation géométrique d’une cellule biologique flottante utilisant des éléments de maillage de type masse-ressort-viscosité [2] : (a) structure élémentaire présentant uniquement des liaisons en "X", (b) maillage interne volumique et externe surfacique déformable, (c) déformation sous l’action d’une force de ponction.

3.3.1.2 Réseaux de particules

Les réseaux de particules sont une extension du modèle masses-ressorts défini précédemment. La différence principale réside dans le fait que l’on autorise les masses à interagir avec un ensemble de masses qui peut évoluer au cours de la simulation. Chaque masse interagit potentiellement avec toutes les autres, mais on seuille généralement à un rayon maximal sa zone d’influence pour limiter les calculs [130]. Les forces inter-particules sont souvent des lois d’attraction-répulsion. Similaires aux forces de Lennard-Jones, elles s’apparentent à celles qui existent entre deux atomes et présentent, comme les ressorts, une distance d’équilibre où la force est nulle (voir la figure 3.7). La force diminue par contre ici après une certaine distance pour s’annuler ensuite.

L’intérêt des systèmes de particules est qu’ils sont faciles à mettre en oeuvre et que des lois

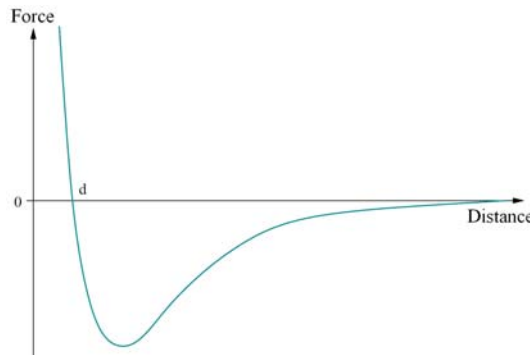


Figure 3.7 – Forme générale d’une courbe de potentiel de Lennard-Jones : intensité de la force en fonction de la distance.

d’interaction simples qui les gouvernent peuvent naître des comportements complexes, dits émergents. A ce titre citons les travaux de Luciani et al.[104] qui modélisent des objets déformables par des agglomérats de billes² de différentes tailles. Le centre appelé le noyau est représenté par des grosses billes qui sont ensuite entourées par des plus petites formant le "derme". En continuité à ces travaux, Desbrun et al. définissent un nouveau type de particules inspirées par des approches SPH (Smoothed Particles Hydrodynamics), issues des recherches menées en astrophysique, pour

2. Masses ponctuelles munies d’une sphère de non-pénétration.

l'animation des fluides et des solides [35], [34].

Les systèmes de particules sont donc une extension des réseaux masses-ressorts. Ils permettent de simuler une plus grande variété de comportements, comme celui des gaz ou des liquides. L'algorithme reste simple et l'on peut simplement modifier la topologie de l'objet ce qui autorise les découpes. Il conviendra par contre de bien gérer la complexité algorithmique qui peut apparaître avec beaucoup de particules lorsque l'on doit chercher celles qui interagissent entre elles. On utilisera pour cela un partitionnement de l'espace qui ramènera le coût quadratique à un coût quasi-linéaire en fonction du nombre de masses. Le problème avec ces méthodes tout comme avec les masses-ressorts, que l'on ne peut généralement pas garantir un comportement indépendant de la résolution, en plus, on peut se demander si l'application de lois microscopiques à des entités macroscopiques ne constitue pas une simplification dangereuse. Il est souvent difficile, voire impossible, de prouver la validité physique des modèles obtenus.

3.3.2 Modélisations continues

Les modèles continus permettent de décrire avec beaucoup de réalisme le comportement biomécanique de nombreux organes et tissus biologiques.

3.3.2.1 Méthode de Terzopoulos

Un des premiers modèles de déformations basés sur des lois physiques a été proposé par [178]. Avant Terzopoulos, les procédés d'animation utilisaient des modèles cinématiques, construits à partir de primitives géométriques ou algébriques se déplaçant le long de trajectoires prescrites décrites par des fonctions mathématiques. Cela rendait la création d'animations d'apparence naturelle longue et ardue. Terzopoulos a rompu avec cette habitude en créant des modèles actifs, qui répondent à l'action de forces, de contraintes ou de contacts (voir la figure 3.8), comme les objets du monde réel, par opposition aux modèles cinématiques dits passifs. Le premier modèle de Terzopoulos utilisait la formulation lagrangienne de la théorie de l'élasticité et sa discrétisation en 1, 2 et 3 dimensions pour représenter des objets déformables. Cette première formulation était très générale et non-linéaire, ce qui en rendait la stabilité assez incertaine et obligeait à utiliser des pas d'intégration très petits. La méthode reste très lente car nécessitant une inversion matricielle à chaque pas de temps. Les mêmes auteurs ont amélioré leur modèle en décomposant la représentation des objets en deux composantes [177] : une composante rigide, qui représente la configuration de l'objet au repos et se déplace dans l'espace selon les lois de la mécanique des corps rigides, et une composante déformable qui évolue selon les lois de l'élasticité linéaire ce qui a permis d'accroître sensiblement la rapidité et la stabilité des calculs numériques.

3.3.2.2 Méthodes SPH (Smoothed Particle Hydrodynamics)

Le modèle SPH, pour Smoothed Particles Hydrodynamics, est issu de l'astrophysique et possède l'avantage sur les précédents de proposer une véritable équation d'état du matériau, conduisant à un comportement indépendant de la résolution. C'est une méthode à base de particules comme vu précédemment, mais elles sont maintenant vraiment considérées comme les points d'échantillonnage d'un petit volume les entourant et qu'elles représentent. L'approche Smoothed Particles Hydrodynamics ou SPH issue des recherches en astrophysique a été utilisée en synthèse d'images par [35]. Elle consiste à concentrer en un ensemble discrets de points les divers champs scalaires et vectoriels physiques (densité de masse, force, vitesse...). Ce modèle est une variante du modèle à système de particules, ces dernières (particules) sont considérées comme

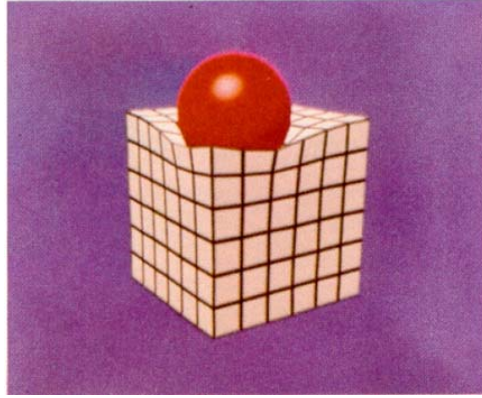


Figure 3.8 – Exemple d'un objet modélisé par la méthode de Terzopoulos [178].

des positions d'échantillonnage de quantités continues. Un lissage des valeurs échantillonnées à l'aide d'un noyau de lissage W_h permet de déterminer l'expression continue de ces quantités. Ce noyau fournit une distribution massique sur le rayon d'influence h . La figure 3.9 montre une modélisation d'un corps très déformable de type fluide [168].

Ce modèle possède beaucoup des avantages intrinsèques des modèles à base de particules décrits précédemment. À chaque instant, on est capable de calculer en un temps équivalent à celui d'un système de particules la force subie par chaque point pour ensuite l'intégrer au cours du temps. La différence est que le calcul plus subtil de la force en utilisant le formalisme SPH garantit le respect d'une équation d'état, autorisant un processus multirésolution. Toutefois, ces modèles sont mieux adaptés à la simulation d'un comportement gazeux qu'à celle d'un véritable matériau élastique. De plus, l'augmentation de la cohésion interne du matériau entraîne en effet un coût en temps de calcul important.

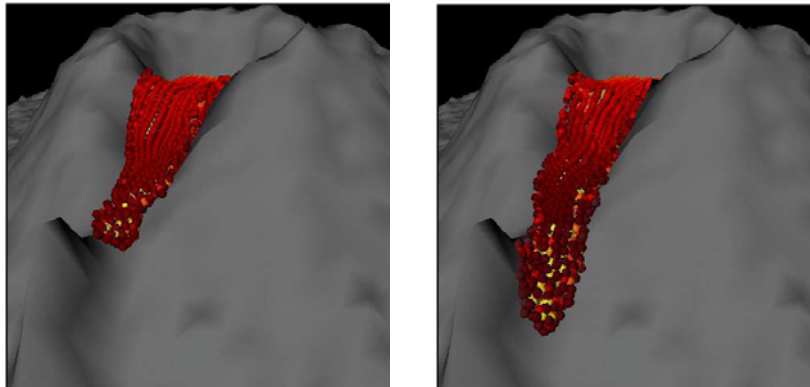


Figure 3.9 – Modélisation d'un fluide basée sur la méthode SPH [168] .

3.3.2.3 Méthode des volumes finis (MVF)

Breen et al.[11] ont proposé d'utiliser la méthode des volumes finis pour simuler les déformations des muscles. Le modèle développé est un modèle quasi-incompressible, transversalement isotrope et hyperélastique, il leur permet de simuler la contraction de tissus musculaires. Des B-splines sont utilisées pour modéliser les directions des fibres. Cette méthode est très peu ap-

pliquée à la modélisation des tissus mous.

Les avantages de cette méthode sont ses bases géométriques qui sont relativement intuitives et le calcul des forces qui est aussi simple que dans les modèles masses-ressorts, tout en conservant les avantages des modèles continus. Une telle méthode suppose néanmoins des hypothèses fortes, principalement sur la géométrie des éléments et les fonctions d'interpolation utilisées. Des informations concernant la possibilité de modéliser une géométrie complexe où bien des interactions entre plusieurs objets ne sont pas précisées par les auteurs, de même que les simulations effectuées n'ont pas été validées avec des données expérimentales.

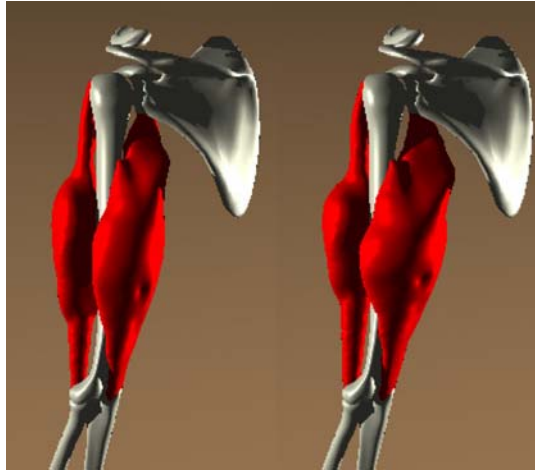


Figure 3.10 – Modélisation de tissus musculaires basée sur la méthode des volumes finis [11].

3.3.2.4 Méthode des éléments longs (MEL)

Costa et al.[22] proposent une nouvelle méthode appelée " Long Elements Method" (LEM) afin de déformer de manière interactive des objets remplis de fluides. Ce modèle considère les tissus comme des objets incompressibles composés en majeure partie de liquide [22]. L'objet est caractérisé par le principe de Pascal, qui établit que dans un fluide incompressible en équilibre, les pressions se transmettent intégralement. L'incompressibilité du fluide implique que la conservation du volume doit être garantie lorsqu'il y a interaction externe et déformation de l'objet. Ces auteurs utilisent une modélisation par poutres pour déformer de façon très rapide de tissus mous. Afin d'obtenir un meilleur réalisme physique, une contrainte sur la préservation du volume total de l'objet est ajoutée. Cette approche présente certains avantages, elle simule des déformations globales assez réalistes pour des tissus considérés comme non-homogènes. Un autre avantage de cette méthode est que le nombre d'éléments est moindre que dans une discrétisation avec des éléments cubiques ou tétraédraux. La figure 3.11 illustre le principe de la méthode des éléments longs.

Sundar et al.[174] ont utilisé la méthode des éléments longs dans le cadre d'un simulateur chirurgical. Tandis que, Balan et al.[6] ont développé une approche basé sur le modèle (MEL) est " Radial éléments Method", permet de modéliser des déformations d'objets de forme particulière de manière très rapide. Une extension de ce modèle, appelée VDM (Volume Distribution Method), est basée sur la recherche d'une solution en mode statique pour des déformations élastiques non-linéaires. La surface de l'objet est discrétisée par un ensemble de facettes, ce qui permet de réduire la complexité du modèle par rapport à une méthode volumique. Les auteurs utilisent

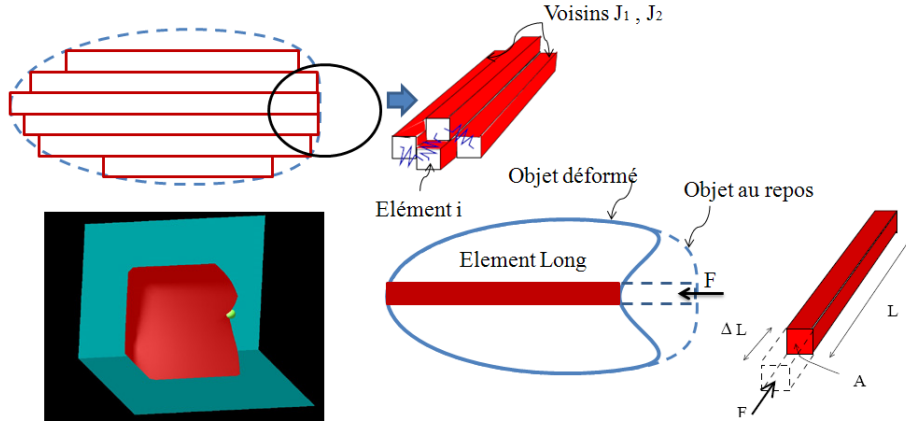


Figure 3.11 – Principe de déformation basée sur la méthode des éléments longs [22].

le modèle VDM pour la simulation en temps réel de déformations de tissus biologiques mous tels que : le ligament du genou, la simulation échographique de la cuisse humaine ainsi que la chirurgie arthroscopique du ligament croisé antérieur du genou [172],[173].

3.3.2.5 Méthode des éléments frontières (BEM)

Une des alternatives à la méthode des éléments finis a été proposée par [68]. Dans cette méthode, tous les calculs du comportement d'un objet élastique sont effectués à la surface de celui-ci au lieu de concerner tout le volume. Elle est basée sur la formulation intégrale des équations de la mécanique des milieux continus. Elle utilise l'équation de Navier, qui est obtenue en intégrant l'équation de conservation de l'énergie en combinaison avec les équations constitutives d'un matériau continu, isotrope et élastique linéaire. Le modèle des éléments de frontière repose sur l'équation suivante :

$$(Nu)(x) + b(x) = 0 \quad (3.1)$$

où x est le vecteur des coordonnées cartésiennes du milieu, N un opérateur linéaire différentiel du second degré, b le champ des forces appliquées au système et u le champ de déplacements. La frontière de l'objet modélisé est découpée en éléments disjoints, à l'intérieur desquels le champ des déplacements est interpolé linéairement en fonction des déplacements des noeuds.

Citons les travaux de James et al.[68] qui ont présenté les premières simulations effectuées à l'aide des éléments frontières dans un système nommé ArtDefo (voir la figure 3.12). Une première application médicale développée par Monserrat et al.[126] a concerné la simulation des déformations mécaniques du foie d'un porc. Cependant, les auteurs n'ont pas réussi à obtenir un modèle de tissu élastique linéaire réaliste pour des déformations supérieures à $3mm$ et des vitesses de déformations supérieures à $0,4mm/s$.

James et al.[69] ont proposé une extension de la méthode avec une approche multirésolution de l'objet pour une application sur la modélisation des différents types de tissus recouvrant les doigts de la main. Ils ont exploité la linéarité du système en pré-calculant un ensemble de réponses élémentaires appelées fonctions de Green. Ces fonctions peuvent ensuite être combinées pour des applications en temps-réel. En résumé, la méthode des éléments frontières présente certains avantages :

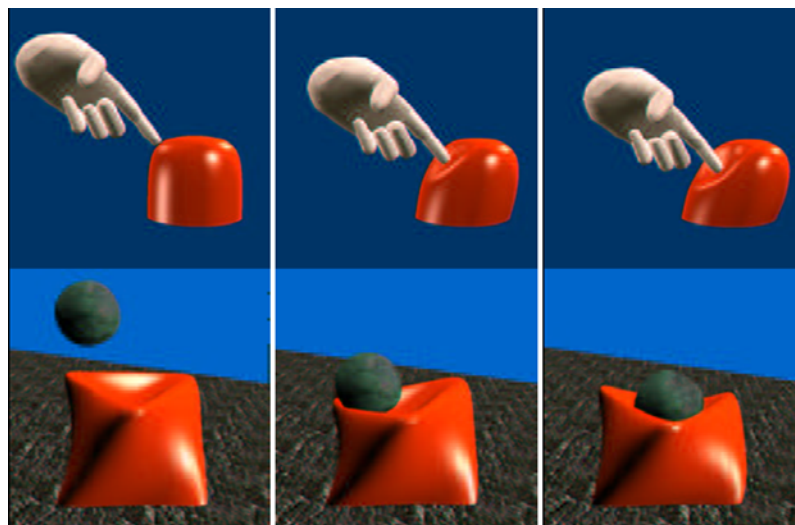


Figure 3.12 – Modèles des éléments frontières (BEM : Boundary élément Method) par [68].

- la méthode ne requiert pas un maillage volumique mais uniquement un maillage surfacique ;
- un contrôle plus facile du nombre de sommets de l'objet modélisé en comparant à la méthode des éléments finis, ainsi le nombre d'équations est diminué ;
- réduction du nombre d'équations à résoudre, ce que favorise une amélioration des temps de calcul ;
- la structure volumique est correctement prise en compte dans les calculs, ce qui fait tout l'intérêt de la méthode car les objets sont bien représentés par un continuum volumique.

Néanmoins la méthode des éléments frontières (BEM) présente plusieurs inconvénients :

- le principal inconvénient provient du fait que cette méthode n'est à priori pas adaptable à des systèmes dont les lois mécaniques sont dites *complexes* et à des changements de topologie ;
- le calcul de la matrice de raideur est difficile à implementer et la qualité du maillage surfacique peut influencer la stabilité des calculs.
- cette méthode ne peut pas calculer les déplacements de noeuds à l'intérieur de l'objet modélisé.

Au vu des différents inconvénients précités, leur utilisation dans la modélisation des objets complexes est limitée, en particulier des tissus mous qui sont des objets non linéaires, viscoélastique et non homogènes.

3.3.2.6 Méthode des éléments finis (MEF)

Généralement, la résolution analytique d'un problème basé sur la mécanique des milieux continus nécessite l'utilisation des méthodes numériques pour approcher cette solution. La méthode des éléments finis est à l'heure actuelle une des méthodes les plus utilisées dans le calcul de structures solides ou déformables. La méthode des éléments finis est un outil de discrétisation, qui permet de modéliser l'objet en un ensemble d'éléments afin de pouvoir calculer la solution des équations écrites dans le cadre de la mécanique des milieux continus. La solution globale est

ensuite interpolée de manière continue afin d'évaluer les contraintes et les déformations en tout point de l'objet modélisé.

Principe de la méthode des éléments finis

Le principe de cette méthode est de diviser ou discrétiser spatialement un milieu continu complexe (l'objet modélisé) en un ensemble d'éléments de formes relativement simples appelés éléments finis. Ces éléments peuvent être de différentes formes, que se soit en dimension 2 comme par exemple les triangles ou les quadrilatères, ainsi qu'en dimension 3 comme les tétraèdres ou les hexaèdres. Les champs physiques sont interpolés sur chaque élément en fonction de leur valeur

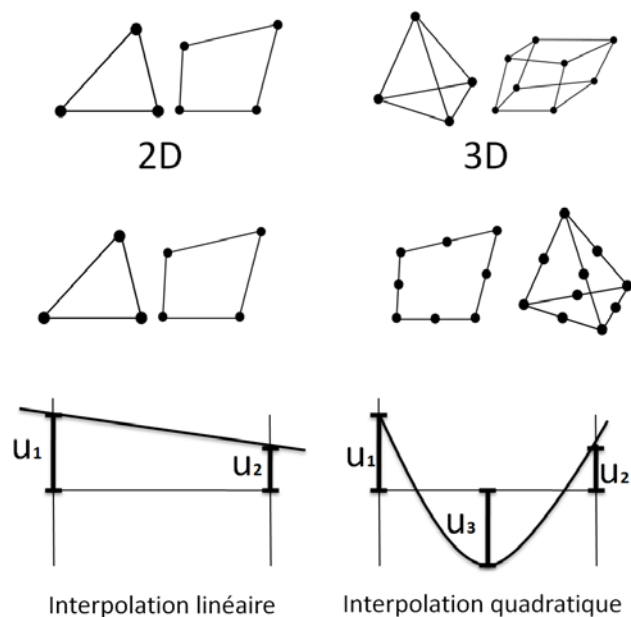


Figure 3.13 – En haut : Exemples d'éléments finis en 2D et 3D, en bas : interpolation linéaire ou quadratique.

en certains points nommés noeuds. La déformation est définie sur chaque élément du maillage par des fonctions d'interpolation. Ces fonctions sont généralement linéaires ou quadratiques, elles permettent de calculer le déplacement en tout point de l'élément en fonction des déplacements nodaux (voir la figure 3.13). A chaque élément est défini un système d'équations obtenu à partir d'une formulation intégrale variationnelle des équations de la mécanique des milieux continus. L'ensemble des équations établies sur chaque élément est regroupé via un processus d'assemblage prenant en compte les différentes interactions entre élément voisins. La résolution du système global en tenant compte les conditions imposées aux limites, permet d'obtenir les valeurs des inconnues en chaque noeud du maillage.

3.3.2.7 Extensions et améliorations de la méthode élément finis : vers des simulations réalistes/précises en temps réel

L'avantage principal de la méthode des éléments finis réside dans le fait qu'elle est basée sur la mécanique des milieux continus, ce qui permet d'approcher avec précision les comportements physiques des matériaux si les propriétés rhéologiques sont bien identifiées. Elle est largement répandue dans l'industrie avec des codes commerciaux comme ABAQUS, ANSYS, NASTRAN,

COSMOS, COMSOL et CAST3M.... Le principal inconvénient de cette méthode concerne le temps de calcul : ceci peut devenir important selon la taille du système d'équations à résoudre, car la complexité de ces algorithmes est souvent élevée. De nombreux travaux de recherche ont concerné l'amélioration de la méthode des éléments en tenant compte des contraintes antagonistes "réalisme+précision" et "temps-réel".

Pour rendre l'utilisation des éléments finis interactive en temps réel, plusieurs stratégies et améliorations ont été explorées. Duriez [40] a classé ces différentes stratégies en quatre catégories :

- *Réduction de temps de calculs par une phase de pré-calculs* : où toutes les opérations les plus coûteuses en temps de calcul sont réalisées durant cette phase, à savoir la construction de l'objet en 3D.
- *schémas d'intégration en temps* : le choix d'un schéma d'intégration qui assure en même temps la rapidité et la stabilité n'est pas toujours facile. Plusieurs travaux se sont focalisés sur ce problème afin d'optimiser leurs calculs et trouver un compromis entre le temps de calculs et la stabilité de leurs simulations.
- *Définition d'un comportement de déformation bien précis* : revient à adapter un comportement spécifique à des caractérisations physiques bien connues. Par exemple, en élasticité, on peut trouver une méthode de calcul bien adaptée pour des objets très mous, mais qui n'est pas adaptée pour les objets rigides ou des objets très structurés.
- *résolutions multiples locales* : des stratégies de résolutions multiples ou adaptatives peuvent également améliorer les temps de calcul. Lorsqu'une trop forte discontinuité est évaluée à un endroit précis, on choisit de raffiner le calcul *localement* en introduisant de nouveaux éléments plus petits.

Il est important de noter que la plupart des travaux combinent plusieurs de ces stratégies. De plus, la capacité des ordinateurs et leurs puissances permet la mise en oeuvre des techniques de parallélisation et des architectures logicielles et matérielles bien adaptées pour des systèmes relativement complexes.

Dans la suite de ce chapitre nous illustrons les principales extensions et améliorations techniques basées sur la méthode des éléments finis adaptées pour des applications en temps-réel.

3.3.2.8 Techniques de pré-calculs et de condensation

Une technique éprouvée consiste à effectuer des pré-calculs avant la simulation des déformations de chaque noeud par un déplacement élémentaire dans le cas d'hypothèse de déformations linéaires.

Cotin et al.[25] utilisent cette technique pour leur simulateur chirurgical. Les auteurs séparent les noeuds surfaciques des noeuds volumiques et proposent de pré-calculer la matrice de raideur liée aux noeuds surfaciques. Ils stockent leurs résultats dans des tenseurs 3×3 et calculent par combinaison linéaire au cours de la simulation les déformations effectives des noeuds à l'aide de ces tenseurs.

Bro-nielsen et al.[14] introduisent des innovations dans la méthode des éléments finis qui conduisent à un modèle élastique linéaire pré-calculé et quasi-statique dans le cadre d'un simulateur chirurgical. Le concept est d'inverser partiellement la matrice de raideur dans une phase de pré-calculs afin de limiter le nombre de calculs liés à l'inversion de la matrice pendant la simulation en-ligne.

Cela revient à dire, que seuls les noeuds de surface jouent un rôle dans la visualisation de l'objet déformé et dans le retour de forces.

Considérons les noeuds surfaciques (indice s) et les noeuds intérieurs (indice i), le système s'écrit comme suit :

$$\begin{bmatrix} F_s \\ F_i \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} K_{ss} & K_{si} \\ K_{is} & K_{ii} \end{bmatrix} \cdot \begin{bmatrix} U_s \\ U_i \end{bmatrix} \quad (3.2)$$

avec la valeur U_i définit par :

$$U_i = K_{ii}^{-1}(F_i - K_{is}U_s) \quad (3.3)$$

En remplaçant (3.5) dans (3.2), nous obtenons la forme générale suivante :

$$(K_{ss} - K_{si}K_{ii}^{-1}K_{si})U_s = F_s - K_{si}K_{ii}^{-1}F_i \quad (3.4)$$

Cette écriture permet d'obtenir le déplacement des noeuds situés à la surface de l'objet modélisé. De la même manière, les déplacements des noeuds situés à l'intérieur U_i peuvent également être retrouvés à l'aide de l'expression (3.5) par simple remplacement de la première équation matricielle dans la deuxième équation.

Les deux grandes innovations de cet algorithme ont été la technique de condensation et l'inversion explicite de la matrice de raideur. Il faut noter que la condensation ne modifie pas le résultat, le système condensé possède la même solution que le système original. Il s'agit essentiellement de ne calculer que les variables dont on a besoin. Grâce à ces innovations, la méthode des éléments finis s'est avérée tout à fait applicable à la simulation de déformations mécaniques en temps réel. Bro-nielsen et al.[113] et Cotin et al.[25] ont évalué les limites de la méthode en nombre de noeuds de maillage : environ 250 noeuds avec une résolution dynamique et 1500 noeuds avec une résolution quasi-statique .

Le principal problème de la technique de condensation est celui du changement de topologie. Il n'est pas possible de simuler des coupures, des déchirures ou encore des perforations. En effet, dès qu'il y a un changement de topologie, la matrice de raideur du système se trouve modifiée. Il faudrait alors l'inverser une nouvelle fois, ce qui est pénalisant pour des simulations en temps réel.

3.3.2.9 Parallélisme

L'évolution actuelle des architectures matérielles s'oriente de plus en plus vers le parallélisme. L'une des clés du temps réel dans le cadre des modélisations des objets en utilisant la méthode des éléments finis est la parallélisation des calculs. Celui-ci peut être mis en jeu de façons variées, comme les multiprocesseurs ou le multi-cores, les clusters de PC, ou les processeurs vectoriels tels que les récents GPU programmables.

Généralement, la parallélisation consiste à décomposer spatialement le domaine considéré en plusieurs sous-domaines, chaque sous-domaine est traité indépendamment par un processeur (voir la figure 3.14). La connection des informations prend alors une place importante dans le cas des noeuds se trouvant à la frontière des sous-domaines. Plusieurs architectures matérielles et logicielles sont développées à l'heure actuelle dans le but d'optimiser les calculs et la communication entre les processeurs. D'énormes gains en temps de calcul ont pu ainsi être démontrés en

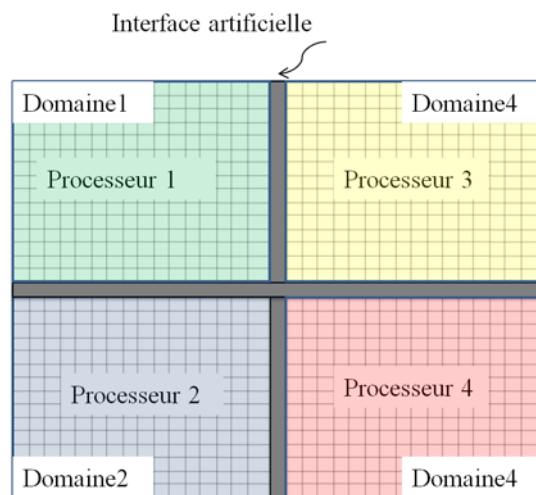


Figure 3.14 – Principe de décomposition en domaines et sous domaines.

animation physique [198]. Même si la parallélisation des calculs des scènes complexes modélisés en éléments finis semble une voie prometteuse pour accéder au temps réel, cela reste très peu utilisé à l’heure actuelle.

3.3.2.10 Techniques des éléments finis explicites

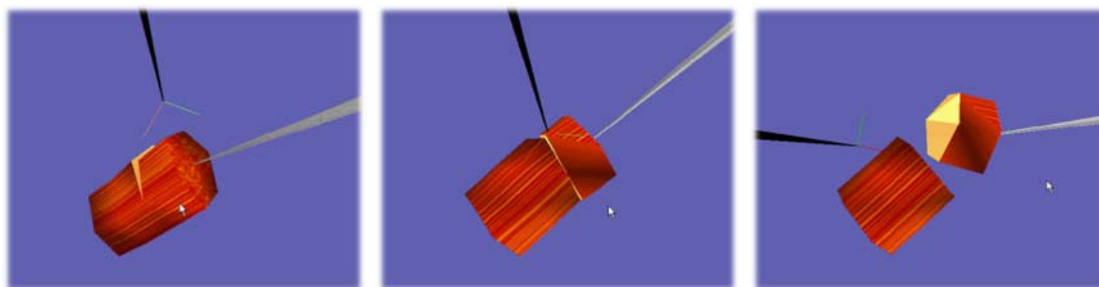


Figure 3.15 – Un exemple de déformation en utilisant la technique des éléments finis explicites par Mendoza et al. [116].

Les techniques des éléments finis explicites représentent une alternative intéressante aux éléments finis dans le cadre de simulations en temps réel [12],[32],[123]. La méthode est proche de celle proposé par Cotin [23], les masses et les forces internes et externes sont regroupées sur chaque noeud. Les forces élastiques sont calculées pour chaque élément comme des dérivées de l’énergie de déformation. Les matrices de raideur calculées pour chaque élément sont assemblées dans une matrice de raideur générale et le système d’équation est résolu dynamiquement. Dans ce cas précis, les matrices de masses et d’amortissement sont souvent diagonales ce qui facilite le conditionnement de la matrice inverse de rigidité. Cette approche est utilisée notamment pour modéliser les déformations non-linéaires mais également les changements de topologie de la structure étudiée (voir la figure 3.15) [116].

3.3.2.11 Approche de multi-résolution

Debunne et al.[31] proposent une méthode de modélisation non linéaire semi implicite qui, en pratique, rend implicite uniquement le mouvement local de chaque noeud. En revanche, l'élasticité interne globale de l'objet est explicite. La méthode est très proche de celle de Cotin [23], améliorée par Picinbono [137]. Cependant, l'algorithme proposé, qui est assez semblable à l'algorithme masse-tenseur, possède la particularité d'utiliser un maillage adaptatif permettant de raffiner la résolution dans les zones subissant de fortes déformations (voir la figure 3.16). On obtient ainsi une modélisation avec plusieurs niveaux de résolution. L'approche de multi-résolution permet les changements de topologie en temps réel, mais des difficultés apparaissent du fait de la superposition de plusieurs niveaux de maillages. Afin d'évaluer l'amplitude des déformations, un rapport de différence entre les termes linéaires et quadratiques du champ des déplacements est calculé, lorsqu'un certain seuil est dépassé, l'algorithme bascule vers un maillage de résolution plus fin autour de la région en question. Cette approche permet ainsi de concentrer les calculs dans les zones où les déformations sont maximales.

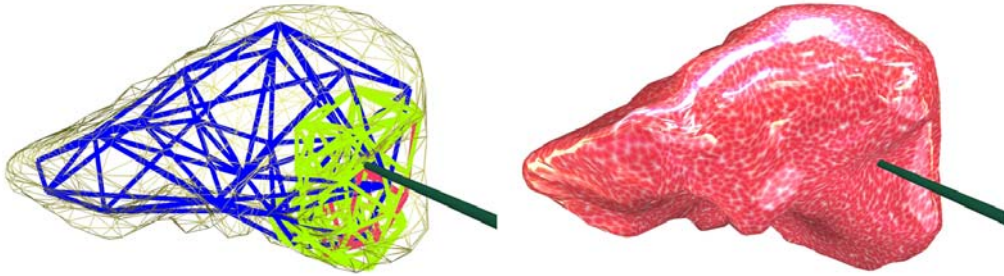


Figure 3.16 – Déformation du foie en utilisant l'approche de multi-résolution.

A titre d'exemple, la méthode des éléments finis multi-resolution a été appliquée avec succès à la chirurgie plastique [74]. Dans cette application, un premier maillage utilise des éléments cubiques, puis lorsque il y a nécessité de raffiner la résolution dans les zones à fortes déformations linéaires, chaque élément cubique est décomposé en 8 éléments. Cependant, certaines améliorations sont nécessaires en vue d'introduire les non-linéarités physiques et/ou géométriques pour des applications temps réel [194].

3.3.2.12 Méthode de masses-tenseurs

Pour résoudre les problèmes de changement de topologie en se basant sur la méthode des éléments finis, Cotin et al. [25] ont proposé une alternative afin de résoudre les systèmes d'équations de la MEF de manière locale et itérative rendant ainsi possible la simulation de changement de topologie en temps réel (coupe, déchirure, incision, ponction, etc). L'objet modélisé est discrétisé en éléments tétraédriques 3D et l'ensemble de la masse de l'objet est distribuée sur les noeuds du maillage tétraédrique.

L'équation dynamique régissant le mouvement pour chaque noeud est donnée par :

$$M_i \frac{d^2 U_i}{dt^2} + D_i \frac{dU_i}{dt} + K_i U_i = F_i \quad (3.5)$$

où les matrices M , D , K représentent les matrices d'inertie, de viscoélasticité et d'élasticité pour chaque noeud respectivement. Le terme U_i représente le vecteur déplacement du noeud i .

Les matrices M et D sont considérées comme diagonales, c'est-à-dire que la masse et les effets d'amortissement sont concentrés sur les sommets du maillage. Cette simplification découple les mouvements de chacun des noeuds, un premier terme correspondant aux forces créées par le déplacement du sommet et un autre terme correspondant à la somme des forces dues aux déplacements de ses voisins. Ceci nous permet d'écrire l'équation :

$$F_i = K_{ii}u_i + \sum_{j \in P(i)} K_{ij}u_j \quad (3.6)$$

avec K_{ii} représentant la somme des contributions du noeud i pour tous les éléments auxquels il appartient, K_{ij} représentant la somme des contributions des autres noeuds j voisins du noeud i , F_i étant la force exercée sur chacun des noeuds i , P_i représentant les voisins du noeud i . Un des principaux avantages de cette approche vient du fait que les tenseurs K_{ii} , K_{ij} peuvent être pré-calculés avant la simulation (phase *hors-ligne*), car ceux-ci ne dépendent que de la géométrie du maillage au repos et des propriétés mécaniques.

Sur la base du modèle de Cotin, Picinbono a présenté une extension de la méthode des masses-tenseurs basée sur le modèle d'élasticité de Saint Venant-Kirchhoff en intégrant dans le modèle de déformation les non-linéarités géométriques [137],[138]. Les mêmes auteurs ont par ailleurs présenté une autre variante de la méthode dans le cas d'un matériau non-isotrope [139]. Le cas traité est celui de matériaux dont les propriétés sont différentes pour une seule direction donnée, plus couramment appelés matériaux transversalement isotropes. Citons également les travaux de Schwartz et al.[157],[156] qui proposent une extension au cas des modèles non-linéaires viscoélastiques pour la simulation du comportement de tissus biologiques. L'approche repose essentiellement sur le pré-calcul d'un certain nombre de tenseurs dépendant des caractéristiques géométriques et mécaniques de chaque élément fini adaptées aux conditions locales de déformation. Une validation expérimentale a permis de reproduire avec une très bonne précision les déformations d'un foie lors d'une opération chirurgicale [158]. Dans la continuité de ces travaux, Mollemans et al.[125] ont également appliqué cette approche dans la simulation dynamique d'expressions faciales chez l'humain. Une optimisation des paramètres biomécaniques de leur modèle à partir de données expérimentales ont permis de valider le comportement fortement non-linéaire et viscoélastique de la peau du visage. Comme nous pouvons le constater, un des grands avantages de la méthode masses-tenseurs est que celle-ci peut être généralisée à une grande variété de comportements nécessitant la simulation numérique des déformations biologiques sous contrainte temps-réel.

3.3.2.13 Modèle hybride

Dans le but de réduire considérablement les temps de calculs, Cotin et al.[24] ont combiné le modèle élastique quasi-statique linéaire pré-calculé et la méthode des masses-tenseurs dans un seul système hybride. Etant donné que bien souvent les modifications de topologie restent restreintes à une petite partie du modèle, Cotin propose d'appliquer la méthode des masses-

tenseurs à cette partie dynamique alors que le reste du modèle est décrit par la méthode quasi-statique globale. Comme les deux techniques reposent sur la même représentation physique, le couplage des deux méthodes ne modifie pas le comportement du système, c'est équivalent à celui d'un système élastique linéaire unique. A titre d'illustration, la figure 3.17 représente un exemple de la déformation du foie en appliquant le modèle hybride [24].

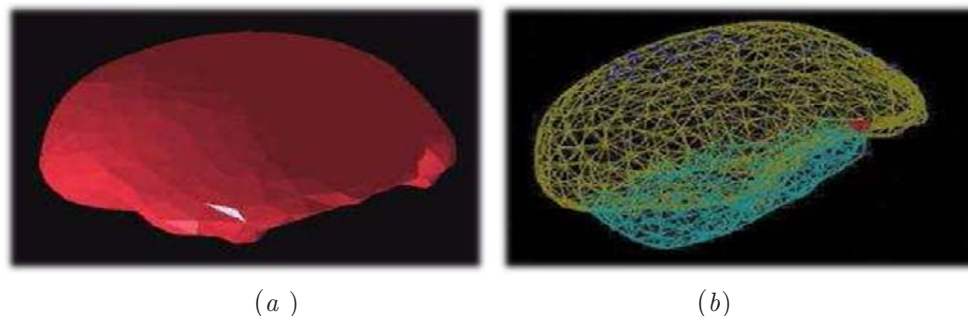


Figure 3.17 – Modélisation hybride proposée par [24]. Les zones où ont lieu les changements de topologie utilisent le modèle masses-tenseurs alors que le reste de l'organe est modélisé par le modèle éléments finis quasi-statique.

3.3.2.14 Modèles de déformation globales : analyse modale

Une autre catégorie de modèles consiste à réduire les degrés de liberté en ne proposant qu'un jeu de déformations possibles. Ces modèles se basent sur le formalisme de Lagrange. Une première approche consiste à évaluer les déformations globales à partir des amplitudes de transformations données [8],[193]. On peut alors discrétiser la surface des objets en noeuds, afin d'ajouter des degrés de liberté supplémentaires associés aux déformations locales [159],[120]. Un simulateur médical proposé par James et al. [70] combine l'approche modale avec une animation d'objets rigides pour simuler les déformations de la peau sur les os. La peau, fixée aux os, s'anime dès qu'un os se déplace et provoque des vibrations.

3.4 Méthodes meshless (sans maillage)

Récemment une nouvelle catégorie de modèles *meshless* est apparue pour calculer les solutions des équations différentielles partielles. Muller et al.[129] proposent cette méthode pour animer des objets déformables. L'objet modélisé est représenté par un ensemble de noeuds possédant une masse et considéré comme un ensemble de particules. A chaque itération, les positions initiales de l'ensemble des particules sont transformées au sens des moindres carrés pour correspondre aux positions actuelles des particules. Dans ce cadre, Muller et al.[129] proposent une méthode dite "*Shape-matching*" où l'idée principale repose sur le découpage de l'objet en sous-groupes à partir d'hexaèdres englobants et interpolants. Pour chaque groupe, une transformation géométrique entre la position au repos et la position déformée est évaluée. Cette transformation peut être effectuée par un recalage rigide ou élastique, le dernier cas étant plus coûteux en temps de calcul mais beaucoup plus précis. Des déformations sont déduites dans des repères comparables à partir des positions des points de l'objet au repos et déformés après le recalage. Des forces sont ainsi créées sur les points pour tenter de les ramener vers leur position non déformée. Une version superposant ces groupes permet encore plus de souplesse dans la déformation [147].

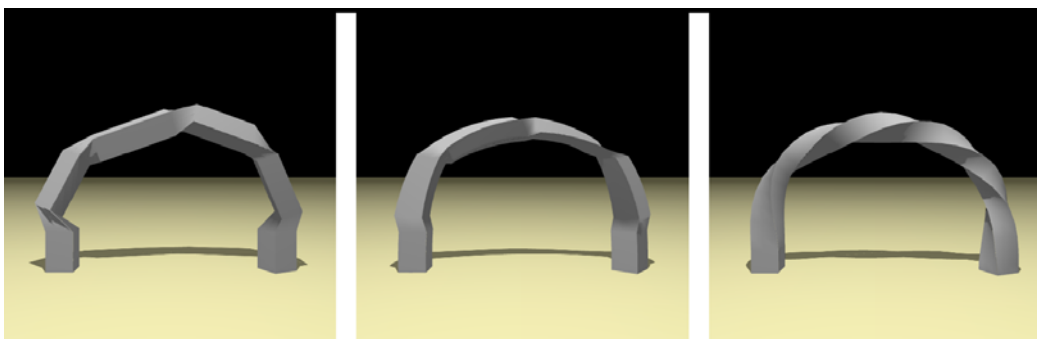


Figure 3.18 – Déformations maximales basées sur méthode shape-matching [147].

En résumé, ces modèles donnent un excellent rendu visuel par rapport à leur coût de temps de calcul (voir la figure 3.18) mais nécessitent une estimation empirique des paramètres des matériaux constitutifs. De ce fait, il est difficile de déterminer ces paramètres lorsque l'on désire une grande précision des déformations comme c'est le cas des simulateurs médicaux de chirurgie invasive où le rendu visuel des déformations doit correspondre aux données expérimentales .

3.5 Conclusion

La recherche de nouveaux outils algorithmiques de calcul rapide de déformations appliquées à la modélisation des tissus biologiques, apparaît comme une étape indispensable et primordiale dans le développement de simulateurs physiques réalistes fondés sur la mécanique continue. Toute approche de modélisation des déformations biomécaniques doit répondre au mieux à la contrainte de temps réel et plus particulièrement, avoir un compromis entre "réalisme/précision/temps réel". De ce fait, nos objectifs de modélisation devront vérifier les propriétés suivantes :

- une modélisation précise des cellules biologiques et de leurs déformations ;
- une modélisation réaliste et adaptée aux interactions en temps réel entre la cellule modélisée et l'outil d'interaction (micropipette d'injection ou nanoindenteur AFM) ;
- et enfin, une validation expérimentale de la modélisation adoptée en vue d'une certification pré-clinique du simulateur développé.

La majorité des méthodes numériques issues de la mécanique continue adoptent un modèle physique de déformation issue des lois d'élasticité linéaire. La question importante qui se pose est de savoir si cette loi est appropriée pour modéliser de façon satisfaisante les propriétés de tissus biologiques. Les différentes études menées sur le sujet s'accordent pour affirmer que le modèle élastique linéaire fréquemment utilisé en simulation n'est qu'une approximation très grossière du comportement de ces tissus, valable uniquement pour de très faibles déformations. Ces études montrent que le comportement des tissus est plus complexe, fortement non linéaire, viscoélastique et admet des déformations compression/traction importantes. Il s'avère donc nécessaire d'adopter un modèle mécanique plus complexe et plus fiable si l'on souhaite obtenir une représentation suffisamment précise de la réalité.

Nous avons présenté dans ce chapitre différentes techniques appliquées à la modélisation des tissus mous en mettant l'accent sur leurs avantages et/ou inconvénients. A partir de l'étude bibliographique réalisée, nous pouvons résumer ces méthodes par un diagramme sagittal repré-

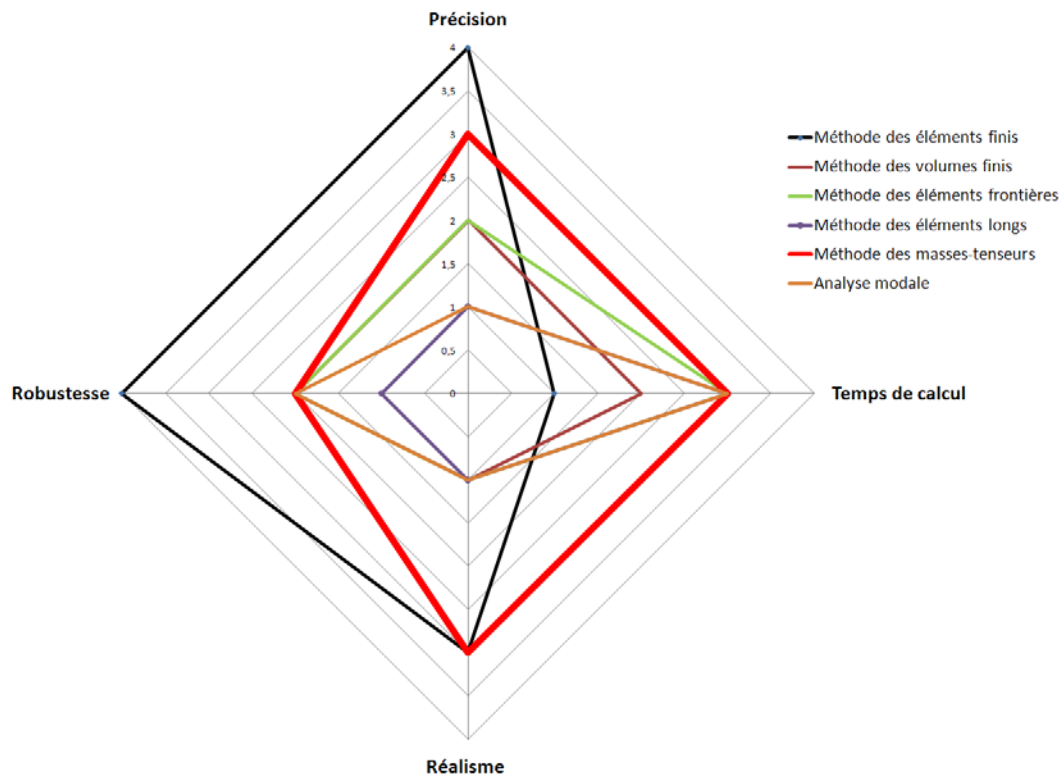


Figure 3.19 – Performances des différents types de méthodes continues en fonction des critères requis pour les simulateurs biomécaniques interactifs.

senté à la figure 3.19. Ce diagramme présente une comparaison qualitative basée sur différents critères choisis issus de notre analyse bibliographique, à savoir le temps de calcul, le réalisme physique de la simulation, la précision du modèle et la robustesse de la méthode de calcul.

Suite à cette analyse, l'approche masses-tenseurs nous paraît plus compatible avec les contraintes d'interactivité et présente un meilleur compromis entre ces différents critères. La méthode de masses-tenseurs présente plusieurs avantages :

- le principal avantage de cette méthode réside sur le fait qu'elle appartient aux méthodes physiques, elle est basée sur des données expérimentales. Cela donne la possibilité d'extraire les paramètres nécessaires au modèle à partir des courbes expérimentales (propriétés mécaniques et géométriques).
- cette méthode appartient à la catégorie des modèles continus de la matière, cela rend cette approche indépendante de la topologie du maillage ou d'une forme particulière.
- le principe de la méthode masses-tenseurs est basé sur le pré-calculs de la matrice de rigidité à partir des éléments au repos.
- cette approche permet de simuler le changement et la modification de topologie, ou toutes les opérations sont effectuées localement sur chaque noeud.
- un des avantages de cette méthode est la grande flexibilité de mise en oeuvre qui permet d'introduire plusieurs extensions à savoir les non linéarités qu'elles soient géométriques ou physiques. De plus, une combinaison avec d'autres approches est possible afin d'aug-

menter les performances de cette méthode.

Partie II - Etude de la Réponse
Mécanique d'une Cellule Biologique :
Modélisation, Implémentation,
Simulation et Validation Expérimentale

Modélisation des déformations biomécaniques de cellules biologiques en temps réel

Sommaire

4.1	Introduction	74
4.2	Formulation de la méthode des masses-tenseurs en élasticité linéaire	74
4.2.1	Grandeurs inconnues, données et problème <i>continu</i> à résoudre	75
4.2.2	Formulation faible du problème <i>continu</i>	77
4.2.3	Discrétisation <i>spatiale</i> du problème : éléments-finis	78
4.2.4	Particularités de la résolution en approche masses-tenseurs	83
4.2.5	Discrétisation <i>temporelle</i> du problème : intégration dynamique	85
4.2.6	Synthèse : équation de mouvement discrétisée en temps et en espace . .	88
4.3	Modélisation d'une cellule biologique	89
4.3.1	Modélisation 3D d'une cellule biologique vue comme une structure cytosquelettique	89
4.3.2	Modélisation 3D d'une cellule biologique vue comme un solide incompressible	95
4.4	Validation expérimentale sur des cellules biologiques flottantes de type ovocyte	104
4.4.1	Simulation avec un modèle de cytosquelette de type tensegrité	104
4.4.2	Simulation avec un modèle de solide élastique homogène incompressible	105
4.5	Validation expérimentale sur des cellules souches adhérentes	110
4.5.1	Pourquoi s'intéresser aux cellules souches ?	110
4.5.2	La microscopie à force atomique	111
4.5.3	Méthodologie de comparaison	119
4.5.4	Caractérisation géométrique et mécanique des cellules	120
4.5.5	Simulations éléments-finis statiques et masses-tenseurs dynamiques . . .	125
4.6	Conclusion	129

4.1 Introduction

Nous avons présenté, au chapitre précédent, un ensemble de techniques numériques utilisables pour la simulation de la réponse d'un corps déformable à une sollicitation mécanique. Nous avons choisi de privilégier les approches développées pour la résolution numérique d'un *vrai problème physique*, c'est-à-dire celui d'un problème de mécanique d'un solide déformable vu comme un milieu continu. Ces approches nécessitent d'extraire des paramètres mécaniques, nécessaires au modèle de comportement, et des paramètres géométriques nécessaires à la discrétisation spatiale, à partir de mesures expérimentales sur le corps d'étude. Parmi ces méthodes, qui permettent d'obtenir une solution approchée des équations aux dérivées partielles issues de la mécanique des milieux continus en les remplaçant par un nombre fini d'équations à satisfaire, nous avons privilégié la méthode des éléments-finis. Les raisons qui ont motivé ce choix sont essentiellement les suivantes : ses capacités à traiter des géométries, des comportements mécaniques et des conditions aux limites complexes tout en ayant certaines propriétés de convergence lorsque la discrétisation est affinée. Toutefois, conscients que cette force de la méthode se traduit par des coûts en temps de calcul et en utilisation mémoire qui peuvent la rendre inadaptée à des simulations en temps réels, une formulation particulière de la méthode adaptée aux calculs dynamiques et à la prise en compte de changements de topologie a été retenue : c'est l'approche dite *masses-tenseurs*.

Nous présenterons dans ce chapitre l'application de ce modèle pour décrire la réponse mécanique de cellules. Deux applications particulières ont été retenues qui correspondent à notre sujet d'étude : la microinjection d'un ovocyte et la microindentation d'une cellule souche.

Dans un premier temps, nous rappellerons les bases théoriques et les équations régissant le modèle masses-tenseurs dans le cadre d'un comportement élastique linéaire. Nous nous attacherons à décrire précisément les étapes de discrétisation spatiale et temporelle du problème à résoudre pour faire ressortir les spécificités de l'approche par masses-tenseurs.

Nous verrons ensuite comment utiliser cette approche pour étudier la réponse d'une cellule. Deux modélisations simplifiées seront envisagées, à savoir la cellule vue comme une structure de tenségrité reflétant le rôle primordial du cytosquelette et la cellule vue comme un solide élastique incompressible. Un détour par une analyse géométrique de la réponse d'un ovocyte à une microinjection nous amènera à faire évoluer le modèle masses-tenseurs pour qu'il puisse prendre en compte les effets de transformations finies (grands déplacements et grandes déformations).

Nous terminerons ce chapitre par la mise en application du modèle en détaillant comment seront identifiés les paramètres du modèle dans chaque expérience. En plus d'une confrontation *simulation* versus *expérience* nous ajouterons une comparaison *simulation masses-tenseurs* (notre code) versus *simulation éléments-finis* (code industriel) ce qui nous permettra tout à la fois de qualifier notre code et de valider son application en biologie cellulaire.

4.2 Formulation de la méthode des masses-tenseurs en élasticité linéaire

Nous allons dans cette section décrire de quelles manières sont obtenues les équations discrètes en espace et en temps de la méthode des masses-tenseurs en élasticité linéaire. La présentation retenue est *calquée* sur l'approche classique par éléments-finis pour mieux faire ressortir à quels niveaux l'approche par masses-tenseurs s'en différencie [57].

4.2.1 Grandeurs inconnues, données et problème *continu* à résoudre

Champs inconnus

Les inconnues principales d'un problème de mécanique déformable sont les champs de déplacements, de déformations et de contraintes :

- champ de déplacements :

L'action d'une force externe engendre sur un corps déformable des changements de forme. En tout point de la structure caractérisé par sa position initiale ($\underline{X}$) et sa position actuelle ($\underline{x}$), on définira un déplacement $\underline{U}$ mesurant le changement de position :

$$\begin{aligned} \underline{U} &= \underline{x} - \underline{X} \\ \text{ou} \\ U_i &= x_i - X_i \end{aligned} \tag{4.1}$$

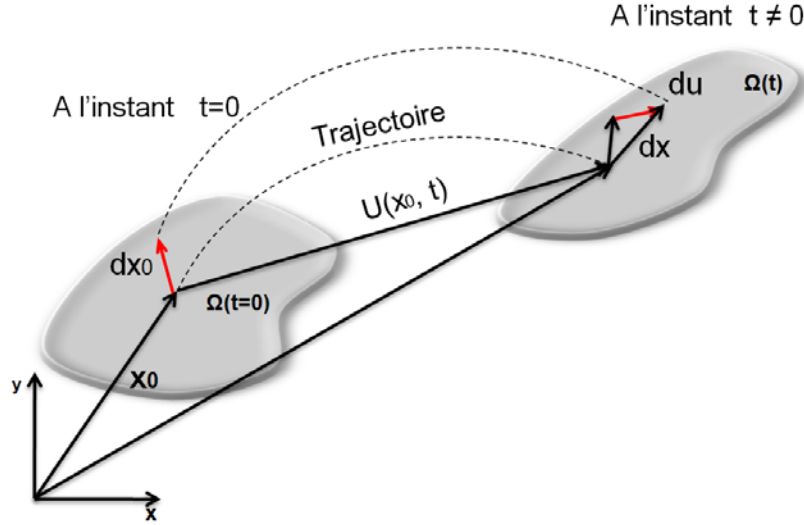


Figure 4.1 – Représentation bidimensionnelle des déplacements au cours de la déformation .

- champ de déformations :

Les changements de forme seront évalués au moyen de grandeurs adimensionnelles, les déformations. Dans un premier temps, on définit le gradient de transformation¹ :

$$\begin{aligned} \mathbf{F} &= \mathbf{I} + \mathbf{grad} \underline{U} = \mathbf{I} + \mathbf{H} \\ \text{ou} \\ F_{ij} &= \frac{\partial x_i}{\partial X_j} = \delta_{ij} + U_{i,j} \end{aligned} \tag{4.2}$$

Ce tenseur de gradient de déplacement ne peut pas être utilisé directement pour caractériser les déformations parce qu'il contient le tenseur d'identité $\mathbf{I}$.

1. Dans la suite nous utiliserons la convention de sommation sur les indices répétés est appliquée; δ_{ij} représentera le symbole de Kronecker

Pour les grandes déformations, il est usuel de travailler avec le tenseur de **Green-Lagrange** $\mathbf{E}$ défini de la manière suivante :

$$\begin{aligned}\mathbf{E} &= \frac{1}{2}(\mathbf{F}^T \cdot \mathbf{F} - \mathbf{I}) \\ &= \frac{1}{2}(\mathbf{grad} \underline{U} + \mathbf{grad}^T \underline{U} + \mathbf{grad}^T \underline{U} \cdot \mathbf{grad} \underline{U}) \\ \text{ou} \\ E_{ij} &= \frac{1}{2}(U_{i,j} + U_{j,i} + U_{k,i} U_{k,j})\end{aligned}\tag{4.3}$$

Si les déformations demeurent faibles - on parle de petites déformations - on travaillera avec le tenseur des déformations linéarisé ε :

$$\begin{aligned}\varepsilon &= \frac{1}{2}(\mathbf{grad} \underline{U} + \mathbf{grad}^T \underline{U}) \\ \text{ou} \\ \varepsilon_{ij} &= \frac{1}{2}(U_{i,j} + U_{j,i})\end{aligned}\tag{4.4}$$

– champ de contraintes :

Le tenseur des contraintes de Cauchy $\boldsymbol{\sigma}$ représente les efforts intérieurs agissant en un point matériel par unité de surface du solide (solide déformé) dans la configuration déformée.

La force interne exercée en un point matériel m par unité élémentaire de surface ds orientée de normale $\underline{n}$ peut être exprimée par :

$$\begin{aligned}d\underline{f} &= \boldsymbol{\sigma}(m) \cdot \underline{n} ds \\ \text{ou } df_i &= \sigma_{ij} n_j ds\end{aligned}\tag{4.5}$$

Mouvement et équilibre en tout point de la structure

La généralisation de la loi fondamentale de la dynamique à un milieu continu déformable nous donne :

$$\begin{aligned}\underline{div} \boldsymbol{\sigma} + \underline{f} &= \rho \ddot{\underline{U}} \\ \text{ou } \sigma_{ij,j} + f_i &= \rho \ddot{U}_i\end{aligned}\tag{4.6}$$

La généralisation du principe de l'action et de la réaction impose la symétrie du tenseur des contraintes de Cauchy :

$$\begin{aligned}\boldsymbol{\sigma} &= \boldsymbol{\sigma}^T \\ \text{ou } \sigma_{ij} &= \sigma_{ji}\end{aligned}\tag{4.7}$$

Données du problème

La résolution du problème mécanique ne pourra se faire que si l'on connaît un certain nombre de grandeurs.

Nous prendrons le cas de l'injection cellulaire comme illustration.

– La géométrie du domaine d'étude Ω . Celui ci est défini par ses frontières internes et externes.

Il s'agira de la cellule étudiée.

– Des caractéristiques matérielles. Ce sont les paramètres *matériau* qui interviennent dans les équations de comportement qui relient le champs de déformations au champ de contraintes.

Si le comportement de la cellule est supposé élastique linéaire, isotrope et isotherme, il s'agira du module d'Young et du coefficient de Poisson.

- Efforts intérieurs imposés $\underline{f}$. Les forces de volumes les plus courantes en mécanique des solides déformables sont les forces de gravité.

On pourra négliger le poids devant les autres efforts en présence.

- Efforts imposés sur la frontière $\underline{T}$.

Des efforts de compression seront générés par la micropipette d'injection et des efforts de traction pourront également être générés sur une partie du contour par la dépression générée par la micropipette d'aspiration.

- Conditions aux limites sur le champ de déplacements.

On pourra également considérer que la partie de la cellule en contact avec la micropipette d'aspiration ne bouge pas.

En tout état de cause, on supposera pour que le problème puisse être bien posé que $\Omega_T \cup \Omega_U = \partial\Omega$ et que $\Omega_T \cap \Omega_U = \emptyset$.

- Conditions initiales.

On pourra supposer la cellule immobile au début de l'expérience.

Problème aux limites et à valeurs initiales à résoudre

Dans le cas des petites perturbations, le problème aux limites dynamique à valeurs initiales peut s'écrire : Trouver $\underline{U}(\underline{x}, t)$, $\underline{\sigma}(\underline{x}, t)$ définis pour $\underline{x} \in \Omega$ et $0 \leq t \leq T$ vérifiant :

$$\left\{ \begin{array}{ll} \text{(a) équation de mouvement} & \underline{\text{div}} \underline{\sigma} + \underline{f} = \rho \underline{\ddot{U}} \quad \text{dans } \Omega \times [0, T] \\ \text{(b) équations de comportement} & \underline{\sigma} = \underline{\mathbf{F}}(\underline{\varepsilon}) \quad \text{dans } \Omega \times [0, T] \\ \text{(c) équations de compatibilité} & \underline{\varepsilon} = \frac{1}{2}(\underline{\text{grad}} \underline{U} + \underline{\text{grad}}^T \underline{U}) \\ \text{(d) conditions aux limites :} & \begin{cases} \underline{U} = \underline{U}^g & \text{sur } \partial\Omega_2 \times [0, T] \\ \underline{\sigma} \cdot \underline{n} = \underline{T}^g & \text{sur } \partial\Omega_1 \times [0, T] \end{cases} \\ \text{(d) conditions initiales :} & \begin{cases} \underline{U}(\underline{x}, 0) = \underline{U}^0(\underline{x}) & \text{dans } \Omega \\ \underline{\dot{U}}(\underline{x}, 0) = \underline{\dot{U}}^0(\underline{x}) & \text{dans } \Omega \end{cases} \end{array} \right. \quad (4.8)$$

4.2.2 Formulation faible du problème *continu*

On choisit comme inconnue principale le champ de déplacement $\underline{U}(\underline{x}, t)$ puisque les deux autres inconnues lui sont liées par les équations de compatibilité ($\underline{\varepsilon} \equiv \underline{\varepsilon}(\underline{U})$) et les relations de comportement ($\underline{\sigma} \equiv \underline{\sigma}(\underline{\varepsilon}) \equiv \underline{\sigma}(\underline{\varepsilon}(\underline{U}))$). L'obtention d'une formulation éléments-finis en déplacements du problème précédent nécessite de le transformer en un problème équivalent² obtenu au moyen d'un principe variationnel comme le principe des travaux virtuels ou le principe d'Alembert³.

Trouver $\underline{U}(\underline{x}, t)$ cinématiquement admissible tel que :

$$\int_{\Omega} \underline{\sigma}(\underline{\varepsilon}(\underline{U})) : \delta \underline{\varepsilon}(\underline{U}^*) d\Omega = \int_{\partial\Omega_T} \underline{T}^g \cdot \delta \underline{U}^* dA + \int_{\Omega} (\underline{f} - \rho \underline{\ddot{U}}) \cdot \delta \underline{U}^* d\Omega \quad \forall \delta \underline{U}^*$$

où $\delta \underline{U}^*$ représente un champ de déplacements virtuels cinématiquement admissible et $\delta \underline{\varepsilon}^*$ le tenseur de déformation (4.9)

L'expression du principe des travaux virtuels s'écrit finalement :

$$\delta W = \delta W_{int} - \delta W_{ext} + \delta W_{kin} = 0 \quad (4.10)$$

2. Comme il s'agit d'une formulation intégrale, on parle de formulation faible.

3. On peut également l'exprimer comme un principe de minimum de l'énergie potentielle.

avec

$$\begin{aligned}
 \text{Travail virtuel des efforts extérieurs : } \delta W_{ext} &= \int_{\partial\Omega_T} \underline{T}^g \cdot \delta \underline{U}^* dA + \int_{\Omega} \underline{f} \cdot \delta \underline{U}^* d\Omega \\
 &= \int_{\partial\Omega_T} T_i^g \delta U_i^* dA + \int_{\Omega} f_i \delta U_i^* d\Omega \\
 \text{Travail virtuel des efforts intérieurs : } \delta W_{int} &= \int_{\Omega} \boldsymbol{\sigma}((\boldsymbol{\varepsilon}(\underline{U}))) : \delta \boldsymbol{\varepsilon}(\underline{U}^*) d\Omega \\
 &= \int_{\Omega} \sigma_{ij} \varepsilon_{ji}^* d\Omega \\
 \text{Travail virtuel des forces d'inertie : } \delta W_{kin} &= \int_{\Omega} \rho \ddot{\underline{U}} \cdot \delta \underline{U}^* d\Omega \\
 &= \int_{\Omega} \rho \ddot{U}_i \delta U_i^* d\Omega
 \end{aligned}$$

4.2.3 Discrétisation *spatiale* du problème : éléments-finis

La formulation éléments-finis nécessite de subdiviser le domaine d'étude Ω en un grand nombre de sous-domaines élémentaires de formes géométriques simples Ω^e qui constituent les *éléments finis* interconnectés en des points appelés nœuds. L'ensemble des nœuds et des éléments est appelé maillage. La qualité du maillage peut influencer notablement la qualité de la solution approximée du problème.

En ne considérant qu'un seul élément fini Ω^e le problème d'équilibre global peut s'écrire :

$$\int_{\Omega^e} \boldsymbol{\sigma}((\boldsymbol{\varepsilon}(\underline{U}))) : \delta \boldsymbol{\varepsilon}(\underline{U}^*) d\Omega^e = \int_{\partial\Omega_T^e} \underline{T} \cdot \delta \underline{U}^* dA^e + \int_{\Omega^e} (\underline{f} - \rho \ddot{\underline{U}}) \cdot \delta \underline{U}^* d\Omega^e \quad \forall \delta \underline{U}^*$$

où $\delta \underline{U}^*$ représente un champ de déplacements virtuels cinématiquement admissible et $\delta \boldsymbol{\varepsilon}^*$ le tenseur de déformation
(4.11)

Champ de déplacements

Sur chaque élément fini, on recherche une approximation du champ de déplacements à l'intérieur de l'élément. Celle-ci est obtenue par interpolation des valeurs aux nœuds. La même approximation est adoptée pour le champ de déplacements virtuels. Les expressions des champs de déplacements réel $\{\mathbf{U}\}$ et virtuel $\{\delta \mathbf{U}^e\}$ à l'intérieur d'un élément en fonction des déplacements de ses sommets $\{\mathbf{u}^e\}$ et $\{\delta \mathbf{u}^e\}$, sont écrites de la manière suivante :

$$\{\mathbf{U}^e\} = [\mathbf{N}^e] \{\mathbf{u}^e\} \tag{4.12}$$

$$\{\delta \mathbf{U}^e\} = [\mathbf{N}^e] \{\delta \mathbf{u}^e\} \tag{4.13}$$

Avec $\{\mathbf{U}^e\} = [U_x^e, U_y^e, U_z^e]^T$ vecteur des déplacements nodaux et $[\mathbf{N}^e]$ matrice des fonctions d'interpolation.

Champ de déformations

On peut de manière similaire exprimer une relation sous forme matricielle entre le champ de déformations réels (ou virtuel) et les valeurs de déplacements aux nœuds réelles (ou virtuelles) :

$$\begin{aligned}\{\varepsilon^e\} &= [\mathbf{B}^e] \{\mathbf{u}^e\} \\ \{\delta\varepsilon^e\} &= [\mathbf{B}^e] \{\delta\mathbf{u}^e\}\end{aligned}\tag{4.14}$$

où $[\mathbf{B}^e]$ représente la matrice dérivée des fonctions d'interpolation et où l'on a écrit le tenseur des déformations sous forme vectorielle au moyen de la notation classique de Voigt :

$$\{\varepsilon^e\} = [\varepsilon_{xx} \ \varepsilon_{yy} \ \varepsilon_{zz} \ 2\varepsilon_{yz} \ 2\varepsilon_{xz} \ 2\varepsilon_{xy}]^T\tag{4.15}$$

Champ de contraintes

En utilisant une nouvelle fois la notation de Voigt, le tenseur des contraintes au sein d'un élément peut s'écrire sous forme vectorielle :

$$\{\sigma^e\} = [\sigma_{xx} \ \sigma_{yy} \ \sigma_{zz} \ \sigma_{yz} \ \sigma_{xz} \ \sigma_{xy}]^T\tag{4.16}$$

4.2.3.1 Principe des travaux virtuels discrétisés

Le principe des travaux virtuels sur un *unique élément* peut s'exprimer en notations vectorielles $\forall \{\delta\mathbf{U}^e\}$ de la manière suivante :

$$\int_{\Omega^e} \{\sigma^e\}^T \{\delta\varepsilon^e\} d\Omega = \int_{\partial\Omega_T^e} \{\delta\mathbf{U}^e\}^T \{\mathbf{T}^e\} dA^e + \int_{\Omega^e} \{\delta\mathbf{U}^e\}^T \left(\{\mathbf{f}^e\} - \rho^e \{\ddot{\mathbf{U}}^e\} \right) d\Omega^e\tag{4.17}$$

4.2.3.2 Élasticité linéaire

Pour poursuivre la résolution de notre problème discrétisé nous avons besoin de la loi de comportement reliant le tenseur des contraintes $\boldsymbol{\sigma}$ et le tenseur des déformations linéarisé $\boldsymbol{\varepsilon}$. Pour un milieu élastique linéaire isotrope, l'énergie de déformation volumique correspondant aux efforts intérieurs est une fonction quadratique des déformations et peut s'écrire :

$$W = \frac{1}{2}(\lambda \text{tr}(\boldsymbol{\varepsilon})^2 + 2\mu \text{tr}(\boldsymbol{\varepsilon}^2))\tag{4.18}$$

La loi de comportement s'écrit alors :

$$\boldsymbol{\sigma} = \frac{\partial W}{\partial \boldsymbol{\varepsilon}}\tag{4.19}$$

Cette relation peut s'écrire tensoriellement sous la forme :

$$\begin{aligned}\boldsymbol{\sigma} &= \mathbb{C} : \boldsymbol{\varepsilon} \\ \text{où } \mathbb{C} &= \lambda \mathbf{I} \otimes \mathbf{I} + 2\mu \mathbb{I} \text{ est le tenseur d'ordre quatre d'élasticité}\end{aligned}\tag{4.20}$$

ou plus classiquement sous la forme

$$\begin{aligned}\boldsymbol{\sigma} &= \lambda (\text{tr} \boldsymbol{\varepsilon}) \mathbf{I} + 2\mu \boldsymbol{\varepsilon} \\ \text{ou } \sigma_{ij} &= \lambda \epsilon_{kk} \delta_{ij} + 2\mu \epsilon_{ij}\end{aligned}\tag{4.21}$$

Cette relation peut se mettre sous matricielle. On peut écrire la relation suivante entre contraintes et déformations au sein d'un élément de la manière suivante :

$$\{\sigma^e\} = [\mathbb{C}] \{\varepsilon\} \quad (4.22)$$

avec

$$[\mathbb{C}] = \begin{bmatrix} \lambda + 2\mu & \lambda & \lambda & 0 & 0 & 0 \\ \lambda & \lambda + 2\mu & \lambda & 0 & 0 & 0 \\ \lambda & \lambda & \lambda + 2\mu & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 2\mu & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 2\mu & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 2\mu \end{bmatrix} \quad (4.23)$$

L'élasticité linéaire a été décrite en fonction des deux constantes de Lamé. On leur préfère souvent le module d'Young E et le coefficient de Poisson ν qui sont plus faciles à interpréter expérimentalement.

$$\mu = \frac{E}{2(1+\nu)} \quad , \quad \lambda = \nu \frac{E}{(1-2\nu)(1+\nu)} \quad (4.24)$$

4.2.3.3 Éléments tétraédriques

Dans l'approche par masses-tenseurs *classique*, les éléments géométriques simples retenus sont des tétraèdres avec quatre nœuds. Ces éléments sont connus pour permettre un maillage aisé d'un volume tridimensionnel complexe.

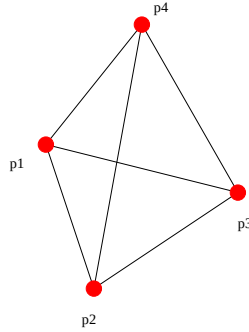


Figure 4.2 – Élément fini tétraédrique

La géométrie d'un tétraèdre τ est définie par les positions de repos de ses quatre sommets ;

$$P_i^\tau(x_i, y_i, z_i) \quad (i = 1, 2, 3, 4) \quad (4.25)$$

Les sommets de tous les tétraèdres sont numérotés dans l'ordre canonique de telle sorte que le calcul du volume d'un tétraèdre V^τ soit positif. Il est décrit par la relation suivante :

$$\begin{aligned} V^\tau &= \frac{1}{6} (\underline{P_1 P_2} \times \underline{P_1 P_3}) \cdot \underline{P_1 P_4} \\ &= \frac{1}{6} \det \begin{bmatrix} 1 & 1 & 1 & 1 \\ x_1 & x_2 & x_3 & x_4 \\ y_1 & y_2 & y_3 & y_4 \\ z_1 & z_2 & z_3 & z_4 \end{bmatrix} \end{aligned} \quad (4.26)$$

La relation entre les coordonnées locales et les coordonnées globales d'un point $M(x, y, z) \in \tau$ s'écrit sous la forme :

$$\underline{OM} = \sum_{i=1}^4 N_i^T(\zeta_1, \zeta_2, \zeta_3, \zeta_4) \underline{OP}_i^T \quad (4.27)$$

Les fonctions de formes sont simplement les coordonnées tétraédriques :

$$N_i^T = \zeta_i \quad (i = 1, 2, 3, 4) \quad (4.28)$$

Déplacements

Cet élément, à interpolation linéaire, est un élément isoparamétrique c'est à dire que les fonctions d'interpolation sont identiques aux fonctions de forme. On écrira donc le champ de déplacements dans l'élément de la manière suivante :

$$\{\mathbf{U}^T\} = [\mathbf{N}^T] \{\mathbf{u}^T\} \quad (4.29)$$

avec

$$\{\mathbf{u}^T\} = [u_{x_1}, u_{y_1}, u_{z_1}, u_{x_2}, u_{y_2}, u_{z_2}, u_{x_3}, u_{y_3}, u_{z_3}, u_{x_4}, u_{y_4}, u_{z_4}]^T \quad (4.30)$$

et

$$[\mathbf{N}^T] = \begin{bmatrix} N_1 & 0 & 0 & \dots & N_4 & 0 & 0 \\ 0 & N_1 & 0 & \dots & 0 & N_4 & 0 \\ 0 & 0 & N_1 & \dots & 0 & 0 & N_4 \end{bmatrix} \quad (4.31)$$

La relation entre les coordonnées cartésiennes du tétraèdre est ;

$$\begin{bmatrix} 1 \\ x \\ y \\ z \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} 1 & 1 & 1 & 1 \\ x_1 & x_2 & x_3 & x_4 \\ y_1 & y_2 & y_3 & y_4 \\ z_1 & z_2 & z_3 & z_4 \end{bmatrix} \begin{bmatrix} \zeta_1 \\ \zeta_2 \\ \zeta_3 \\ \zeta_4 \end{bmatrix} \quad (4.32)$$

On peut aussi l'écrire sous la forme :

$$\begin{bmatrix} N_1 \\ N_2 \\ N_3 \\ N_4 \end{bmatrix} = \frac{1}{6 V^T} \begin{bmatrix} 6 V_1 & m_{1x} & m_{1y} & m_{1z} \\ 6 V_2 & m_{2x} & m_{2y} & m_{2z} \\ 6 V_3 & m_{3x} & m_{3y} & m_{3z} \\ 6 V_4 & m_{4x} & m_{4y} & m_{4z} \end{bmatrix} \begin{bmatrix} 1 \\ x \\ y \\ z \end{bmatrix} \quad (4.33)$$

avec

$$\begin{aligned} \underline{m_1} &= \underline{P_2 P_4} \times \underline{P_2 P_3} & ; & & V_1 &= \underline{m_1} \cdot \underline{P_2 O} \\ \underline{m_2} &= \underline{P_1 P_3} \times \underline{P_1 P_4} & ; & & V_2 &= \underline{m_2} \cdot \underline{P_3 O} \\ \underline{m_3} &= \underline{P_1 P_4} \times \underline{P_1 P_2} & ; & & V_3 &= \underline{m_3} \cdot \underline{P_4 O} \\ \underline{m_4} &= \underline{P_1 P_2} \times \underline{P_1 P_3} & ; & & V_4 &= \underline{m_4} \cdot \underline{P_1 O} \end{aligned} \quad (4.34)$$

On obtiendra de manière analogue pour le champ des vitesses :

$$\{\ddot{\mathbf{U}}^T\} = [\mathbf{N}^T] \{\ddot{\mathbf{u}}^T\} \quad (4.35)$$

Déformations

Le calcul des déformations fait intervenir les dérivées partielles des fonctions d'interpolations :

$$\frac{\partial N_i}{\partial x} = \frac{m_{i_x}}{6 V^\tau} \quad ; \quad \frac{\partial N_i}{\partial y} = \frac{m_{i_y}}{6 V^\tau} \quad ; \quad \frac{\partial N_i}{\partial z} = \frac{m_{i_z}}{6 V^\tau} \quad (4.36)$$

Les déformations réelles (et virtuelles) dans le tétraèdre peuvent s'exprimer en fonction des déplacements réels (et virtuels) des sommets :

$$\{\varepsilon^\tau\} = [\mathbf{B}^\tau] \{\mathbf{u}^\tau\} \quad \text{et} \quad \{\delta\varepsilon^\tau\} = [\mathbf{B}^\tau] \{\delta\mathbf{u}^\tau\} \quad (4.37)$$

avec

$$[\mathbf{B}^\tau] = \frac{1}{6 V^\tau} \begin{bmatrix} m_{1_x} & 0 & 0 & \dots & m_{4_x} & 0 & 0 \\ 0 & m_{1_y} & 0 & \dots & 0 & m_{4_y} & 0 \\ 0 & 0 & m_{1_z} & \dots & 0 & 0 & m_{4_z} \\ 0 & m_{1_z} & m_{1_y} & \dots & 0 & m_{4_z} & m_{4_y} \\ m_{1_z} & 0 & m_{1_x} & \dots & m_{4_z} & 0 & m_{4_x} \\ m_{1_y} & m_{1_x} & 0 & \dots & m_{4_y} & m_{4_x} & 0 \end{bmatrix} \quad (4.38)$$

Contraintes

Compte-tenu de la loi de comportement (équation 4.22), les contraintes dans le tétraèdre peuvent également s'exprimer en fonction des déplacements des sommets :

$$\{\sigma^\tau\} = [\mathbb{C}] [\mathbf{B}^\tau] \{\mathbf{u}^\tau\} \quad (4.39)$$

4.2.3.4 Principe des travaux virtuels discrétisé sur un tétraèdre

Compte-tenu de la loi de comportement et du type d'interpolation retenu, le principe des travaux virtuels sur un élément (équation 4.17) peut se récrire : $\forall \{\delta\mathbf{u}^\tau\}$

$$\begin{aligned} \underbrace{\{\delta\mathbf{u}^\tau\}^T \int_{\Omega^\tau} [\mathbf{B}^{\mathbf{L}_\tau}]^T [\mathbb{C}] [\mathbf{B}^\tau] d\Omega^\tau \{\mathbf{u}^\tau\}}_{[\mathbf{K}_e^\tau] = V^\tau [\mathbf{B}^\tau]^T [\mathbb{C}] [\mathbf{B}^\tau]} &= \underbrace{\{\delta\mathbf{u}^\tau\}^T \int_{\partial\Omega_T^\tau} [\mathbf{N}^\tau]^T \{\mathbf{T}^\tau\} dA^\tau}_{\{\mathbf{T}^\tau\}} \\ &+ \underbrace{\{\delta\mathbf{u}^\tau\}^T \int_{\Omega^\tau} [\mathbf{N}^\tau]^T \{\mathbf{f}\} d\Omega^\tau}_{\{\mathbf{f}^\tau\}} \\ &- \underbrace{\{\delta\mathbf{u}^\tau\}^T \int_{\Omega^\tau} \rho [\mathbf{N}^\tau]^T [\mathbf{N}^\tau] d\Omega^\tau \{\ddot{\mathbf{u}}^\tau\}}_{[\mathbf{M}_e^\tau]} \end{aligned} \quad (4.40)$$

Où l'on a fait apparaître la matrice de rigidité d'un élément tétraédrique à comportement élastique $[\mathbf{K}_e^\tau]$ et sa matrice de masse cohérente $[\mathbf{M}_e^\tau]$.

En imposant des déplacements virtuels unitaires à chacune des composantes du champ de déplacement virtuel, on obtient l'équation de mouvement d'un élément :

$$\boxed{\begin{aligned} \left[\mathbf{M}^\tau \right] \left\{ \ddot{\mathbf{u}}^\tau \right\} + \left[\mathbf{K}_e^\tau \right] \left\{ \mathbf{u}^\tau \right\} &= \underbrace{\left\{ \mathbf{T}^\tau \right\} + \left\{ \mathbf{f}^\tau \right\}}_{\left\{ \mathbf{F}^\tau \right\}} \\ \text{ou } M_{ij}^\tau \ddot{u}_j^\tau + K_{ij}^\tau u_j^\tau &= F_i^\tau \end{aligned}} \quad (4.41)$$

4.2.4 Particularités de la résolution en approche masses-tenseurs

L'étape suivante dans une approche classique de la méthode des éléments finis consisterait à exprimer les équations du mouvement sur la structure complète. Le principe des travaux virtuels serait récrit sur l'ensemble de la structure comme une somme d'intégrations sur tous les volumes et sur toutes les surfaces de tous les tétraèdres.

Ce n'est pas la démarche retenue dans l'approche masses-tenseurs destinée au temps-réel où on ne souhaite pas avoir à inverser de grosses matrices ou à résoudre de gros systèmes linéaires. On s'intéresse directement à la *réponse d'un nœud* (i.e. un sommet). On introduit les notations suivantes :

- pour repérer le vecteur déplacement de chaque nœud i :

$$\left\{ \mathbf{u}_i^\tau \right\} = [u_{ix}, u_{iy}, u_{iz}]^T \quad i \in [1, 2, 3, 4] \quad (4.42)$$

- pour repérer au sein de la matrice de rigidité ce qui relie les nœuds les uns aux autres, on introduit des sous-matrices :

$$\left[\mathbf{K}_e^\tau \right] = \begin{bmatrix} \left[\mathbf{K}_{11}^\tau \right] & \left[\mathbf{K}_{12}^\tau \right] & \left[\mathbf{K}_{13}^\tau \right] & \left[\mathbf{K}_{14}^\tau \right] \\ \left[\mathbf{K}_{12}^\tau \right] & \left[\mathbf{K}_{22}^\tau \right] & \left[\mathbf{K}_{23}^\tau \right] & \left[\mathbf{K}_{24}^\tau \right] \\ \left[\mathbf{K}_{13}^\tau \right] & \left[\mathbf{K}_{23}^\tau \right] & \left[\mathbf{K}_{33}^\tau \right] & \left[\mathbf{K}_{34}^\tau \right] \\ \left[\mathbf{K}_{14}^\tau \right] & \left[\mathbf{K}_{24}^\tau \right] & \left[\mathbf{K}_{34}^\tau \right] & \left[\mathbf{K}_{44}^\tau \right] \end{bmatrix} \quad (4.43)$$

Ces sous-matrices de rigidité peuvent également se récrire sous forme compacte en :

$$\left[\mathbf{K}_{ij}^\tau \right] = \frac{1}{36 V^\tau} \left(\lambda \left\{ \mathbf{m}_i \right\} \left\{ \mathbf{m}_j \right\}^T + \mu \left\{ \mathbf{m}_j \right\} \left\{ \mathbf{m}_i \right\}^T + \mu \left\{ \mathbf{m}_i \right\}^T \left\{ \mathbf{m}_j \right\} \left[\mathbf{I} \right] \right) \quad (4.44)$$

4.2.4.1 Efforts intérieurs

Si l'on tient compte de l'ensemble des tétraèdres présents dans le maillage un nœud sera soumis :

- à d'éventuels efforts extérieurs, s'il est sur une frontière du maillage global ;
- aux efforts intérieurs exercés par les éléments auxquels il appartient.

Compte-tenu des notations introduites, les efforts intérieurs exercés sur un nœud k pourront s'écrire comme la somme des efforts exercés par les nœuds de l'ensemble des tétraèdres contenant

le nœud k et noté $\mathcal{V}_k$ (on suppose qu'au sein du tétraèdre l le nœud numéroté globalement k prend localement le numéro i) :

$$\{\mathbf{F}_{\text{int}}^k\} = \sum_{l \in \mathcal{V}_k} \left(\sum_{j=1}^4 [\mathbf{K}_{ij}^l] \{\mathbf{u}_j\} \right) \quad (4.45)$$

Comme cela a été déjà évoqué, l'une des motivations qui nous a poussé à sélectionner le modèle masses-tenseurs est que les matrices $[\mathbf{K}_{ij}^l]$ peuvent être pré-calculées et ne dépendent que des paramètres physiques et géométriques du maillage au repos.

4.2.4.2 Forces d'inertie

La matrice de masse issue de la construction par le principe des travaux virtuels et les fonctions d'interpolation n'est pas diagonale. Cela ne pose pas de problèmes lorsqu'on utilise un schéma de résolution temporel implicite puisqu'une inversion est, de toutes façons, nécessaire. Cela ferait par contre perdre tout intérêt à un schéma explicite. On lui préfère donc une matrice des masses concentrées qui va nous permettre d'obtenir une accélération à un sommet indépendante de l'accélération des autres sommets du tétraèdre [57].

$$[\mathbf{M}_c^\tau] = \rho \frac{V^\tau}{4} [\mathbf{I}] \quad (4.46)$$

Si l'on tient compte de l'ensemble des tétraèdres présents dans le maillage auquel il appartient, un nœud sera soumis à une force d'inertie due à une masse équivalente :

$$M^k = \frac{\rho}{4} \sum_{l \in \mathcal{V}_k} V^k \quad (4.47)$$

4.2.4.3 Équation de mouvement d'un sommet

Les équations de mouvement écrites par élément (équation 4.48) peuvent donc se récrire par sommet :

$$\boxed{M^k \{\ddot{\mathbf{u}}_k\} + \sum_{l \in \mathcal{V}_k} \left(\sum_{j=1}^4 [\mathbf{K}_{ij}^l] \{\mathbf{u}_j\} \right) = \{\mathbf{F}_{\text{ext}}^k\}} \quad (4.48)$$

Nous sommes parvenus par la discrétisation spatiale au moyen de la méthode des éléments-finis masses-tenseurs à un ensemble d'équations différentielles en temps du second ordre ordinaires avec pour conditions initiales (par exemple) :

$$\{\mathbf{u}_j(\mathbf{t} = \mathbf{0})\} = \{\mathbf{u}_j^0\} \quad \text{et} \quad \{\dot{\mathbf{u}}_k(t = 0)\} = \{\dot{\mathbf{u}}_k^0\} \quad (4.49)$$

Il est possible d'ajouter, dans l'équation (4.48) des forces d'amortissement dépendantes de la vitesse [57]. Cet amortissement est souvent pris en compte pour représenter l'énergie dissipée par les vibrations de la structure. Il est souvent choisi proportionnel à une combinaison linéaire de la masse et de la rigidité - amortissement dit de Rayleigh. Dans le cas d'une approche type masses-tenseurs, afin de ne pas perdre l'intérêt d'une approche explicite, il convient de le prendre proportionnel à la masse du sommet considéré. L'équation de mouvement avec amortissement structurel peut ainsi se récrire :

$$\boxed{M^k \{\ddot{\mathbf{u}}_k\} + C^k \{\dot{\mathbf{u}}_k\} + \sum_{l \in \mathcal{V}_k} \left(\sum_{j=1}^4 [\mathbf{K}_{ij}^l] \{\mathbf{u}_j\} \right) = \{\mathbf{F}_{\text{ext}}^k\}} \quad (4.50)$$

Il nous reste à aborder la discrétisation temporelle de ces équations de mouvement pour parvenir à un système discret d'équations linéaires.

4.2.5 Discrétisation *temporelle* du problème : intégration dynamique

L'intégration temporelle est l'un des points clefs des simulations dynamiques en particulier lorsque l'on a recours à une méthode d'intégration explicite. Afin d'obtenir la réponse dynamique, dans la plupart des simulateurs la méthode d'intégration numérique est appelée dans une boucle de simulation (Algorithme 1).

En premier lieu, on calcule les forces appliquées sur les objets. Ensuite, à l'aide des forces calculées, on réalise une intégration qui nous permet de calculer de nouvelles positions. Si nécessaire on peut appliquer des contraintes issues par exemple d'une détection de collision. En dernier lieu, on peut procéder à l'affichage visuel et la synchronisation.

On rencontre dans la littérature, de nombreux schémas d'intégration. Notre choix se fera en fonction de notre principal objectif qui est la recherche d'une approche efficace pour la modélisation des déformations d'objets dans un environnement en temps réel, prenant en compte le compromis entre le réalisme, la précision et la rapidité des calculs en garantissant le retour visuel et haptique en temps réel.

```
initialisation;
Void Simulation ();
while (True) do
    CalculerForces();
    IntegrationDynamique();
    AppliquerContrainte();
    visualisation ();
    Synchronisationtemps();
end
```

Algorithm 1: Fonctionnement général d'une simulation dynamique

D'une manière générale, un schéma d'intégration est l'algorithme qui permet de calculer l'état à l'instant suivant t_{n+1} à partir de l'instant courant t_n et éventuellement d'états antérieurs en effectuant une intégration temporelle, comme exprimé par la formule :

$$u(t+h) = u(t) + \int_t^{t+h} \dot{u}(x, \tau) d\tau \quad (4.51)$$

où $u(t) = u_n$ et $u(t+h) = u_{n+1}$ représentent les déplacements d'une particule au temps t et $t+h$ qui nous permettent d'actualiser sa position et $h = \Delta t = t_{n+1} - t_n$ est le pas de temps.

Il existe plusieurs schémas d'intégration, qui se distinguent par leurs propriétés de précision, de convergence, de stabilité et leur coût en terme d'espace mémoire requis et de temps de calcul. Tous sont approximatifs car on ne sait pas calculer analytiquement l'intégrale dans le cas général. La convergence signifie que plus le pas de temps h se rapproche de 0, plus la solution analytique se rapproche de la solution réelle recherchée. Toutes les méthodes demandent d'adapter le pas de temps d'intégration à la valeur des accélérations. Si le pas de temps est trop petit, on perdra du temps de calcul alors que s'il est trop grand le système divergera ou l'on manquera des phénomènes se produisant à l'intérieur d'un pas de temps.

Le principe de calcul est d'estimer les dérivées partielles par des quotients sur un petit intervalle en supposant que la fonction étudiée est suffisamment régulière. On utilise ainsi des développements de Taylor en avant ou en arrière :

$$\begin{aligned} u(t + \Delta t) &= u(t) + \Delta t \frac{\partial u}{\partial t} + \frac{\Delta t^2}{2} \frac{\partial^2 u}{\partial t^2} + \frac{\Delta t^3}{6} \frac{\partial^3 u}{\partial t^3} + O(\Delta t^4) \\ \text{ou } u_{n+1} &= u_n + \Delta t \dot{u}_n + \frac{\Delta t^2}{2} \ddot{u}_n + \frac{\Delta t^3}{6} \ddot{\dot{u}}_n + O(\Delta t^4) \end{aligned} \quad (4.52)$$

$$\begin{aligned} u(t - \Delta t) &= u(t) - \Delta t \frac{\partial u}{\partial t} + \frac{\Delta t^2}{2} \frac{\partial^2 u}{\partial t^2} - \frac{\Delta t^3}{6} \frac{\partial^3 u}{\partial t^3} + O(\Delta t^4) \\ \text{ou } u_{n-1} &= u_n - \Delta t \dot{u}_n + \frac{\Delta t^2}{2} \ddot{u}_n - \frac{\Delta t^3}{6} \ddot{\dot{u}}_n + O(\Delta t^4) \end{aligned} \quad (4.53)$$

On peut distinguer deux grandes classes de méthodes :

- *Méthodes explicites* : où les dérivées premières et secondes déduites de l'état courant sont utilisées pour calculer la valeur suivante du champ inconnu. La stabilité de la solution demande généralement des pas de temps très petits.
- *Méthodes implicites* : l'idée fondamentale des méthodes implicites consiste à ne plus trouver la nouvelle position en fonction des forces connues à un instant t , mais plutôt à chercher la position où les forces à l'instant $t + h$. Ces méthodes sont plus stables mais plus gourmandes en temps de calcul.

Les méthodes explicites sont soumises à un compromis délicat. En général, pour un pas de temps fixé, plus la discrétisation spatiale sera fine, donc le résultat attendu plus précis, moins la réponse sera stable. Elles vont ainsi généralement diverger lorsque le pas de temps utilisé pour l'intégration est trop grand ; les pas de temps doivent en effet être inversement proportionnels à la racine carrée du matériau simulé (condition de Courant-Friedrichs-Lewy dite CFL). Toutefois, dans le cadre de simulations en temps réel, on doit également réaliser des calculs à une fréquence répondant aux contraintes imposées. Il sera donc nécessaire de réduire autant que possible le pas d'itération, ce qui est favorable aux méthodes explicites.

Différents algorithmes d'intégration explicites ont été mis en œuvre afin de choisir le schéma le plus adapté à nos simulations. Entre trois schémas à un pas explicites testés : Euler, différences finies centrées et Runge-Kutta 4, le schéma des différences finies centrées a été retenu pour son compromis : précision, coût de calcul. Il est présenté ci-dessous comme un cas particulier du schéma de Newmark généralisé qui a l'avantage de permettre une présentation commune de nombreux schémas implicites utilisés dans les codes d'éléments-finis dynamiques (Fox & Goodwin, accélération linéaire, accélération moyenne) et comprend le schéma des différences centrées comme un cas particulier [57].

4.2.5.1 Schéma de Newmark généralisé

L'utilisation des formules de Taylor appliquées au champ de déplacement et au champ de vitesses permet de parvenir aux relations suivantes :

$$\left\{ \begin{array}{l} u_{n+1} = u_n + \dot{u}_n \Delta t + \left(\frac{1}{2} - \beta\right) \ddot{u}_n \Delta t^2 + \beta \ddot{u}_{n+1} \Delta t^2 + \begin{cases} O(\Delta t^3) & \text{if } \beta \neq \frac{1}{6} \\ O(\Delta t^4) & \text{if } \beta = \frac{1}{6} \end{cases} \\ \dot{u}_{n+1} = \dot{u}_n + (1 - \gamma) \ddot{u}_n \Delta t + \gamma \ddot{u}_{n+1} \Delta t + \begin{cases} O(\Delta t^2) & \text{if } \gamma \neq \frac{1}{2} \\ O(\Delta t^3) & \text{if } \gamma = \frac{1}{2} \end{cases} \end{array} \right. \quad (4.54)$$

Cas particuliers :

- Fox & Goodwin : $\beta = \frac{1}{12}$ et $\gamma = \frac{1}{2}$, le schéma implicite est conditionnellement stable ;
- accélération linéaire : $\beta = \frac{1}{6}$ et $\gamma = \frac{1}{2}$, le schéma implicite est conditionnellement stable ;
- accélération moyenne : $\beta = \frac{1}{4}$ et $\gamma = \frac{1}{2}$, le schéma implicite est inconditionnellement stable ;
- différences centrées : $\beta = 0$ et $\gamma = \frac{1}{2}$, le schéma explicite est conditionnellement stable.

Dans le cas des différences finies centrées, le système se réduit à :

$$\boxed{\begin{cases} u_{n+1} = u_n + \dot{u}_n \Delta t + \frac{1}{2} \ddot{u}_n \Delta t^2 + O(\Delta t^3) \\ \dot{u}_{n+1} = \dot{u}_n + \frac{1}{2} \ddot{u}_n \Delta t + \frac{1}{2} \ddot{u}_{n+1} \Delta t + O(\Delta t^3) \end{cases}} \quad (4.55)$$

4.2.5.2 Stabilité numérique par critère de Courant-Friedrichs-Lewy

Afin d'assurer la stabilité temporelle d'un processus d'intégration numérique explicite, on doit respecter le critère de Courant-Friedrichs-Lewy reliant discrétisation spatiale. Ce critère basé sur l'idée qu'une onde élastique se propageant dans le matériau ne doit pas parcourir plus d'une maille en un pas de temps. Si on note la longueur minimale d'une arête d_{min} , le critère peut s'écrire sous la forme :

$$\Delta t \leq d_{min} \sqrt{\frac{\rho_0}{\lambda + 2\mu}} \quad (4.56)$$

où ρ_0 est la densité du matériau et d_{min} la plus petite distance entre deux connections. On observe ainsi que plus le matériau est raide, plus le pas de temps doit être petit.

4.2.6 Synthèse : équation de mouvement discrétisée en temps et en espace

L'équation de mouvement discrète peut s'écrire pour tout nœud (sommet) du maillage k au pas de temps $n + 1$ avec le schéma des différences finies centrées explicites comme :

$$\boxed{\left(M^k + \frac{\Delta t}{2} C^k\right) \left\{\ddot{\mathbf{u}}_k\right\}_{n+1} = \left\{\mathbf{F}_{\text{ext}}^k\right\}_{n+1} - C^k \left(\left\{\dot{\mathbf{u}}_k\right\}_n + \frac{\Delta t}{2} \left\{\ddot{\mathbf{u}}_k\right\}_n \right) - \sum_{l \in \mathcal{V}_k} \left(\sum_{j=1}^4 \left[\mathbf{K}_{ij}^l \right] \left(\left\{\mathbf{u}_j\right\}_n + \Delta t \left\{\dot{\mathbf{u}}_j\right\}_n + \frac{\Delta t^2}{2} \left\{\ddot{\mathbf{u}}_j\right\}_n \right) \right)} \quad (4.57)$$

Cette équation permet de déterminer la nouvelle accélération en chaque nœud puis les nouvelles vitesses et positions sont déduites du système (4.55).

4.3 Modélisation d'une cellule biologique

Cette section est dédiée à la présentation des deux types de modélisations retenues pour représenter le comportement d'une cellule biologique :

- La première approche considère la cellule comme une structure dans laquelle le cytosquelette a un rôle très prédominant. En conséquence, seule *l'ossature cytosquelettique* de la cellule est modélisée au moyen d'une structure de tensegrité.
- La deuxième approche considère la cellule *globalement* comme un solide incompressible dont le comportement est viscoélastique.

La figure 4.3 illustre l'architecture d'un ovocyte et ses différents composants.

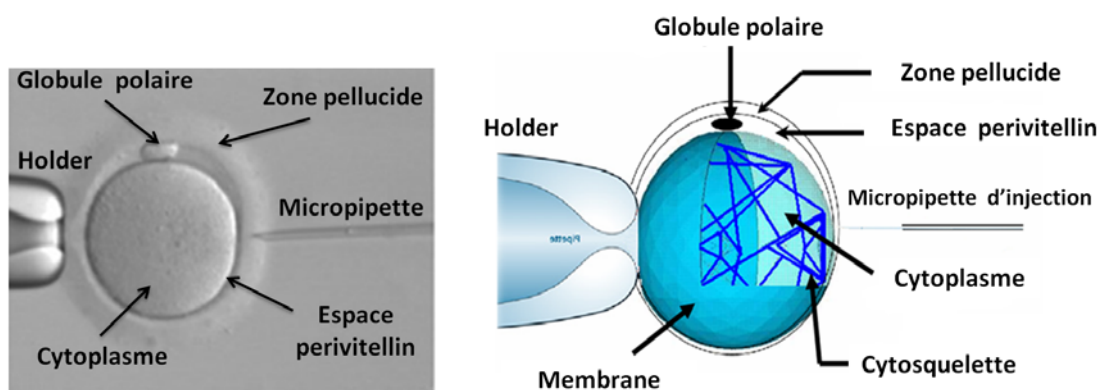


Figure 4.3 – Structure globale d'un ovocyte mature.

4.3.1 Modélisation 3D d'une cellule biologique vue comme une structure cytosquelettique

4.3.1.1 Modélisation 3D du cytosquelette

Nous avons présenté dans le chapitre 2, un ensemble de modèles mécaniques utilisés pour l'étude des déformations biomécaniques d'une cellule biologique. Nous avons apporté une attention particulière aux modèles structuraux en particulier ceux utilisant des structures de tensegrités en raison des nombreuses analogies entre structure tensegrité et structure cytosquelettique.

Le choix d'une représentation géométrique optimale est de première importance pour simuler les déformations du cytosquelette. La figure 4.4 illustre plusieurs structures de type tensegrité qui peuvent être retenues pour décrire la géométrie globale de la cellule et/ou modéliser seulement le cytosquelette de la cellule. Parmi toutes les géométries présentées, le système de tensegrité qui a été le plus étudié et le plus utilisé pour la représentation du cytosquelette est celui composé de 6 barres et 24 câbles. Une nouvelle extension de ce modèle a été développée par Sultan et al., qui prend en considération les filaments intermédiaires connectés au centre de la structure [169]. C'est cette structure de tensegrité, constituée de 6 barres comprimées par 30 câbles pré-tendus, qui a été retenue et sur laquelle porteront nos simulations de déformation du cytosquelette.

Afin de mieux comprendre l'analogie entre la structure de tensegrité retenue et le cytosquelette cellulaire, la figure 4.5 illustre les liens entre éléments de la structure 3D tensegrité et les

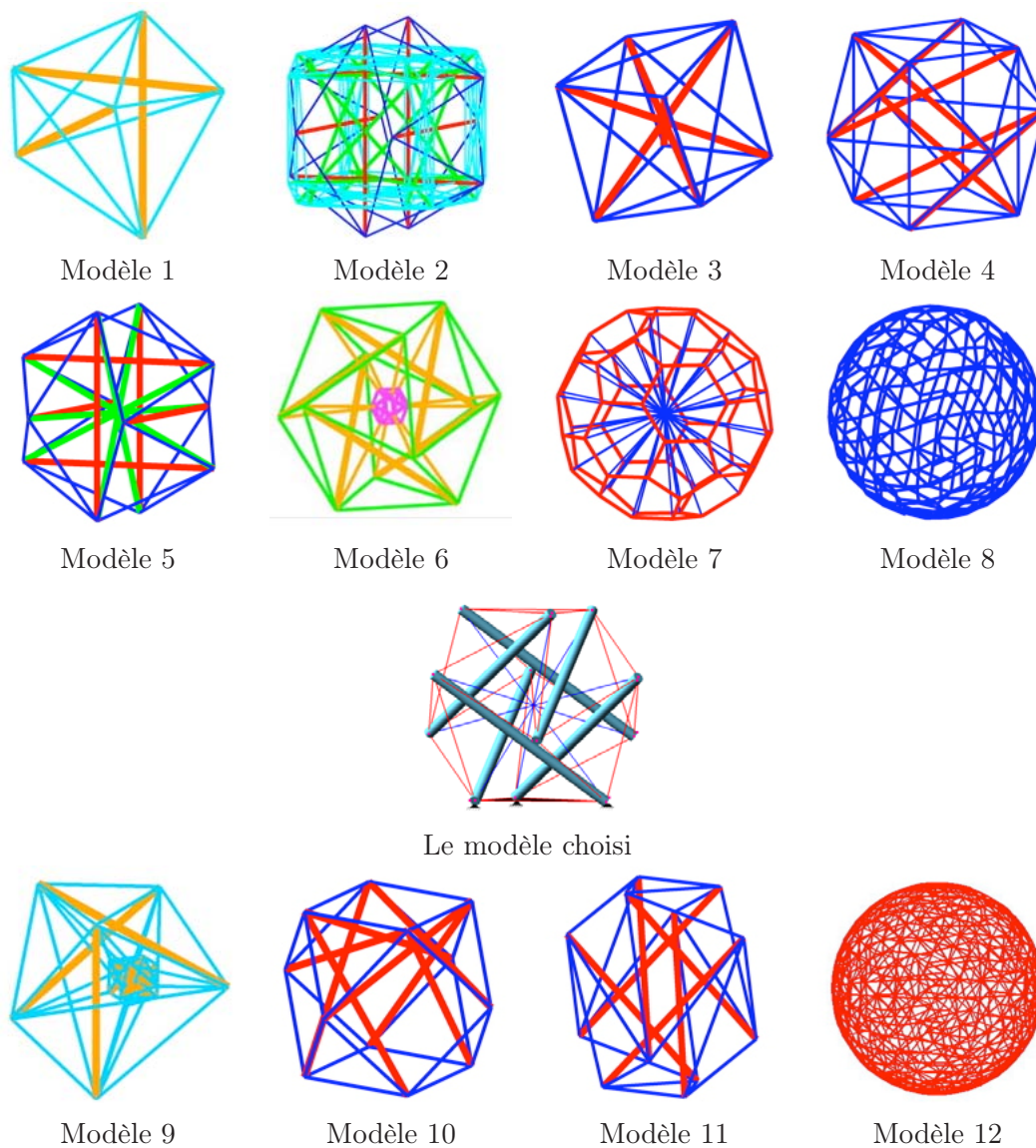


Figure 4.4 – Structures de tensegrités

différents filaments présents qui composent le cytosquelette réel : les microfilaments, les microtubules ainsi que les filaments intermédiaires. Ces filaments sont définis à une échelle nanométrique alors que celle du cytosquelette et la structure tensegrité équivalente sont définis à une échelle micrométrique.

4.3.1.2 Description de la structure de tensegrité choisie

La structure de tensegrité correspond à une structure spatiale 3D réticulée, elle est constituée de 6 éléments appelés *barres*, non jointifs et comprimés par un réseau continu de 30 éléments appelés *câbles*, pré-tendus qui ne supportent pas d'effort de compression.

Vis à vis du cytosquelette réel :

- les 6 *barres* sont des éléments très rigides qui représentent le comportement des micro-

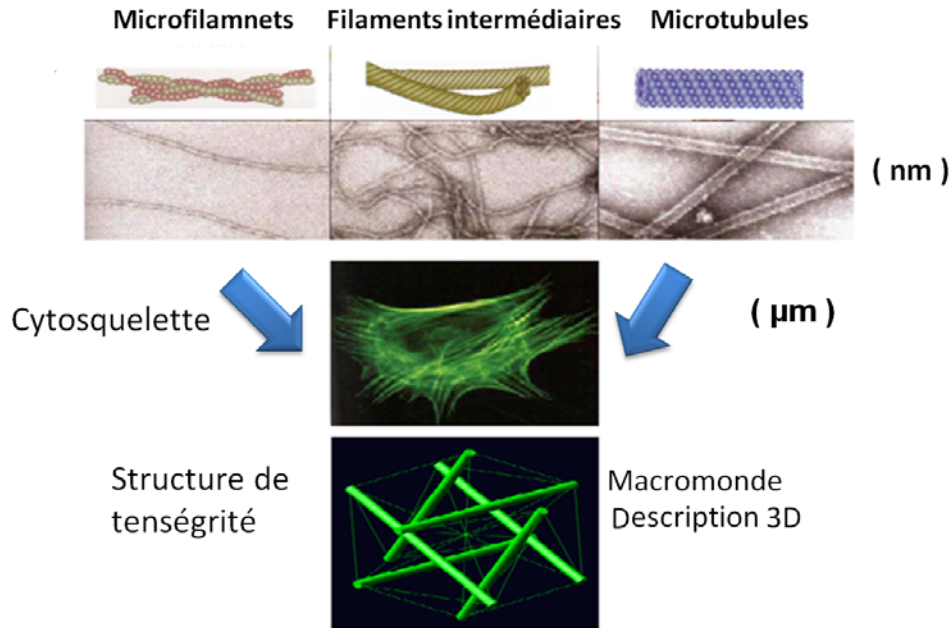


Figure 4.5 – Méthodologie de modélisation de la structure de tensegrité à partir des filaments nanométriques .

tubules ;

- les 24 *câbles* sont situés à la surface de la structure de tensegrité (couleur rouge), représentent le comportement des microfilaments d'actines ;
- les 6 *câbles* connectent le centre de la structure et les extrémités des barres (couleurs bleus) et représentent le comportement des filaments intermédiaires.

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* dont le comportement est caractérisé par son module d'élasticité, monté en parallèle avec un élément *amortisseur* associé à un module de viscosité (voir la figure 4.8). La modélisation des câbles peut donc s'apparenter à une modélisation de type masse-ressort-viscosité (MMRV) qui sera détaillée dans la prochaine section.

Les éléments *barres* ont été considérés comme des éléments à comportement purement élastiques (pas de composante visqueuse) et quasi-rigides reprenant les efforts de compression dus à la pré-tension des câbles. Pour modéliser ces *barres*, nous avons adopté une représentation en 3D et nous avons donc fait appel à l'approche éléments finis de type "masses-tenseurs" décrite précédemment.

La structure complète étudiée est donc une structure viscoélastique 3D, constituée de 36 éléments (voir la figure 4.6), modélisée par un modèle hybride, qui sera la combinaison entre la méthode élément finis (MEF) de type masses-tenseurs et la méthode masse-ressort-viscosité (MMRV).

4.3.1.3 Discrétisation de la structure de tensegrité

Nous rappelons que les barres de la structure de tensegrité sont modélisées par la méthode des éléments finis 3D. Le maillage volumique d'une barre repose sur des éléments tétraédriques à

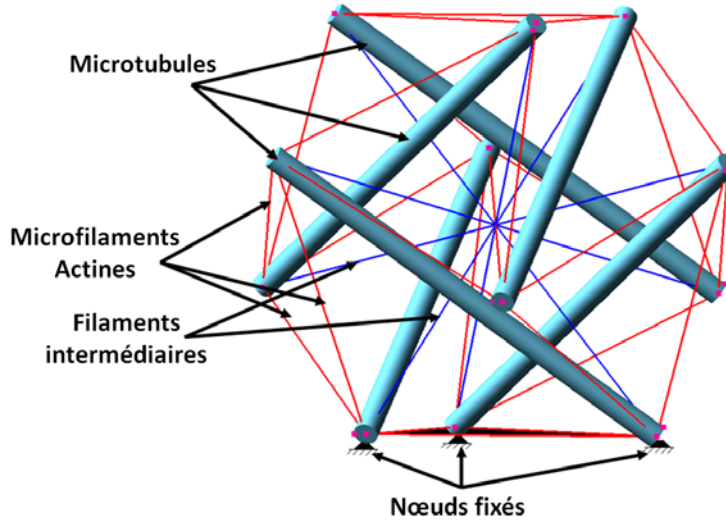


Figure 4.6 – Structure de tensegrité 3D constituée de 36 éléments : 6 barres 3D pour les microtubules, 24 câbles rouges 1D pour les microfilaments actines et 6 câbles bleus 1D pour les filaments intermédiaires.

4 nœuds (voir la figure .4.7). A l'issue de cette phase de cette discrétisation, un fichier de données est créé où sont stockés tous les éléments géométriques volumiques, surfaciques et linéiques ainsi que les coordonnées de chaque nœud. Ce fichier de données géométriques est utilisé dans la phase de pré-calcul dans le calcul des matrices de rigidité élémentaires.

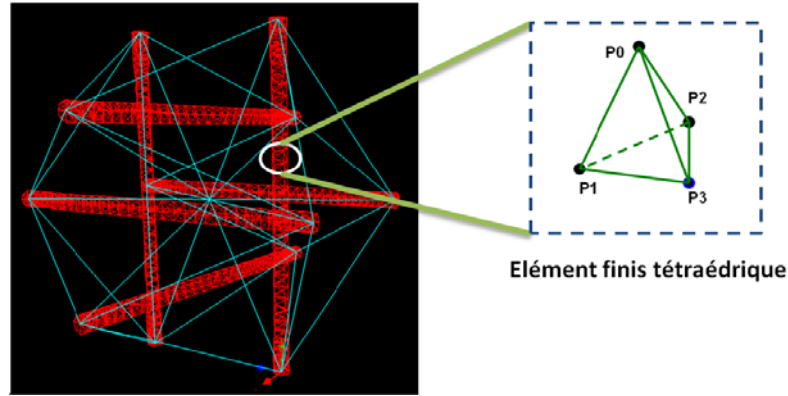


Figure 4.7 – Maillage tétraédrique 3D de la structure de tensegrité .

Comme nous l'avons vu lors de la présentation de la méthode, l'approche par masses-tenseurs permet d'exprimer la force résultante des efforts intérieurs appliquée à chaque nœud en se basant sur la connectivité de ce nœud avec ses nœuds voisins. La formulation retenue d'un point de vue informatique est équivalente mais diffère légèrement de celle de l'équation (4.45) :

$$F_i^{barres} = K_{ii} u_i + \sum_{j \in \mathcal{V}_i} K_{ij} u_j \quad (4.58)$$

Où $\mathcal{V}_i$ désigne l'ensemble des nœuds adjacents au nœud i . K_{ii} désigne la somme des tenseurs K_{ii}^T associés aux tétraèdres auxquels appartient le nœud i ($K_{ii} = \sum_{\tau} K_{ii}^T$ efforts exercés par le déplacement du seul nœud i) et K_{ij} désigne la somme des tenseurs K_{ij}^T associés aux tétraèdres

adjacents à l'arête (i, j) de la structure de tensegrité ($K_{ii} = \sum_{\tau} K_{ij}^{\tau}$ efforts associés au déplacement relatif du nœud i par rapport au nœud j).

Afin d'exprimer la force globale appliquée à chaque nœud de la structure, il convient de prendre en compte les efforts potentiels exercés par les câbles aux extrémités des barres.

4.3.1.4 Comportement viscoélastique des câbles en utilisant le modèle masse-ressort-viscosité (MMRV)

Dans cette section, nous présentons le comportement viscoélastique des câbles présents dans la structure de tensegrité. Ces câbles sont modélisés par le modèle de Kelvin-Voigt (fig.4.8), ce modèle est bien adapté à la description de solides viscoélastiques et il est couramment utilisé pour représenter le comportement des matériaux biologiques.

Chaque câble est modélisé par deux masses connectées par un ressort élastique et un amortisseur en parallèle (fig.4.8).

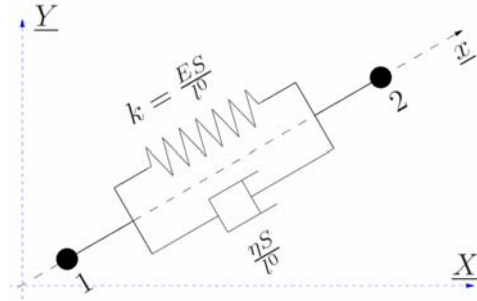


Figure 4.8 – Modèle de Kelvin-Voigt : ressort et amortisseur en parallèle.

Considérons le cas d'un amortissement linéaire, la contrainte générée par la déformation du câble vaut :

$$\sigma = E \varepsilon + \eta \dot{\varepsilon} \quad (4.59)$$

avec S diamètre du câble, l^0 sa longueur au repos, E le module d'Young et η le coefficient de viscosité.

On aura sous l'hypothèse des petites perturbations : $\sigma = \frac{F}{S}$ et $\varepsilon = \frac{l - l^0}{l^0}$.

le vecteur de force F agissant sur le nœud extrémité i :

$$\underline{F}_{local}^{câble} = \left(\frac{E S (l - l^0)}{l^0} + \frac{\eta \dot{l}}{l^0} \right) \underline{x} \quad (4.60)$$

En introduisant P_i et P_j , les nœuds auxquels est accroché le câble et en introduisant les notations : $l_{ij}^0 = l^0$; $p_{ij} = \underline{P_i P_j}$; $v_{ij} = \underline{\dot{P_i P_j}}$ et $|p_{ij}| = ||\underline{P_i P_j}||$, cette force peut se réexprimer en repère global par :

$$\underline{F}_i = \left(E S \left(\frac{|p_{ij}|}{l_{ij}^0} - 1 \right) + \eta S \left(\frac{v_{ij} \cdot p_{ij}}{l_{ij}^0 |p_{ij}|} \right) \right) \frac{p_{ij}}{|p_{ij}|} \quad (4.61)$$

Si plusieurs câbles sont concourants au nœud i , on somme les contributions :

$$\underline{F}_i^{câbles} = \sum_j \left\{ \left(E S \left(\frac{|p_{ij}|}{l_{ij}^0} - 1 \right) + \eta S \left(\frac{v_{ij} \cdot p_{ij}}{l_{ij}^0 |p_{ij}|} \right) \right) \frac{p_{ij}}{|p_{ij}|} \right\} \quad (4.62)$$

La formulation précédente est incomplète puisque les câbles sont pré-tendus et ne peuvent pas supporter d'effort de compression. On introduit une fonction de Heaviside⁴ H pour distinguer si le câble est tendu ou relâché :

$$H(x) = \begin{cases} 0 & \text{si } x < 0 \\ 1 & \text{si } x \geq 0 \end{cases}$$

L'équation précédente peut se récrire :

$$\underline{F}_i^{\text{câble}} = \sum_j \left\{ \left(H(|p_{ij}| - l_{ij}^0) \left(ES \left[\frac{|p_{ij}|}{l_{ij}^0} - 1 \right] + \eta \left(\frac{v_{ij} \cdot p_{ij}}{l_{ij}^0 |p_{ij}|} \right) \right) \right) \frac{p_{ij}}{|p_{ij}|} \right\} \quad (4.63)$$

Le calcul de la force résultante exercée par les câbles est fait via l'équation (4.63) puis ces forces sont rajoutées au comportement dynamique global de la structure de tensegrité. Le bilan des forces intérieures pour chaque nœud (figure 4.9) est la somme de toutes les forces qui sont générées par les câbles ainsi que celles déterminées par la méthode des éléments finis (équation (4.58)).

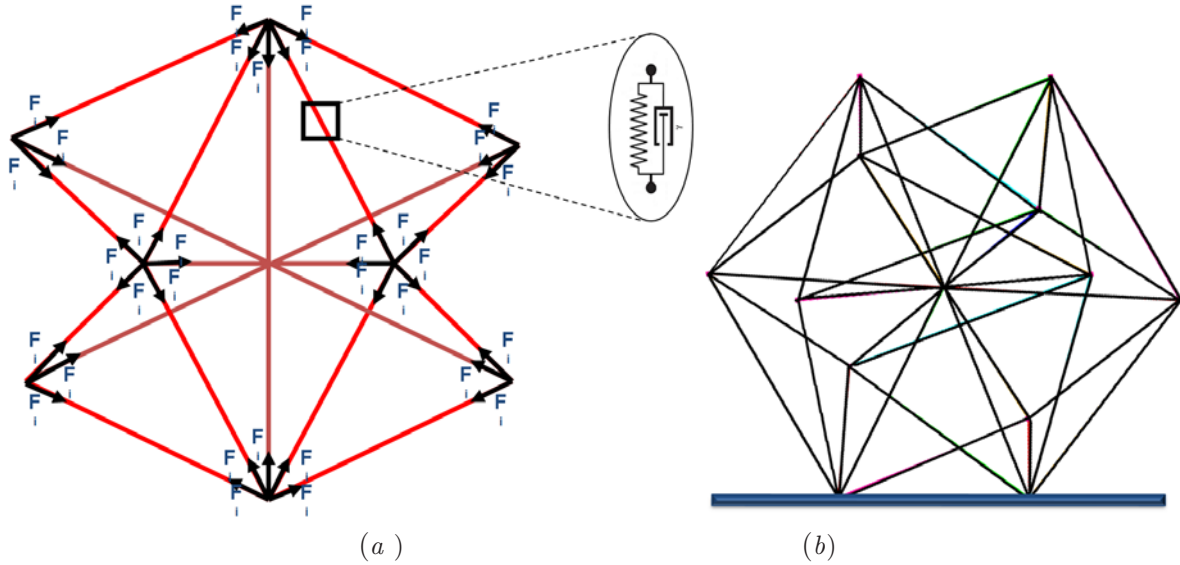


Figure 4.9 – Structures des câbles.

L'expression générale du calcul de la force due aux contraintes internes et aux sollicitations extérieures, appliquée à chaque nœud du maillage global de la structure de tensegrité, est définie par :

$$F_i^{\text{Globale}} = F_i^{\text{extérieure}} + \begin{cases} f_i^{\text{barres}} & \text{si } i \text{ n'est pas un nœud d'extrémité} \\ f_i^{\text{barres}} + \sum_j f_j^{\text{câbles}} & \text{si } i \text{ est un nœud d'extrémité} \end{cases} \quad (4.64)$$

Une fois les efforts intérieurs déterminés en chaque nœud du maillage à un instant donné, le système est intégré dans le temps pour obtenir la réponse dynamique. En utilisant le schéma

4. Également nommée fonction échelon ou fonction marche.

des différences finies centrées explicites appliqué à l'équilibre dynamique du nœud à l'instant t (pas n), il vient :

$$m_i \ddot{U}_{i_n} + \gamma_i \dot{U}_{i_n} = F_{i_n}^{globale} \quad (4.65)$$

Où m_i représente la masse et γ_i le coefficient d'amortissement structurel associés au nœud i .

$$U_{i_{n+1}} = K_1 \left(f_{i_n} + K_2 U_{i_n} - K_3 U_{i_{n-1}} \right) \quad (4.66)$$

$$\begin{cases} K_1 = \frac{2h^2}{2m_i + \gamma_i h} \\ K_2 = \frac{4m_i}{2h^2} \\ K_3 = \frac{m_i - \gamma_i h}{2h^2} \end{cases} \quad (4.67)$$

où $h = t_{n+1} - t_n$ est le pas d'intégration temporelle.

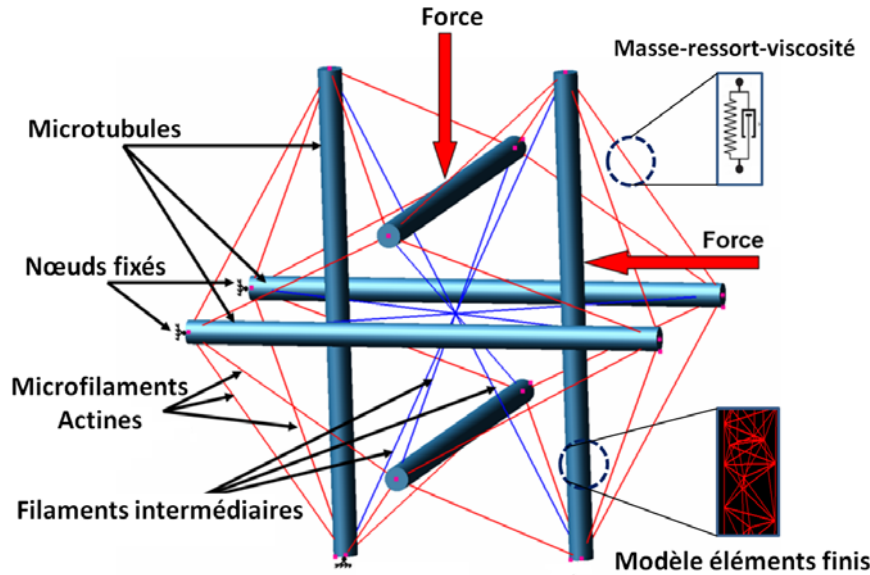


Figure 4.10 – Structure biomécanique de tensegrité modélisée : barres modélisées en éléments finis 3D et câbles par le modèle masse-ressort-viscosité.

La figure 4.10 illustre la conception générale de la structure modélisée par des éléments finis tridimensionnels (tétraèdres) et des éléments rhéologiques. La résolution globale peut être vue comme couplant approches par masses-tenseurs et approche par masses-ressorts-viscosités.

4.3.2 Modélisation 3D d'une cellule biologique vue comme un solide incompressible

Dans cette section, nous allons envisager un autre type de modélisation où la cellule est considérée comme un solide incompressible ayant un comportement élastique. La réponse mécanique de la cellule sera déduite d'une résolution par la méthode des éléments finis de type

masses-tenseurs.

Un grand nombre de travaux expérimentaux de caractérisation biomécanique de cellules biologiques, qu'il s'agisse des tests de microinjection ou d'indentation, montrent qu'un comportement élastique linéaire est inapproprié à la modélisation des déformations biomécaniques de cellules biologiques. L'élasticité linéaire est très souvent retenue en raison de sa facilité de mise en œuvre des différentes possibilités d'optimisation de la résolution par des pré-calculs qu'elle autorise. Néanmoins, elle présente une grande restriction puisqu'elle est limitée aux petites transformations (petits déplacements, petites déformations et petites rotations). D'un point de vue intuitif, on peut considérer que l'élasticité linéaire n'est admissible que tant que les déformations demeurent inférieures à 10 %. Il semble donc nécessaire de chercher à étendre la modélisation et la résolution valables pour un comportement linéaire vers une modélisation du comportement biomécanique plus complexe, qui prenne en compte les non linéarités.

4.3.2.1 Analyse de résultats expérimentaux

Dans un premier temps, nous allons essayer d'y voir plus clair sur l'ordre de grandeur des déformations mises en jeu lors d'une microinjection (ou lors d'essais d'indentation) sur un ovocyte. Nous allons ainsi tenter de répondre à un certain nombre de questions qui orienteront notre modélisation :

Lors d'une injection intracytoplasmique (ou d'une indentation) ,

1. le volume du cytoplasme (ooplasme) demeure-t-il inchangé ?
2. la membrane cytoplasmique (oolemme) est-elle extensible ?
3. a-t-on des petites ou des grandes déformations ?

Méthodologie de mesure

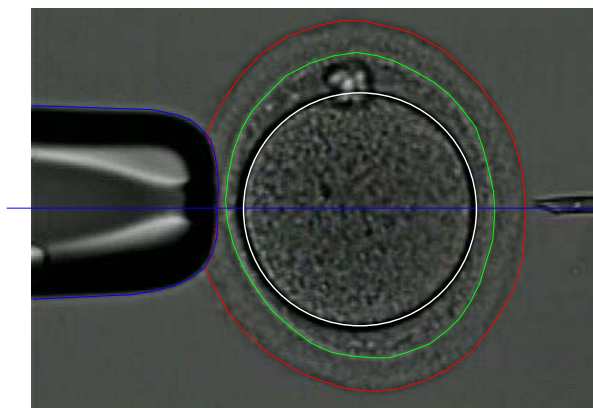


Figure 4.11 – Injection Intra Cytoplasmique : Ovocyte mature à l'état initial

Sur la figure (4.11) est représenté un ovocyte mature maintenu en place par aspiration au moyen d'une micropipette (holder)⁵ :

- les contours rouges et verts représentent les limites de la zone pellucide (enveloppe translucide entourant l'ovocyte) ;

5. pour voir l'ovule sans obstacle, les cellules du cumulus qui l'entourent ont été enlevées.

- les contours verts et blancs représentent les limites de l'espace périvitellin (on distingue au nord le premier globule polaire) ;
- le contour blanc délimite l'ovocyte, il s'agit bien d'un cercle $\Rightarrow$ l'ovocyte peut être assimilé à une sphère (symétrie de révolution par rapport à l'axe bleu).

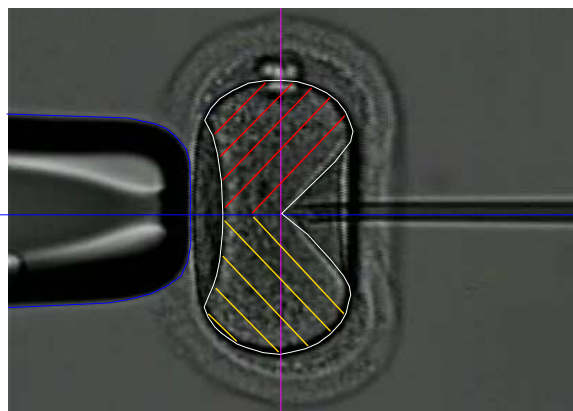


Figure 4.12 – Injection Intra Cytoplasmique : Ovocyte état déformé

La figure (4.12) représente une vue de l'état de déformation maximale d'une cellule déformée par une micropipette d'injection à un instant très proche de celui de rupture de la membrane. On détermine un (*pseudo*) axe de révolution dans l'état déformé (axe bleu) et on détermine le nouveau volume de l'ovocyte et la surface de la membrane à partir des deux sections de révolution (hachurées en rouge et en jaune), pour cela, à partir d'un programme [57] :

- on récupère les points du contour ;
- on interpole linéairement entre deux points ;
- on calcule l'aire de la surface de révolution comme la somme des aires latérales de troncs de cônes ;
- on calcul le volume comme étant la somme (ou différence) de volumes de troncs de cônes.

Résultats et discussion

Des calculs ont été réalisés dans l'état initial, non déformé, de la cellule. Le tableau (4.1) en synthétise les résultats qui nous serviront de référence pour qualifier l'état de déformation de la cellule.

État de référence.	
Volume du cytoplasme	7.85195571E+09
Surface de la membrane	19104516
Demi-périmètre de la membrane	3873.58374

Tableau 4.1 – Paramètres pour la cellule au repos (l'état initial).

Différents calculs concernant le volume du cytoplasme, la surface, ainsi que le demi-périmètre ont été effectués sur les deux demi-section identifiées dans l'état déformé et permettant de générer la cellule par révolution (table 4.2).

	État déformé.	
	Première moitié	Deuxième moitié
Volume du cytoplasme	7.59988787E+09	7.84427674E+09
L'écart du volume avec l'état initial	-3.21025538 %	-0.097796984 %
Surface de la membrane	22119376	22105152
L'écart de la surface avec l'état initial	15.7808762 %	15.7064228 %
Le périmètre de la membrane	4174.83057	4205.52295
L'écart avec l'état initial	7.77695417 %	8.56930542 %

Tableau 4.2 – Calculs de la géométrie de la cellule déformée.

L'écart entre les deux moitiés.	
Volume du cytoplasme	3.21569037%
Surface de la membrane	-0.064305611%
Demi-périmètre de la membrane	0.735176742%

Tableau 4.3 – La différence entre l'état initial et l'état déformé.

Le tableau (table 4.3) représente l'écart en pourcentage entre les états initial et déformé pour le volume, la surface ainsi que le périmètre de la cellule.

On peut formuler les premières remarques suivantes :

- la variation de volume est comprise entre 0.1 et 3.2%, soit une moyenne de 1.6% ;
- la variation de surface est de l'ordre de 16%.

De ces premières observations on peut conclure que :

**les hypothèses d'incompressibilité du cytoplasme et d'élasticité
de la membrane peuvent être considérées comme satisfaites**

On peut noter, dans un deuxième temps, que la variation relative de périmètre est au plus de 8.57%. Nous pouvons donc en déduire que la déformation globale de membrane est inférieure au 10% évoqués précédemment comme limite de validité des petites déformations. Nous allons tenter d'affiner cette analyse :

- *Peut-on justifier cette valeur de 10% ?*

les petites déformations sont caractérisées par une linéarité de la réponse et une indépendance vis à vis du trajet de chargement. Ainsi, si on déforme de ε_1 puis de ε_2 ou de $\varepsilon_1 + \varepsilon_2$, on devrait avoir en petites déformations, la même déformation finale : $l_0(1 + \varepsilon_1 + \varepsilon_2) \approx l_0(1 + \varepsilon_1)(1 + \varepsilon_2)$

Ce qui est vrai (en prenant par exemple $\varepsilon_2 = \varepsilon_1$) ssi $\varepsilon_1^2 \ll 1$

Ordre de grandeur $\varepsilon_1^2 = 0.01 \Rightarrow \varepsilon_1 = 0.1 = 10\%$

Il paraît donc raisonnable de considérer qu'on reste en petites déformations jusqu'à 10% de déformation.

- *Autre vérification par comparaison des mesures de déformations* Une autre vérification possible est qu'en petites déformations on mesure la déformation uniaxiale par : $\varepsilon = \frac{l-l_0}{l_0} = 8.57\%$ et qu'en grandes déformations on peut la mesurer par la déformation logarithmique $\varepsilon = \ln\left(\frac{l}{l_0}\right) = 8.22\%$, la déformation de Green-Lagrange $\varepsilon = \frac{1}{2} \left(\frac{l^2 - l_0^2}{l_0^2} \right) = 8.93\%$. Ici, l'écart n'est pas très important $\pm 4\%$ ce qui confirme que l'approche en petites déformations peut être globalement conservée dans la modélisation de la déformation d'une cellule .

Il est important de souligner que nous n'affirmons pas qu'il ne puisse pas y avoir, de manière localisée, des déformations plus importantes.

On peut en conclure :

**l'hypothèse de petites déformations peut être
considérée comme globalement satisfaite**

4.3.2.2 Vers un modèle d'élasticité non linéaire

Dans cette section, nous nous contentons de donner un aperçu général des modèles non linéaires les plus utilisés dans la modélisation et la simulation des tissus mous, ces modèles appartiennent à la catégorie de matériaux appelés *matériaux hyperélastiques*. Il existe plusieurs modèles d'hyperélasticité, de complexités différentes et des domaines de validité différents. Nous ne nous intéresserons qu'aux plus répandus, les plus utilisés dans la modélisation de tissus et présentent à nos yeux le meilleur compromis entre simplicité et pertinence des simulations. Nous allons vous présenter brièvement deux modèles hyperélastiques : le modèle de Saint-Venant Kirchhoff et le modèle de Mooney-Rivlin.

Hyperélasticité et transformations finies

Dans le cadre des transformations finies toutes les grandeurs sont déterminées par rapport à la configuration de référence. Pour les déformations, nous avons déjà présenté le tenseur de Green-Lagrange $\mathbf{E}$ (section 4.2.1). Nous utiliserons également le tenseur de Cauchy-Green droit $\mathbf{C}$ lié au gradient de la transformation $\mathbf{C} = \mathbf{F}^T \mathbf{F}$. Pour les contraintes nous ferons appel au tenseur de Piola-Kirchhoff 2 qui est associé au tenseur de déformation de Green-Lagrange.

$$\begin{aligned} \mathbf{S} &= \det(\mathbf{F}) \mathbf{F}^{-1} \cdot \boldsymbol{\sigma} \cdot \mathbf{F}^{-T} \\ \text{ou } S_{ij} &= J F_{ik}^{-1} \sigma_{kl} F_{jl}^{-1} \end{aligned} \quad (4.68)$$

Un matériau est dit *hyperélastique* s'il existe un potentiel élastique fonction de l'énergie interne W , tel que sa dérivée par rapport aux déformations détermine les contraintes correspondantes. La fonction $W = \rho_0 \psi$ est l'énergie de déformation par unité de volume. ψ est l'énergie libre spécifique ou énergie libre de Helmholtz. Le tenseur des contraintes de Piola-Kirchhoff 2 est ainsi, d'un point de vue thermodynamique, la grandeur conjuguée du tenseur de déformation de Green-Lagrange :

$$\begin{aligned} \mathbf{S} &= \frac{\partial W(\cdot)}{\partial \mathbf{E}} \\ \text{ou } S_{ij} &= \frac{\partial W(\cdot)}{\partial E_{ij}} \end{aligned} \quad (4.69)$$

Le théorème de Rivlin-Ericksen implique que, pour un matériau hyperélastique isotrope objectif, le potentiel élastique W soit une fonction des invariants principaux I_1 , I_2 et I_3 du tenseur de Cauchy-Green droit :

$$W(\underline{X}, \mathbf{F}) = W(\underline{X}, \mathbf{C}) = W(\underline{X}, I_1(\mathbf{C}), I_2(\mathbf{C}), I_3(\mathbf{C})) \quad (4.70)$$

$$\begin{aligned} \text{avec } I_1 &= \text{tr } \mathbf{C} = C_{ii} \\ I_2 &= \frac{1}{2} ((\text{tr } \mathbf{C})^2 - \text{tr}(\mathbf{C}^2)) \\ I_3 &= \det \mathbf{C} \end{aligned} \quad (4.71)$$

Modèle de Saint Venant Kirchhoff

Le modèle de St Venant Kirchhoff est linéaire pour la relation entre contraintes et déformations mais par contre non-linéaire pour la relation entre déplacements et déformations. Comme c'est le modèle hyperélastique le plus simple, c'est aussi le plus utilisé pour modéliser les tissus mous.

La loi Saint-Venant Kirchhoff satisfait le théorème de Rivlin-Ericksen avec comme potentiel élastique :

$$W(\mathbf{F}) = \mu (I_1(\mathbf{C}) - 3) + \frac{\lambda+2\mu}{8} (I_1(\mathbf{C}) - 3)^2 - \frac{\mu}{2} (I_2(\mathbf{C}) - 3) \quad (4.72)$$

En remplaçant ; $I_2(\mathbf{C}) - 3 = 4 \text{tr } \mathbf{E} + 2 (\text{tr } \mathbf{E})^2 - 2 \text{tr}(\mathbf{E}^2)$ et $I_1(\mathbf{C}) - 3 = 2 \text{tr } \mathbf{E}$, on trouve :

$$W(\mathbf{E}) = \frac{\lambda}{2} (\text{tr } \mathbf{E})^2 + \mu (\text{tr } \mathbf{E}^2) \quad (4.73)$$

L'énergie de déformation W est un polynôme de degré quatre. On obtient bien une relation linéaire entre le second tenseur des contraintes de Piola-Kirchhoff et le tenseur des déformations

de Green-Lagrange :

$$\begin{aligned} \mathbf{S} &= \lambda (tr \mathbf{E}) \mathbf{I} + 2\mu \mathbf{E} \\ \text{or } S_{ij} &= \lambda E_{kk} \delta_{ij} + 2\mu E_{ij} \end{aligned} \quad (4.74)$$

Ce modèle généralise donc la loi de Hooke pour les grands déplacements.

Modèle de Mooney-Rivlin

Le modèle de Mooney-Rivlin est un modèle complètement non linéaire, que ce soit pour la relation entre les contraintes et les déformations ou bien pour la relation entre les déplacements et les déformations.

Il satisfait également le théorème de Rivlin-Ericksen avec comme potentiel élastique :

$$W(\mathbf{C}) = \frac{1}{2} \left(a (\bar{I}_1(\mathbf{C}) - 3) + b (\bar{I}_2(\mathbf{C}) - 3) + c (J(\mathbf{C}) - 1)^2 \right) \quad (4.75)$$

expression dans laquelle apparaissent d'autres invariants :

$$J(\mathbf{C}) = \det \mathbf{F} = \sqrt{I_3(\mathbf{C})} ; \quad \bar{I}_1(\mathbf{C}) = J(\mathbf{C})^{-2/3} I_1(\mathbf{C}) \text{ et } \bar{I}_2(\mathbf{C}) = J(\mathbf{C})^{-4/3} I_2(\mathbf{C})$$

sachant que pour permettre de retrouver l'élasticité linéaire dans le cas des petites déformations, les relations entre les différents paramètres doivent vérifier :

$$\begin{aligned} c = K &= \frac{E}{3(1-2\nu)} \quad (\text{module de compressibilité}) \\ a + b = \mu &= \frac{E}{4(1+\nu)} \quad (\text{module de cisaillement}) \end{aligned} \quad (4.76)$$

4.3.2.3 Modèle géométriquement non-linéaire : grands déplacements

Dans la section 4.3.2.1, nous avons présenté une analyse de résultats expérimentaux qui nous a permis de conclure que la déformation de la cellule se fait à volume constant (incompressibilité) et que si l'on a naturellement des grands déplacements, les déformations elles demeurent petites. Parmi les modèles hyperélastiques présentés précédemment, sans oublier notre objectif qui est d'avoir un modèle non linéaire adapté pour des applications en temps réel, le modèle St Venant-Kirchhoff nous a semblé le plus adapté puisqu'il généralise la loi de Hooke tout en permettant une prise en compte des grands déplacements. De plus, en jouant sur la valeur du coefficient de Poisson nous pourrions assurer une quasi-incompressibilité ($\nu \approx 0.5$).

Picinbono et al. ont proposé une extension de l'algorithme des masses-tenseurs qui conserve le principe de linéarité physique mais qui utilise le tenseur de déformations non-linéaire de Green-Lagrange [137].

L'algorithme se construit de la même façon que pour la version linéaire, l'équation de base de l'énergie reste la même que l'équation 4.73. L'écriture complète de tenseur de déformation de Green-Lagrange directement en fonction du champ de déplacement peut s'écrire :

$$\mathbf{E} = \frac{1}{2} (\mathbf{grad} \underline{U} + \mathbf{grad}^T \underline{U} + \mathbf{grad}^T \underline{U} \cdot \mathbf{grad} \underline{U}) \quad (4.77)$$

Pour le modèle d'élasticité de St Venant-Kirchhoff, l'énergie de déformation est donc un polynôme de degré quatre en déplacements qui peut se récrire :

$$\begin{aligned}
 W_{NL} = & \frac{\lambda}{2}(\text{div } \underline{U})^2 + \mu \|\mathbf{grad } \underline{U}\|^2 - \frac{\mu}{2} \|\underline{rot } \underline{U}\|^2 + \frac{\lambda}{2}(\text{div } \underline{U}) \|\mathbf{grad } \underline{U}\|^2 + \frac{\lambda}{8} \|\mathbf{grad } \underline{U}\|^4 \\
 & + \mu (\mathbf{grad } \underline{U} : (\mathbf{grad }^T \underline{U} \cdot \mathbf{grad } \underline{U})) + \frac{\mu}{4} \|\mathbf{grad }^T \underline{U} \cdot \mathbf{grad } \underline{U}\|^2
 \end{aligned} \quad (4.78)$$

La force exercée par un tétraèdre τ sur chacun de ses sommets i est donnée par l'équation suivante [136] avec nos notations :

$$\begin{aligned}
 \{\mathbf{F}_i^\tau\} = & \underbrace{\sum_{j=1}^4 [\mathbf{B}_{ij}^\tau] \{\mathbf{u}_j\}}_{F_1^\tau} + \\
 & \underbrace{\sum_{j,k=1}^4 \left(\{\mathbf{u}_k\} \{\mathbf{u}_j\}^T \right) \{\mathbf{C}_{jki}\} + \frac{1}{2} \left(\{\mathbf{u}_j\}^T \{\mathbf{u}_k\} \right) \{\mathbf{C}_{ijk}\}}_{F_2^\tau} + \\
 & \underbrace{2 \sum_{j,k,l=0}^3 D_{jkl} \{\mathbf{u}_l\} \{\mathbf{u}_k\}^T \{\mathbf{u}_j\}}_{F_3^\tau}
 \end{aligned} \quad (4.79)$$

$$F_i^\tau = \underbrace{F_1^\tau}_{\text{Force linéaire}} + \underbrace{F_2^\tau + F_3^\tau}_{\text{Force non-linéaire}} \quad (4.80)$$

où $[\mathbf{B}_{ij}]$, $\{\mathbf{C}_{ijk}\}$, D_{ijkl} sont des tenseurs de rigidité, respectivement d'ordre 2, 1 et 0 .

$$\left\{ \begin{aligned}
 [\mathbf{B}_{ij}] &= \frac{1}{36V} \left[\lambda \{\mathbf{m}_i\} \{\mathbf{m}_j\}^T + \mu \left(\{\mathbf{m}_i\}^T \{\mathbf{m}_j\} \right) [\mathbf{I}] + \mu \{\mathbf{m}_i\} \{\mathbf{m}_j\}^T \right] \\
 \{\mathbf{C}_{ijk}\} &= \frac{1}{216V^2} \left[\lambda \{\mathbf{m}_i\} \left(\{\mathbf{m}_j\}^T \{\mathbf{m}_k\} \right) + \right. \\
 &\quad \left. \mu \{\mathbf{m}_k\} \left(\{\mathbf{m}_i\}^T \{\mathbf{m}_j\} \right) + \mu \{\mathbf{m}_j\} \left(\{\mathbf{m}_i\}^T \{\mathbf{m}_k\} \right) \right] \\
 D_{ijkl} &= \frac{1}{1296V^3} \left[\frac{\lambda}{4} \left(\{\mathbf{m}_i\}^T \{\mathbf{m}_j\} \right) \left(\{\mathbf{m}_k\}^T \{\mathbf{m}_l\} \right) + \right. \\
 &\quad \left. \frac{\mu}{2} \left(\{\mathbf{m}_i\}^T \{\mathbf{m}_l\} \right) \left(\{\mathbf{m}_j\}^T \{\mathbf{m}_k\} \right) \right]
 \end{aligned} \right. \quad (4.81)$$

les matrices $[\mathbf{B}_{ij}]$ correspondent aux matrices $[\mathbf{K}_{ij}^\tau]$ du cas linéaire.

Pour la résolution, la structure générale de l'algorithme utilisée dans le cas linéaire reste inchangée. Tous les paramètres associés aux tenseurs de rigidité ne dépendent que de la géométrie du maillage au repos et des coefficients de Lamé du matériau. Ils peuvent donc également tous

être calculés pendant la phase de pré-calcul (phase off-ligne).

Pour plus de détails et une étude plus approfondie du modèle d'élasticité de St Venant-Kirchhoff dans le contexte de simulations éléments-finis par masses-tenseurs, nous conseillons la lecture de la référence [136].

4.4 Validation expérimentale sur des cellules biologiques flottantes de type ovocyte

On s'intéresse dans cette partie à la validation expérimentale de notre méthode développée pour des applications en temps réel. Nous commençons cette confrontation expérimentale par l'étude de la réponse de cellules de type ovocyte sollicitées lors d'une microinjection. Nous travaillerons avec les deux approches : ovocyte vu comme une structure tenségrité idéalisant le cytosquelette et ovocyte vu comme un solide déformable incompressible.

4.4.1 Simulation avec un modèle de cytosquelette de type tenségrité

Nous rappelons que dans l'approche proposée, des calculs préliminaires sont effectués hors ligne, permettant ainsi un gain de temps lors de la simulation en temps réel. Dans ce paragraphe, nous présentons deux scénarios de déformation du cytosquelette. Dans la première simulation l'effort est positionné à l'extrémité d'une barre de la structure de tenségrité (voir figure 4.13). Dans la deuxième configuration la force est exercée au centre de la structure, c'est à dire appliquée au milieu d'une barre (voir figure 4.14). Ces deux configurations ont pour but de visualiser les différentes déformations à différents instants d'un procédure de microinjection :

- la première simulation illustrera le début d'une phase d'injection ;
- la seconde correspondra à la phase de ponction (la micropipette étant à l'intérieur de la cellule).

La configuration géométrique retenue est la suivante : le maillage volumique tétraédrique non régulier se compose de 1024 nœuds et 1798 tétraèdres. Tous les nœuds sont laissés libres de tout mouvement sauf 3 nœuds qui sont fixés. Ces nœuds fixés sont supposés représenter le maintien de la cellule au moyen de la micropipette d'aspiration.

Le tableau 4.4 résume les différentes propriétés géométriques et mécaniques retenues pour les trois types filaments constituant le cytosquelette. Ces paramètres sont introduits dans notre moteur 3D afin de simuler le comportement mécanique du cytosquelette modélisé par la structure de tenségrité.

	Microfilaments	Microtubules	Filaments intermédiaires
$E(Pa)$	2.6×10^9	1.2×10^9	$0.3 \sim 0.4 \times 10^9$
ν	0.3	0.3	0.3
$D(nm)$	$5 \sim 9$	25	$\simeq 10$
$Section(nm^2) :$	18	190	—

Tableau 4.4 – Propriétés géométriques et mécaniques pour les différents types de filaments [114], [56]

Les premiers résultats de simulation de la déformation du cytosquelette sont présentés sur les figures (4.13) et (4.14) et mettent en évidence les déformations des différents filaments. Le tracé de la courbe force-déplacement (figure 4.15) est également encourageant puisque la réponse apparaît bien non-linéaire.

Toutefois cette approche n'a pas été poursuivie dans le temps imparti pour ce travail de thèse en raison du manque de données sur les propriétés réelles des filaments constitutifs du cytosquelette mais surtout de la difficulté de faire correspondre ces propriétés du cytosquelette réel avec celles du cytosquelette idéalisé sous la forme d'une structure tenségrité.

En parallèle de cette modélisation, nous avons réalisé un autre type de modélisation globale où la cellule est considérée comme un solide homogène incompressible.

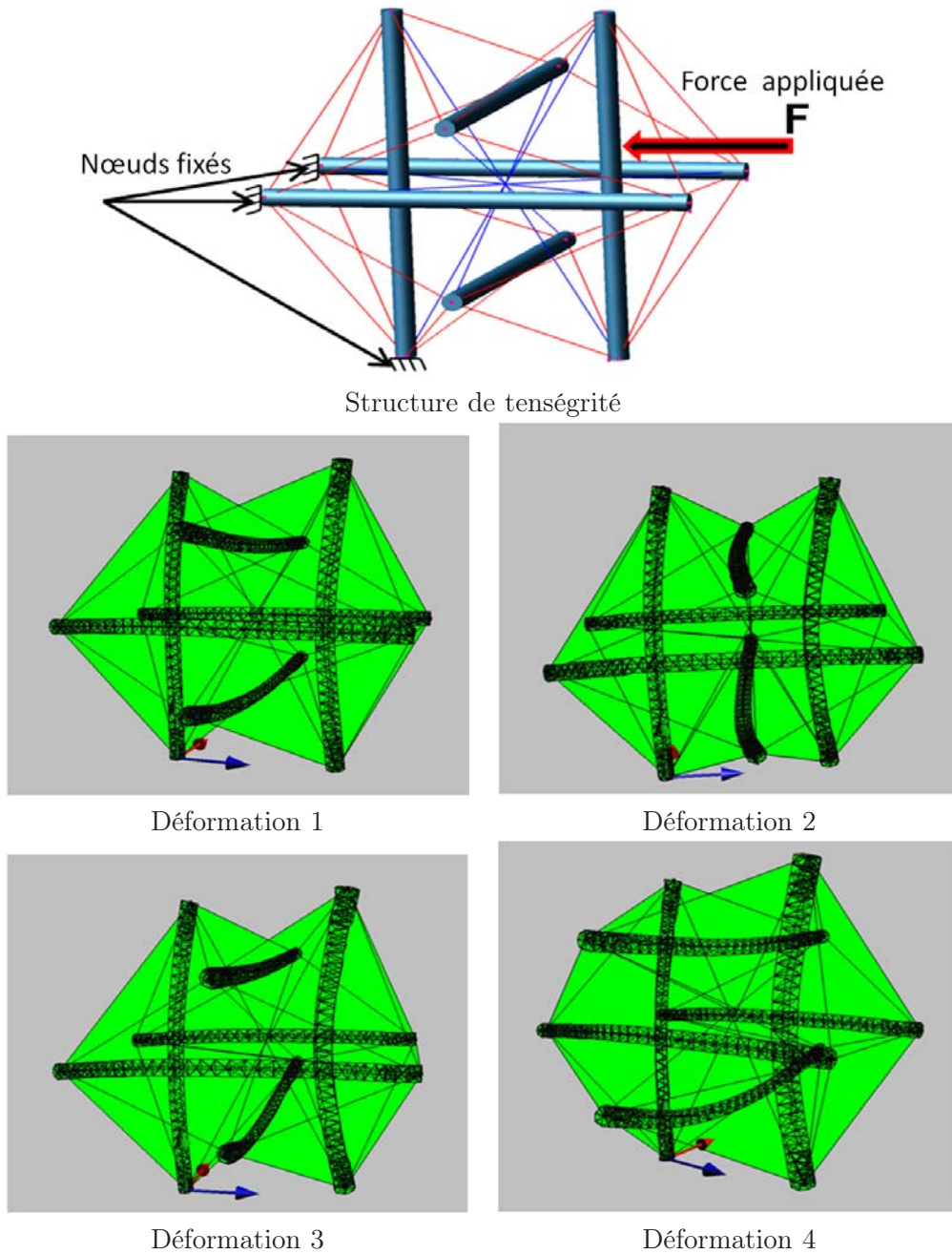


Figure 4.13 – Scénario 1 : Plusieurs étapes de déformations de la structure de tenségrité .

4.4.2 Simulation avec un modèle de solide élastique homogène incompressible

Dans cette section, nous considérons la cellule comme un solide vérifiant un comportement hyperélastique de Saint-Venant-Kirchhoff.

Caractéristiques de la cellule

Les différentes caractéristiques expérimentales ont été déduites des travaux de Sun et al. à partir de leur système de biomicroinjection présenté dans le chapitre 1 [171]. Les auteurs ont

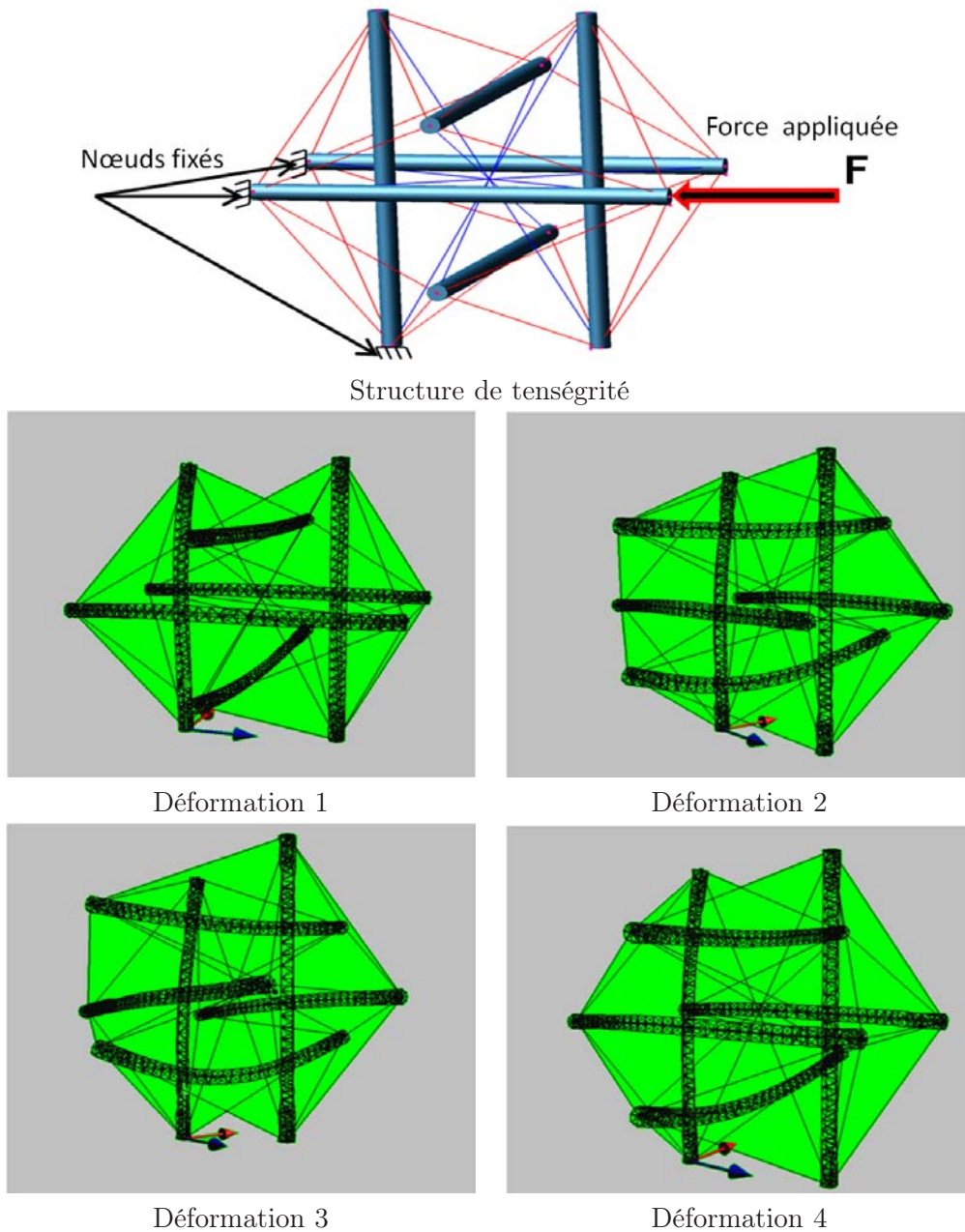


Figure 4.14 – Scénario 2 : Plusieurs étapes de déformations de la structure de tensegrité .

effectué de nombreux tests d'injection (ou d'indentation) sur des cellules embryonnaires de la souris. L'analyse de leurs résultats nous a permis de créer une base de donnée des différentes propriétés géométriques et mécaniques pour la modélisation d'un ovocyte.

Nous avons adopté les caractéristiques moyennes suivantes :

- diamètre de $56 \mu m$, soit un rayon de $28 \mu m$
soit volume de : $V = \frac{4}{3}\pi r^3 = 91952 \mu m^3$
- pour la détermination de la masse, on suppose qu'une cellule est essentiellement constituée d'eau ($\rho_{eau} = 1000 kg m^{-3} = 10^{-9} mg \mu m^{-3}$). On en déduit comme masse de la

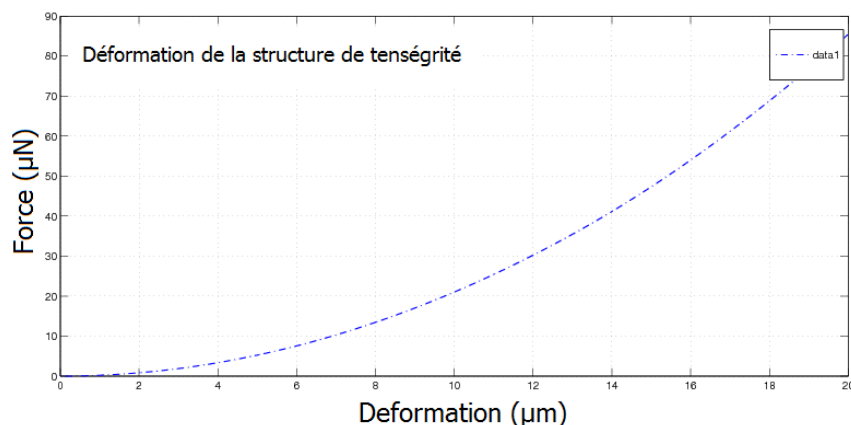


Figure 4.15 – Courbe non-linéaire de déformation en fonction de la force pour la structure de tenségrité.

cellule :

$$M = \rho V = 10^{-9} \times 91952 = 9.1952 \cdot 10^{-5} \text{ mg (ou } 9.1952 \cdot 10^{-5} \text{ kg)}$$

– Module d'Young : $18 \text{ kPa} = 18 \times 10^3 \text{ Pa} = 18 \times 10^{-3} \text{ MPa}$

Le tableau 4.5 résume les différentes propriétés géométriques et mécaniques d'une cellule sphérique de type ovocyte. Ces paramètres seront introduits dans notre moteur 3D afin de simuler la réponse mécanique d'une cellule lors d'une injection.

	Propriétés mécaniques et géométriques
Module d'Young	18 kPa
Coefficient de Poisson	0.49
Diamètre	$56 \mu\text{m}$
Masse de la cellule	$9.1952 \cdot 10^{-5} \text{ mg}$
Masse aux nœuds	$0.07995 \cdot 10^{-5} \text{ mg}$
Volume	$91952 \mu\text{m}^3$
Maillage volumique	115 nœuds et 332 tétraèdres

Tableau 4.5 – Différentes propriétés mécaniques et géométriques de la cellule modélisée (ovocyte de souris).

L'architecture et la méthodologie de simulation (logicielle et matérielle) reste la même que précédemment. La configuration utilisée, est un maillage volumique tétraédrique non régulier qui se compose de 115 nœuds et 332 tétraèdres ainsi 536 arrêtes, 754 faces triangles. Les conditions aux limites sont telles que tous les nœuds sont libres sauf sur la portion de cellule aspirée par la micropipette de maintien (Holder) où tous les nœuds sont fixés (figure 4.16).

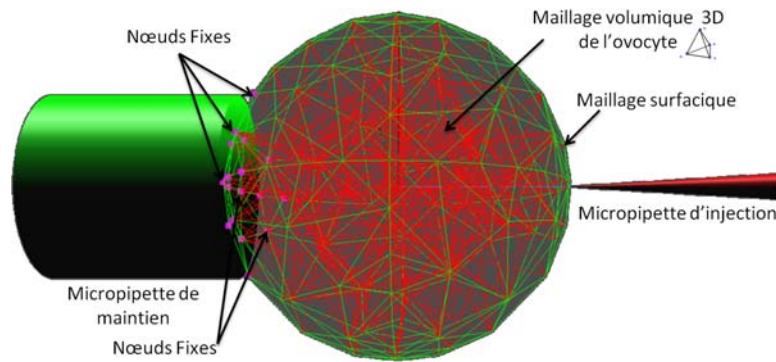


Figure 4.16 – Maillage tétraédrique 3D de l'ovocyte composé de 115 nœuds et 332 tétraèdres pour la simulation du processus d'injection.

Comparaison entre expérience et modélisation

La figure 4.17 présente les résultats du modèle géométriquement linéaire, du modèle géométriquement non-linéaire (St Venant-Kirchhoff) et de l'expérience tirée de [171]. On constate un écart très significatif entre les deux modélisations qui confirme que l'hypothèse des petites perturbations conduit à une approximation plutôt grossière du comportement pour des éléments fortement déformés. De plus, dans le cas de l'insertion d'une aiguille dans un tissu biologique, les déformations vont demeurer faibles sur la plus grande partie de l'objet mais peuvent devenir très fortes localement près du point d'insertion [155]. Ces éléments localement fortement déformés apporteront une contribution déterminante pour le calcul de la force exercée sur l'aiguille, ce qui explique l'écart important observé entre les deux modèles. La comparaison entre le modèle non linéaire et les données de l'expérience apparaît elle très satisfaisante.

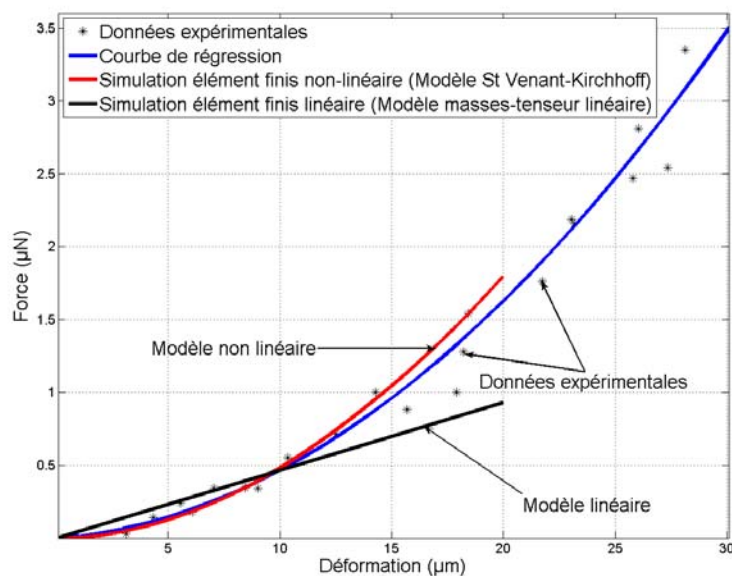


Figure 4.17 – Comparaison de la réponse force en fonction du déplacement de la micropipette entre simulation et données expérimentales issues de la littérature [171].

Comme notre objectif est de réaliser un simulateur, la comparaison des déformées est également un critère important de jugement. Les figures (4.18) et (4.19) montrent les évolutions comparées des déformées d'une cellule réelle en cours de microinjection et de sa modélisation par un modèle géométriquement non linéaire⁶. La confrontation confirme le bon rendu de la modélisation non linéaire.

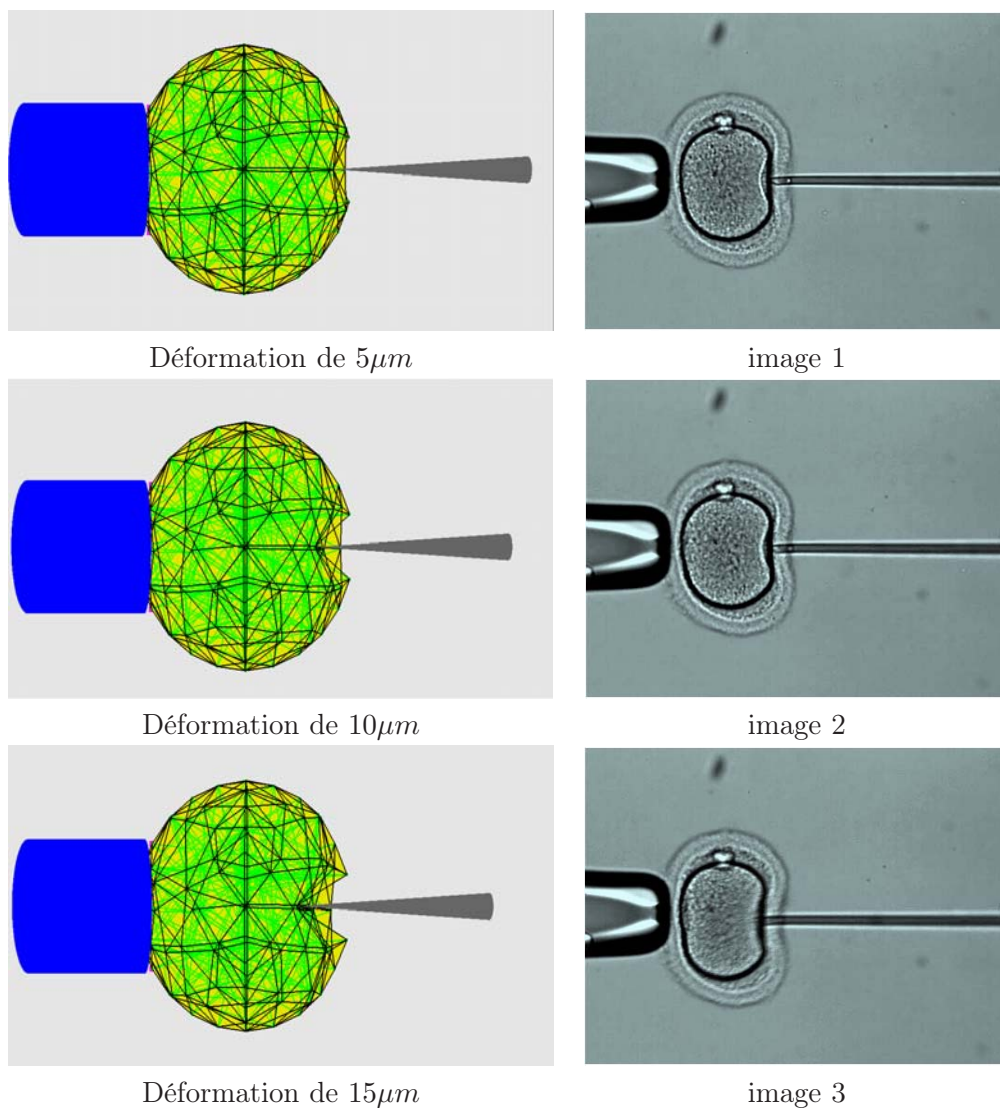


Figure 4.18 – Comparaison visuelle, des différentes étapes de déformation d'une cellule sous l'action de l'insertion d'une micropipette, entre simulation et expérience réelle d'ICSI : profondeur d'indentation de $5\mu m$, $10\mu m$ et $15\mu m$.

Le modèle proposé semble donc bien approprié à la simulation de la réponse mécanique d'un ovocyte.

6. Cette comparaison reste purement "*mécanique*" puisqu'il n'a pas été ajouté d'effets de texture qui amélioreraient le rendu réaliste de la simulation.

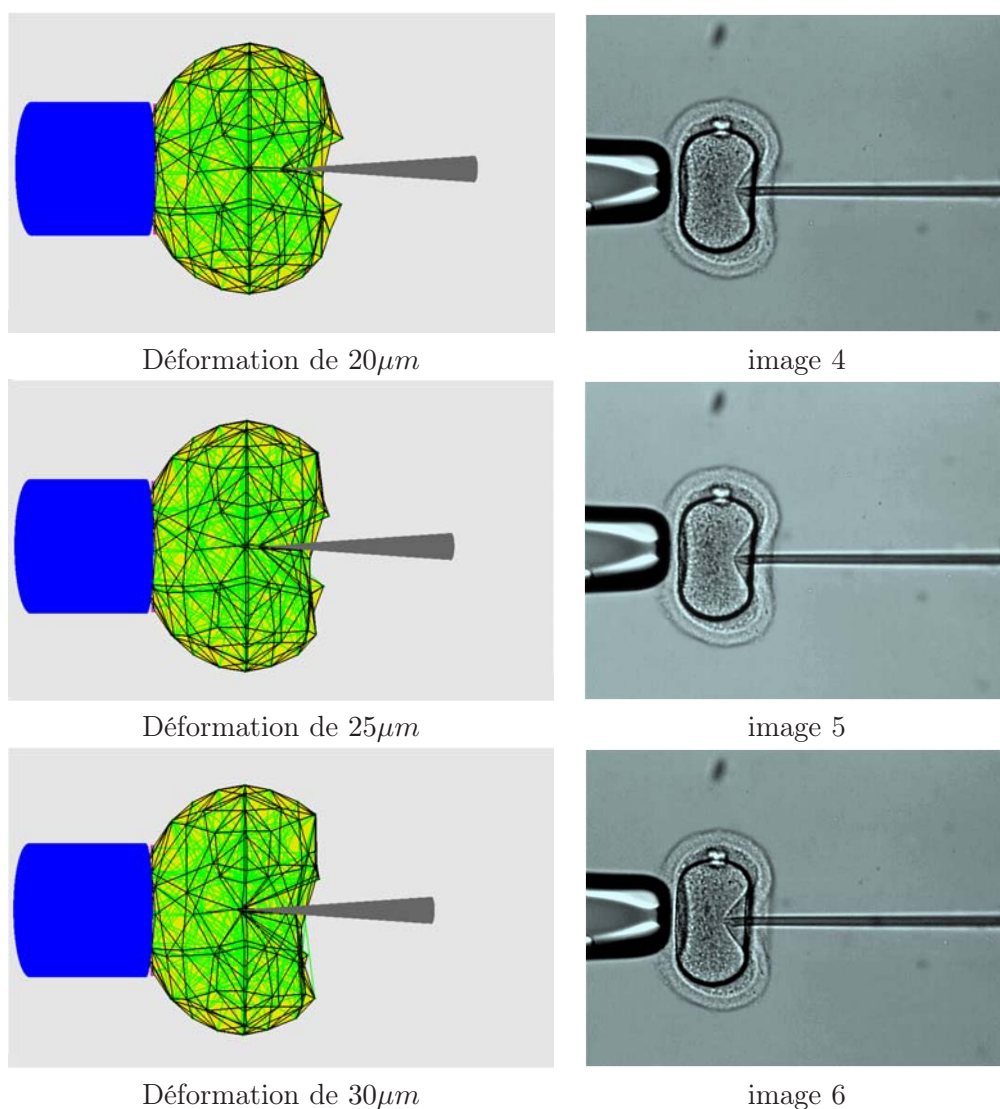


Figure 4.19 – Comparaison visuelle, des différentes étapes de déformation d’une cellule sous l’action de l’insertion d’une micropipette, entre simulation et expérience réelle d’ICSI : profondeur d’indentation de $20\mu m$, $25\mu m$ et $30\mu m$.

4.5 Validation expérimentale sur des cellules souches adhérentes

4.5.1 Pourquoi s’intéresser aux cellules souches ?

L’équipe du laboratoire RAMS de l’université du Maryland, College Park, dirigée par le professeur Jaydev P. Desai et le professeur Carol Keefer (biologiste), travaillent sur la caractérisation et la mesure des propriétés biomécaniques de cellules souches de souris. Ils étudient leurs transformations et l’évolution de leur comportement mécanique à différents stades de leur différenciation. Dans le cadre de ma thèse une collaboration entre l’institut Prisme et le laboratoire RAMS a été initiée. Dans le cadre de cette collaboration, j’ai effectué un séjour de 4 mois aux Etats-Unis. Cette collaboration avait pour but de valider les algorithmes de simulation dynamique explicite, développés dans le cadre de cette thèse, dans une autre échelle dimension-

nelle de cellules (dimensions $\leq 10\mu m$; forces : quelques $10^{-9}N$) et pour une autre configuration cellulaire (de type de cellule adhérente).

Pour cela nous avons décidé de modéliser et caractériser expérimentalement des cellules souches embryonnaires de souris dans différents états (vivants ou fixés) et pour différents stades de différenciation (différencié et indifférencié). Les cellules souches ont en effet deux propriétés spécifiques : elles sont capables de se diviser pratiquement à l'infini, et elles peuvent se différencier en de cellules spécialisées, telles que les cellules de la peau, du cerveau ou du foie. Le premier but a été de constituer une base de données de résultats expérimentaux sur la réponse mécanique des cellules souches embryonnaires afin d'en extraire leurs propriétés mécaniques. Le second objectif a été de développer, à partir des outils de modélisation précédemment étudiés, un simulateur interactif permettant de caractériser et de prédire le changement des propriétés mécaniques (élasticité, viscoélasticité, adhésion...) pour différentes formes de cellules.

4.5.2 La microscopie à force atomique

L'outil qui nous a permis la mesure de ces propriétés mécaniques est la microscopie à force atomique (AFM Atomic Force Microscope). Cet instrument est devenu ces dernières années un outil d'analyse des surfaces de plus en plus performant et fait office de technique de référence pour la caractérisation des propriétés physico-chimiques de surface dans différentes disciplines (physique, chimie, biologie). Son développement est dû tout autant à sa simplicité et à sa souplesse d'utilisation qu'à la large gamme de ses applications (topographie, élasticité, adhésion, friction, électrochimie, organisation moléculaire...). L'AFM est en effet capable de donner des informations concernant différentes propriétés physiques de surfaces dans la mesure où sa pointe/sonde est sensible à différents types de forces dont l'intensité peut être très faible avec une plage de mesure comprise entre 10^{-10} et 10^{-6} Newton . Elle peut fonctionner dans différents milieux comme l'air, le vide ou en milieu liquide ce qui est particulièrement intéressant pour l'étude de matériels biologiques vivants.

Le principe général de la microscopie à force atomique qui appartient à la classe des microscopies à champ proche, repose sur l'interaction, contrôlée par une céramique piézo-électrique, entre une sonde de très faible dimension et une surface. L'avantage majeur de cette technique est sa grande résolution spatiale, avec comme contrepartie le fait que la *modélisation* et la *compréhension de l'interaction pointe/surface* sont généralement délicates. On peut ajouter que l'interprétation du contraste sur les images est souvent difficile.

Le dispositif expérimental utilisé dans notre étude est un AFM de type *MFP3D-BIOTM* Asylum Research Santa Barbara, CA⁷ combiné avec un système optique Olympus inversé qui permet l'imagerie et la mesure de forces d'interactions (figure 4.20). Ce dispositif expérimental ainsi que les conditions expérimentales d'indentation AFM sont présentés dans la Partie 3 de ce mémoire. Ne sont donnés dans ce section, que quelques résultats de référence permettant la validation des modèles analytiques et numériques proposés.

4.5.2.1 Modes de fonctionnement d'un microscope à force atomique (AFM)

Il existe trois modes de fonctionnement de l'AFM : le mode avec contact, le mode avec contact intermittent (tapping) et le mode sans contact.

7. <http://www.asylumresearch.com/Products/MFP-3D-BIO/MFP-3D-BIO.shtml>

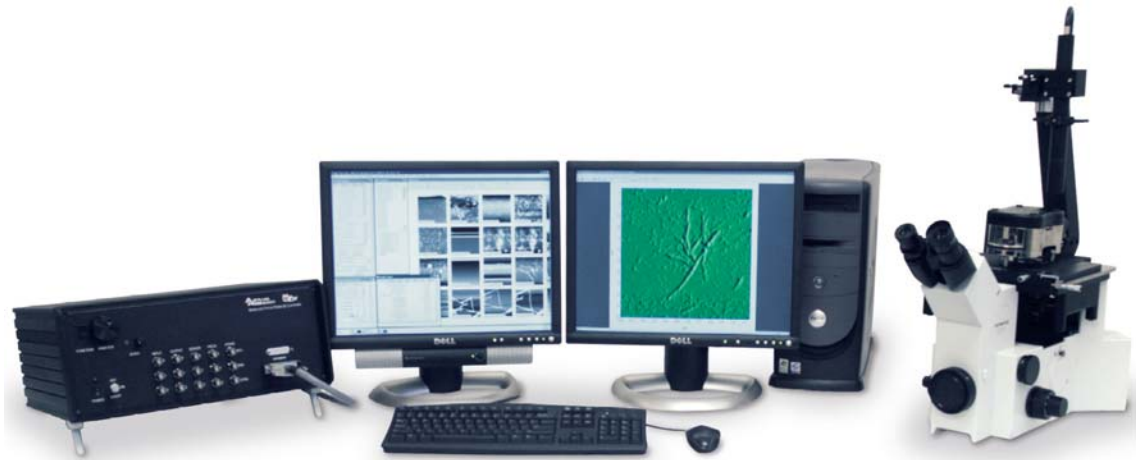


Figure 4.20 – Dispositif expérimental ; microscope à force atomique (AFM) de type MFP3D-BIO Asylum Research

Mode avec contact

En mode avec contact, la pointe supportée par une microtige est placée en contact physique avec la surface de l'échantillon. La force normale d'interaction entre la pointe et la surface est évaluée en mesurant la déflexion verticale de la microtige dont le comportement demeure élastique. Dans ce mode les forces mesurées peuvent varier de quelques nN à quelques μN . Au cours du balayage horizontal de la pointe, son altitude Z est asservie pour maintenir constante la déflexion de la tige et donc la force normale d'interaction pointe-échantillon. Les déplacements latéraux et verticaux sont enregistrés et traités par une unité de calcul (ordinateur PC) ce qui permet de générer une image 3D de la topographie de la surface.

Avantages :

- grandes vitesses de balayage ;
- haute résolution ;
- possibilité d'analyse d'échantillons présentant une fort variation de rugosité.

Inconvénients :

- La force normale due à l'interaction pointe-échantillon peut être accentuée considérablement sous air en raison d'une couche d'eau adsorbée à la surface par capillarité.
- la combinaison des forces latérales et d'une force normale élevée peut engendrer une dégradation de la résolution spatiale et un endommagement des échantillons.

Mode sans contact

Le mode sans contact est un mode dans lequel la pointe n'est pas en contact physique avec la surface d'un échantillon. Au lieu de mesurer la flèche quasi-statique de la microtige, celui-ci subit une oscillation forcée à sa fréquence de résonance à l'aide d'un petit élément piézo-électrique sur laquelle elle est fixée. L'amplitude d'oscillation est de l'ordre de quelques nano-mètres ($< 10nm$). L'asservissement de l'altitude est réalisé sur l'amplitude de vibration maintenue constante.

Avantages :

- la pointe ne modifie pas la surface de l'échantillon ;

Inconvénients :

- généralement utilisé uniquement pour des échantillons très hydrophobes où la couche d'eau adsorbée est très fine ;
- la résolution latérale est très faible en raison de l'absence de contact entre la pointe et la surface ;
- la vitesse de balayage est très lente par rapport aux autres modes ;
- très peu utilisé en pratique, parce que les forces d'interaction avec des surfaces sont très faibles et nécessitent alors un environnement à très faible bruit.

Mode avec contact intermittent (tapping)

Dans ce mode, la pointe associée à la microtuge oscille : elle s'approche, interagit puis s'éloigne de l'échantillon avec une périodicité donnée. La pointe est sensible aux forces attractives et répulsives dépendantes des propriétés chimiques et mécaniques de l'échantillon. La microtuge oscille avec une fréquence proche de celle de sa résonance (typiquement de l'ordre de quelques dizaines de kHz à quelques centaines de kHz) avec une amplitude typique de 20 à 100 nm . Au cours du balayage horizontal de la pointe, dans la plupart des cas, l'amplitude de vibration est maintenue constante par l'intermédiaire d'une boucle de contre-réaction, en ajustant l'altitude. Les déplacements latéraux et verticaux sont ensuite traités et une reconstruction 3D du relief de l'échantillon est générée automatiquement.

Le mode tapping est particulièrement approprié pour l'analyse des polymères et des échantillons biologiques. Il fonctionne également en milieu liquide.

Avantages :

- permet d'obtenir de hautes résolutions latérales (de 1 à 5 nm) ;
- les forces appliquées demeurent faibles et provoquent moins de dommages des échantillons ;
- les forces latérales sont éliminées et ne provoquent pas d'usure de la pointe par friction ;
- la durée de contact avec la surface est réduite ce qui limite également l'usure de la pointe.

Inconvénients :

- Ne permet pas de faire des balayages aussi rapides qu'en mode avec contact.

4.5.2.2 Modèles d'interaction entre la pointe AFM et une cellule biologique

Dans le cadre de la recherche de propriétés mécaniques d'une cellule, l'AFM est utilisé comme un nanoindenteur et l'on mesure l'effort exercé sur la micropoutre en fonction du déplacement vertical tout au long de l'essai qui comprend une phase d'approche, d'indentation et de retrait. Le point clef du dépouillement de mesures d'indentation réalisées avec un AFM réside dans la modélisation de l'interaction entre la pointe de l'AFM et l'objet d'étude qui permette de faire ressortir des grandeurs mécaniques associées au comportement de l'échantillon. Comme cela a été évoqué dans les chapitres précédents, la cellule présente une architecture complexe avec plusieurs constituants internes. Cet état de fait rend actuellement impossible une modélisation de tous ses composants. Cependant, on peut obtenir une connaissance préliminaire sur le comportement mécanique global d'une cellule avec une approche analytique adaptée.

Lorsque deux structures sont mises en contact sur une partie de leurs surfaces, il est important de pouvoir connaître, en fonction de la force appliquée les attributs de cet état de contact : aire de contact, distribution des contraintes, profondeur d'indentation... Ces caractéristiques dépendent principalement des propriétés mécaniques d'élasticité des deux matériaux mis en contact. Différentes théories macroscopiques du contact sont généralement utilisées pour expliquer la nature des micro/nano contacts mécaniques mis en œuvre et permettre d'interpréter les courbes d'indentation.

Théorie du contact élastique de Hertz La théorie de la déformation élastique engendrée par la mise en contact entre deux solides sphériques en l'absence d'adhésion a été étudiée par Hertz [77]. Il a considéré le problème du contact de deux sphères élastiques de rayons R_1 et R_2 . Si aucune force n'est appliquée entre les deux sphères, le contact se produit seulement en un point O (figure 4.21.(a)). Sous l'effet d'une force F , les centres des deux sphères se rapprochent d'une quantité δ (figure 4.21.(b)) et avec une zone de contact de rayon a .

Les différents hypothèses sous-jacentes au modèle de Hertz peuvent être récapitulées :

- les sphères ont un comportement élastique, isotrope et sont homogènes ;
- les déformations demeurent petites, c'est à dire que l'on doit vérifier $a \ll R$, où le a est le rayon de contact et le R est le rayon relatif de courbure donné par l'équation(4.84) ;
- absence de forces d'adhésion et de frottement
- la géométrie de contact est axisymétrique et la force F est dirigée suivant l'axe de révolution.

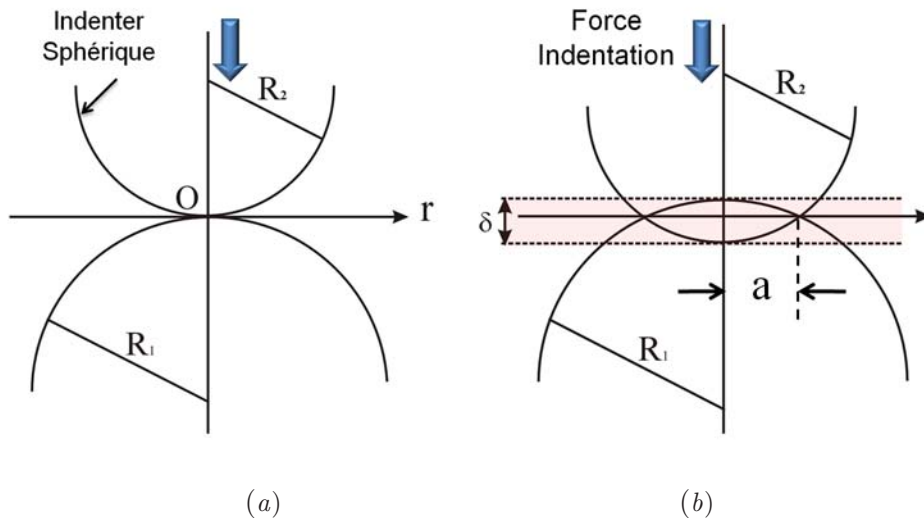


Figure 4.21 – Caractéristiques géométriques d'un contact de Hertz.

La relation entre la force d'indentation F en fonction de la profondeur de déformation, qui sera

pour nous une profondeur d'indentation, δ est définie par :

$$F = \frac{4}{3} E^* R^{\frac{1}{2}} \delta^{\frac{3}{2}} \quad (4.82)$$

où E^* représente le module d'Young relatif associé au contact qui prend en compte les caractéristiques élastiques des deux sphères en contact et est donné par :

$$\frac{1}{E^*} = \frac{1 - \nu^2}{E} + \frac{1 - \nu'^2}{E'} \quad (4.83)$$

R est la courbure relative qui peut s'écrire en fonction des rayons des deux sphères comme :

$$\frac{1}{R} = \frac{1}{R_1} + \frac{1}{R_2} \quad (4.84)$$

Avec (E_1, ν_1, R_1) et (E_2, ν_2, R_2) qui représentent le module d'Young, le coefficient de Poisson et le rayon des sphères 1 et 2 respectivement. La profondeur d'indentation élastique δ de la pointe est donné par :

$$\delta = \frac{a^2}{R} \quad (4.85)$$

Le modèle de Hertz a été largement employé par de nombreuses équipes de recherche en se basant sur une indentation AFM pour caractériser le comportement mécanique de diverses entités biologiques [183], [106].

Modèle de capsule Le modèle de capsule considère la cellule biologique comme ayant une géométrie sphérique et composée d'une membrane et d'un fluide (le cytosol du cytoplasme) [171], [105]. Ce modèle suppose que la membrane de cellules est une couche très mince et que le cytoplasme exerce une pression hydrostatique uniforme sur la membrane. Sun et al. ont développé un modèle de capsule pour caractériser les propriétés mécaniques de l'ovocyte de souris et la zone pellucide des embryons de la souris [171].

Les hypothèses sous-jacentes au modèle de capsule sont les suivantes :

- la membrane a un comportement élastique linéaire ;
- de volume de la cellules demeure constant ;
- les déformations de la membrane ne sont dus qu'aux effets de *membrane* (ou d'étirements) et les effets de flexions sont négligés ;
- la membrane est initialement libre de toute contrainte.

Considérons une micropoutre munie d'une pointe cylindrique de rayon c qui exerce une force F sur la membrane d'une cellule de rayon R , créant une dépression de rayon a associée à une profondeur d'indentation δ comme représenté sur la figure 4.22.

La relation entre la force d'indentation F en fonction de la profondeur de déformation δ est définie par [171] :

$$F = \frac{2 \pi E h \delta^3}{a^2(1 - \nu)} \left[\frac{3 - 4\zeta^2 + \zeta^4 + 2 \ln \zeta^2}{(1 - \zeta^2)(1 - \zeta^2 + \ln \zeta^2)^3} \right] \quad (4.86)$$

Avec $\zeta = \frac{c}{a}$ et où E , ν et h sont le module d'Young, le coefficient de poisson et l'épaisseur de la membrane de la cellule.

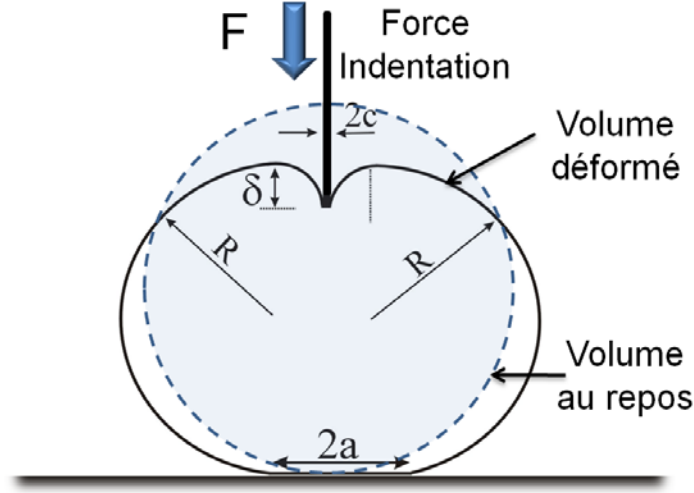


Figure 4.22 – Microlevier avec pointe cylindrique déformant une cellule biologique considérée comme une capsule : F force d'indentation et δ profondeur de déformation.

Par conservation du volume, la relation entre les différents paramètres a , δ et R s'écrit :

$$4R^3 + 3\pi a R^2 + 6a^2 R = 4R_0^3 + \frac{3\delta}{2} \left[\frac{a^2(1-\zeta^2)^2}{1-\zeta^2 + \ln\zeta^2} \right] \quad (4.87)$$

où R est le rayon actuel de la cellule (i.e. après indentation figure 4.22) et R_0 son rayon au repos (i.e. avant indentation).

Lulevitch et al. ont fait évoluer le modèle pour l'adapter à une indentation avec une pointe sphérique [105]. Les hypothèses précédentes demeurent valides sauf celle liée aux effets de flexion qui sont désormais pris en compte. En outre, le modèle suppose que dans son état déformé la cellule demeure sphérique excepté dans les zones de contact (figure 4.23).

Une mesure de la déformation relative de la cellule, notée ε est définie par :

$$\varepsilon = 1 - \frac{H}{2R_0} \quad (4.88)$$

où H est la hauteur de la cellule après indentation.

La relation entre la force d'indentation F en fonction de la profondeur de déformation δ s'écrit comme [105] :

$$F = 2\pi \frac{E}{1-\nu} h R_0 \frac{[1 + \frac{R_0}{2R_s}]^2}{(1 + \frac{R_0}{R_s})^4} \varepsilon^3 + \frac{\pi}{2\sqrt{2}} E h^2 \varepsilon^{\frac{1}{2}} \quad (4.89)$$

où E , ν et h représentent le module d'Young, le coefficient de Poisson ainsi que l'épaisseur de la membrane de la cellule. R_0 et R_s sont les rayons de la capsule et de la pointe sphérique.

L'équation (4.89) présente deux termes, Le premier terme représente la contribution due au comportement en membrane et le second terme celle due au comportement en flexion.

Ce modèle a été initialement développé pour l'étude de microcapsules de polyélectrolytes (polymères) puis utilisé aussi pour déterminer le module d'Young de cellules vivantes [107].

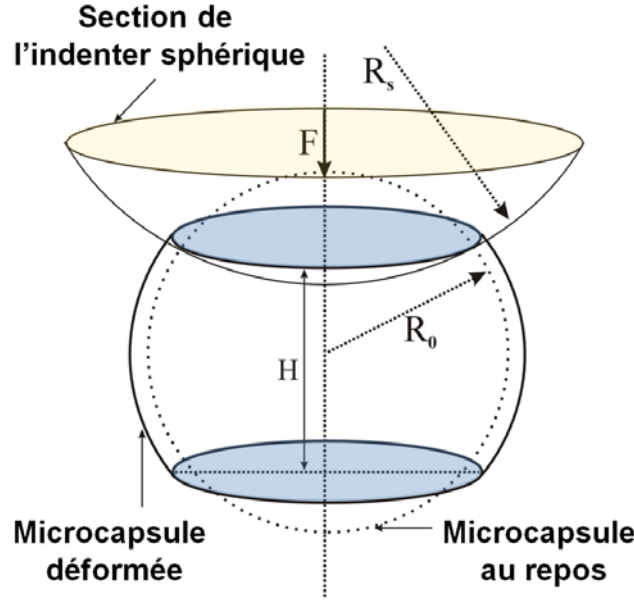


Figure 4.23 – Modèle de capsule basé sur le contact entre deux sphères.

Prise en compte de forces d'adhérence Les modèles de contact présentés précédemment ne prennent pas en compte la présence éventuelle de forces d'adhésions. Si de telles forces sont présentes et non négligeables, l'allure de la courbe d'indentation sera fortement altérée lors de la phase de décharge (figure 4.31).

Nous présentons ci-dessous deux modèles développés pour prendre en compte ces forces d'adhésion :

– **Modèle JKR**

Le modèle JKR est un modèle adapté au cas du contact de solides mous, fortement déformables qui présentent des surfaces à faible courbure et à énergie d'adhésion élevée (par exemple les cellules biologiques). Le modèle repose sur l'hypothèse que les forces d'attraction intermoléculaires induisent des déformations élastiques supplémentaires et engendrent une aire de contact supérieure à celle prévue par la théorie de Hertz. Pour le cas du contact entre deux sphères, la prise en compte de l'adhésion donne la rayon de contact a comme suit :

$$\left\{ \begin{array}{l} a^3 = \frac{3R}{4E^*} (F + 3\pi R w + \sqrt{6\pi R w F + (3\pi R w)^2}) \\ \delta = \frac{a^2}{R} - \sqrt{\frac{2\pi w a}{E^*}} \\ P_{off} = \frac{3}{2}\pi R w \end{array} \right. \quad (4.90)$$

Avec W l'énergie d'adhésion, δ représente la déformation d'indentation et P_{off} représente la force d'adhérence :

– **Modèle DMT**

Le modèle DMT convient à des solides peu déformables dont les surfaces sont fortement courbées et caractérisées par une faible énergie d'adhésion W . Ce modèle suppose que les forces d'attraction intermoléculaires agissent exclusivement à l'extérieur de l'aire de

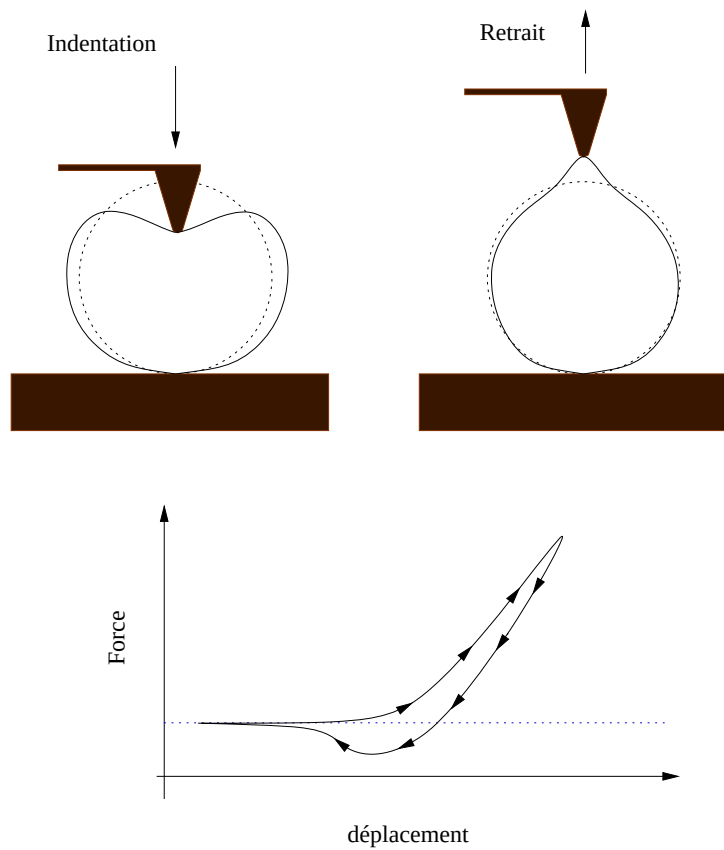


Figure 4.24 – Réponse caractéristique de la présence de forces d'adhésions lors d'un essai de microindentation

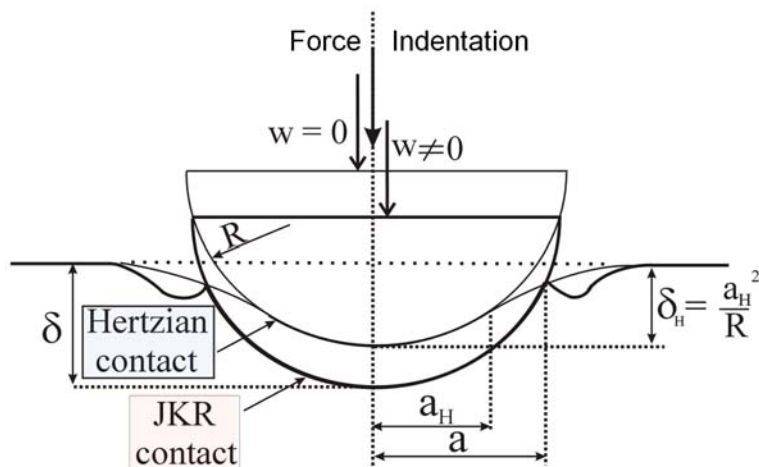


Figure 4.25 – Schéma descriptif du modèle JKR : en absence d'adhérence $W = 0$, la théorie de JKR se ramène à la théorie de Hertz classique

contact, sans modifier le profil Hertzien de déformation. Elles induisent une augmentation de la compression à l'intérieur de la zone de contact. Le rayon de contact est alors

donné par :

$$\begin{cases} a^3 = \frac{3R}{4E^*}(F + 3\pi R w + 2\pi R w) \\ \delta = \frac{a^2}{R} \\ P_{off} = 2\pi R w \end{cases} \quad (4.91)$$

Néanmoins, la théorie DMT sous-estime la valeur du rayon de contact, du fait de la considération d'une géométrie hertzienne.

- D'autres modèles ont également été développés pour étudier le contact entre deux objets [146]. Le modèle Dugdale [175], qui a montré que les deux modèles JKR et DMT sont deux cas limites d'un modèle plus large, sachant que le modèle JKR néglige les forces d'attraction à l'extérieur de la zone de contact, tandis que le modèle DMT ne tient pas compte des déformations induites par les forces d'adhésion. La transition entre les deux modèles DMT et JKR a également été étudiée analytiquement par [112].

Nous avons illustré une revue de différents modèles analytiques d'étude du contact qui peuvent permettre de déterminer un module d'élasticité global pour une cellule. Ces modèles vont pouvoir être utilisés pour dépouiller les essais expérimentaux à l'AFM et nous fournir des paramètres d'élasticité pour nos simulations.

4.5.3 Méthodologie de comparaison

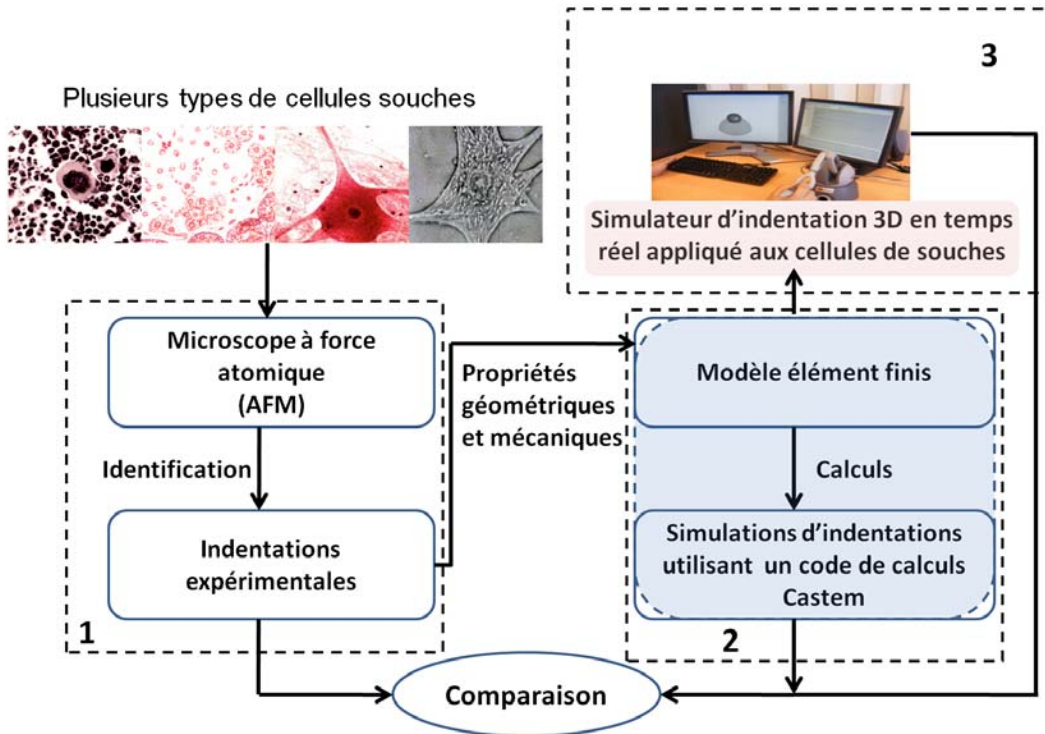


Figure 4.26 – Méthodologie de comparaison entre les données expérimentales issues de mesures d'AFM et les simulations issues de la méthode éléments finis.

Nous avons profité des essais réalisés à l'AFM pour effectuer des comparaisons supplémen-

taires. Le code d'éléments finis industriels Cast3M⁸ a été utilisé pour réaliser des simulations numériques par la méthode des éléments-finis. Ce code éprouvé fait appel à une résolution implicite des équations de mouvement avec un schéma de Newmark à accélération moyenne inconditionnellement stable (voir paragraphe 4.2.5.1). Les résultats obtenus avec ce code nous permettront de "*qualifier*" notre code explicite.

La figure 4.26 illustre la méthodologie retenue pour réaliser les comparaisons qui peut se décomposer en trois étapes :

- la première étape est basée sur les mesures expérimentales en utilisant la microscopie à force atomique appliquée aux cellules souches embryonnaires (EC) de souris. Dans cette partie, on réalise une campagne de tests et des mesures d'indentations sur différents types de cellules et à différents stades de leur développement (cellules fixées ou vivantes, différenciées ou indifférenciées, après 1 journée, 3 jours, 6 jours de différenciation...) ⁹. Toujours dans la première partie, nous allons déterminer les propriétés mécaniques (module d'élasticité) et géométriques (dimensions) des cellules indentées afin de disposer de données pour nos simulations numériques avec le code Cast3M (résolution numérique implicite) ou avec notre simulateur d'indentation (résolution numérique explicite). Les différents modèles analytiques de contacts pointe AFM/cellule seront ensuite appliqués afin de déterminer celui qui nous semble le plus approprié pour nos données expérimentales.
- la deuxième partie consiste en une phase de simulation "*off-line*" utilisant le code de calcul par éléments finis Cast3M. Les paramètres du modèle de comportement mécanique utilisé sont ceux déduits du dépouillement réalisé dans la Partie 1. A l'issue de cette étape, une première comparaison entre les résultats expérimentaux et ceux issus de la simulation est réalisée ;
- la troisième partie consiste en une phase de simulation "*temps réel* (ou "*on-line*") utilisant notre simulateur. Ici encore, les paramètres de comportement sont ceux issus de la première étape. A l'issue de cette étape une double comparaison est réalisée entre :
 - simulation numérique EF et simulation masses-tenseurs :
phase de qualification du simulateur
 - simulations numériques et expérience :
phase de validation des modèles

Cette troisième partie nécessite de développer une stratégie de détection de contact et d'interaction haptique en temps réel sera terminée et finalisée dans la partie modélisation des interactions.

4.5.4 Caractérisation géométrique et mécanique des cellules

Plusieurs séries de mesures ont été réalisées pour évaluer les propriétés géométriques et mécaniques des cellules souches embryonnaires (EC) de souris indifférenciées vivantes et fixées. La connaissance et la mesure de la géométrie et de la morphologie du réseau cellulaire est une étape primordiale précédant la modélisation. La géométrie des cellules a été déterminée en utilisant la microscopie à force atomique.

8. Programme développé au Commissariat à l'Energie Atomique (CEA - DEN/DM2S/SEMT), <http://www-cast3m.cea.fr>

9. Nous ne présenterons dans ce mémoire que certains résultats portant sur des cellules vivantes et fixées non différenciées.

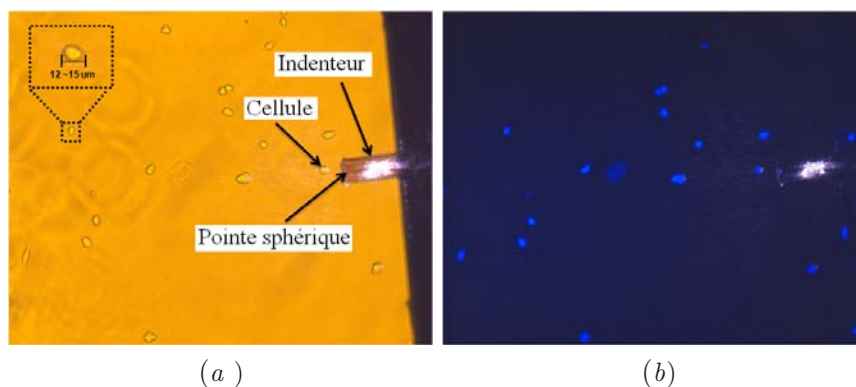


Figure 4.27 – Images de cellules souches embryonnaires de souris : (a) image obtenue par microscopie optique et (b) image obtenue par fluorescence.

Caractérisation des propriétés géométriques : diamètre et hauteur de la cellule.

Une campagne de mesures sur plusieurs cellules à différents stades de différenciation a été

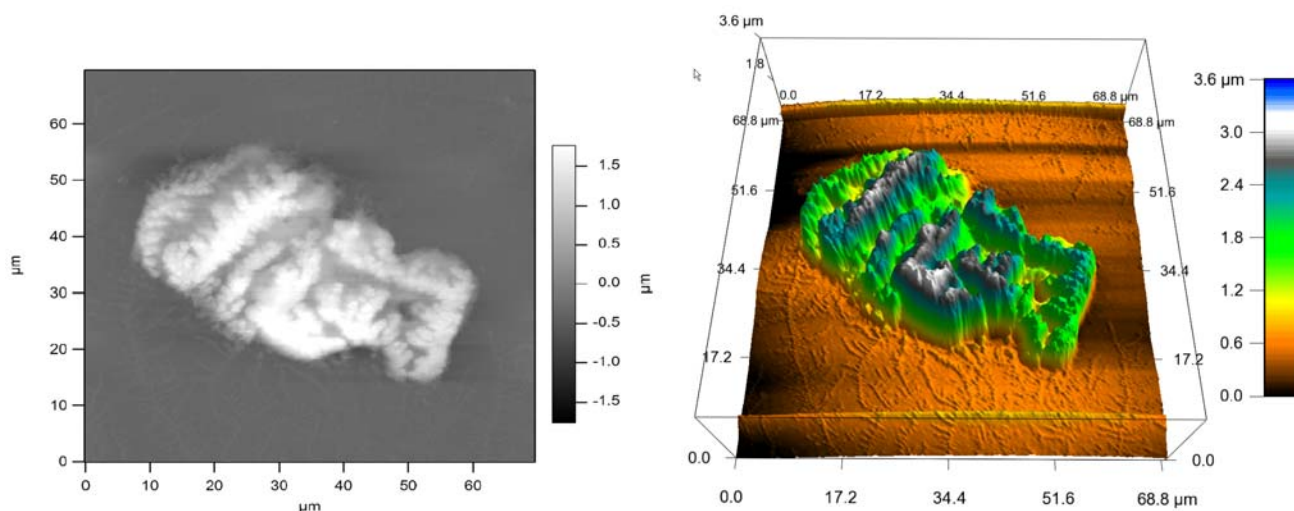


Figure 4.28 – Image d’une colonie de cellules EC en 2D et 3D.

réalisée. Ces mesures sont des tests d’indentations réalisés en appliquant une force sur la cellule à une profondeur donnée et en enregistrant l’évolution de l’effort en fonction de la profondeur (force/distance). La figure 4.27 présente une culture de plusieurs cellules EC visualisées sous un microscope optique ainsi que la même vue obtenue par fluorescence.

Dans un premier temps, nous avons essayé d’obtenir directement la géométrie 3D de la cellule en utilisant le mode contact (imaging scan) de l’AFM mais cette procédure a été abandonnée en raison de difficultés liées à l’utilisation de ce mode dans un milieu liquide : lors de chaque essai, des résidus et des protéines venaient se coller à la pointe ce qui faussait complètement les mesures. Néanmoins, nous sommes parvenus à obtenir une image d’une colonie de cellules (figure 4.28). Cette première acquisition nous fournit une première information sur la topologie d’une combinaison de plusieurs cellules EC.

Cependant, nous avons opté pour une autre stratégie de mesure, basée sur des algorithmes de traitement d’images disponibles dans le logiciel commercial IGOR Pro d’*Asylum Research*. Ces algorithmes déterminent la mesure des deux diamètres d’une cellule biologique de forme ovoïde.

Pour faciliter les mesures nous avons sélectionné des cellules quasi-circulaires (les deux diamètres ont des valeurs très proches). Une fois la surface de contact avec le substrat déterminée, nous

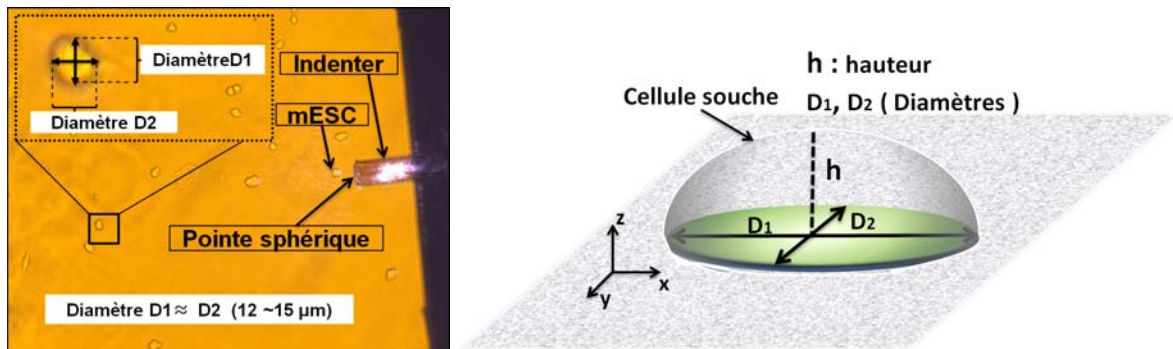


Figure 4.29 – Mesure du diamètre et de la hauteur d’une cellule souche par microscopie à force atomique.

allons mesurer la hauteur de la cellule. Pour y parvenir, deux relevés de force/indentation sont nécessaires. Le premier test est effectué sur le substrat rigide où repose la cellule à étudier. Cette courbe de calibration force/indentation permet de déterminer exactement la hauteur de la cellule h_0 . Un deuxième test d’indentation est effectué au centre de la cellule afin d’obtenir la hauteur maximale h_1 (figure 4.30). A partir de ces deux mesures, la hauteur de la cellule est obtenue par différence : $h = h_0 - h_1$.

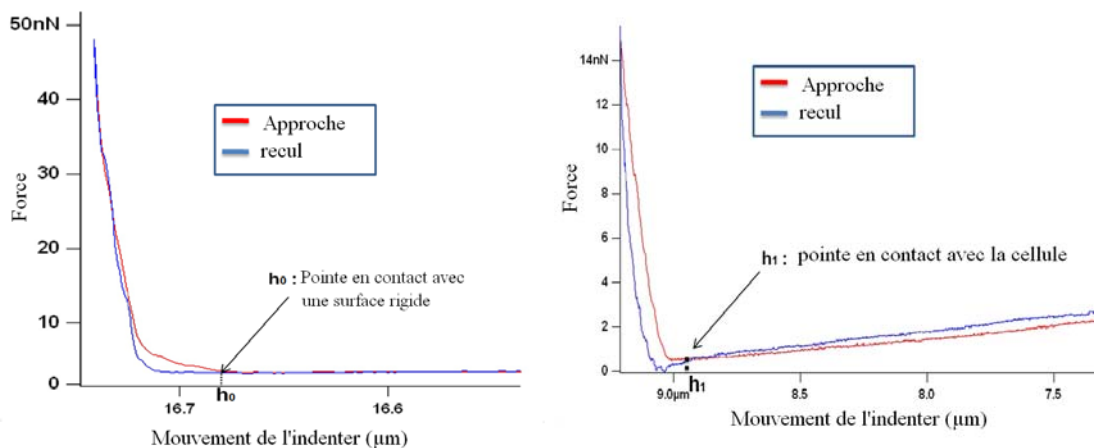


Figure 4.30 – Détermination de la hauteur d’une cellule par double mesure $h = h_0 - h_1$.

Le tableau suivant 4.6 résume les différents résultats de mesure obtenus pour des cellules souches embryonnaires de souris dans les états vivants et fixés.

Caractérisation des propriétés mécaniques : choix du modèle analytique de contact

Nous décrivons dans cette section la méthodologie adoptée pour réaliser l’identification expérimentale des propriétés mécaniques des cellules étudiées, en particulier le module d’élasticité (module d’Young) dans le cas de cellules vivantes et fixées indifférenciées.

<i>Cellules</i>	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
<i>Hauteurs (cellules vivantes)</i>	3.7	3.65	3.9	4.1	3.2	3.4	4.4	3.7	4.7	3.7
<i>Hauteurs (cellules fixées)</i>	5.7	7.2	6.7	6.1	6.05	7.6	6.77	6.27	5.22	5.62

Tableau 4.6 – Hauteur pour chaque cellule souche non différenciée, des cellules fixées et vivantes.

Dans un premier temps, nous nous sommes intéressés aux modèles de contact prenant en compte les forces d'adhésion, c'est-à-dire les modèles JKR et DMT. En analysant les résultats obtenus, nous n'avons pas observé de forces d'adhésion significatives sur la plupart des tests d'indentation AFM effectués. Dans les cas où une force adhésion était mise en évidence lors de la phase de retrait de la pointe AFM (2 cas sur une population de 150), la valeur de cette force restait très faible (de l'ordre de 0.2 à 0.4 nN). Afin d'illustrer ces propos, nous présentons à la Figure 4.31.(b) un des rares exemples d'adhésion mesurés. De manière générale, la courbe présente dans son ensemble une forme altérée par rapport aux autres cellules, ce qui nous amène à penser que l'ensemble de l'essai est à rejeter en raison d'une probable usure de la pointe sphérique. Par conséquent, nous n'utiliserons pas les modèles JKR et DMT pour identifier les paramètres d'élasticité.

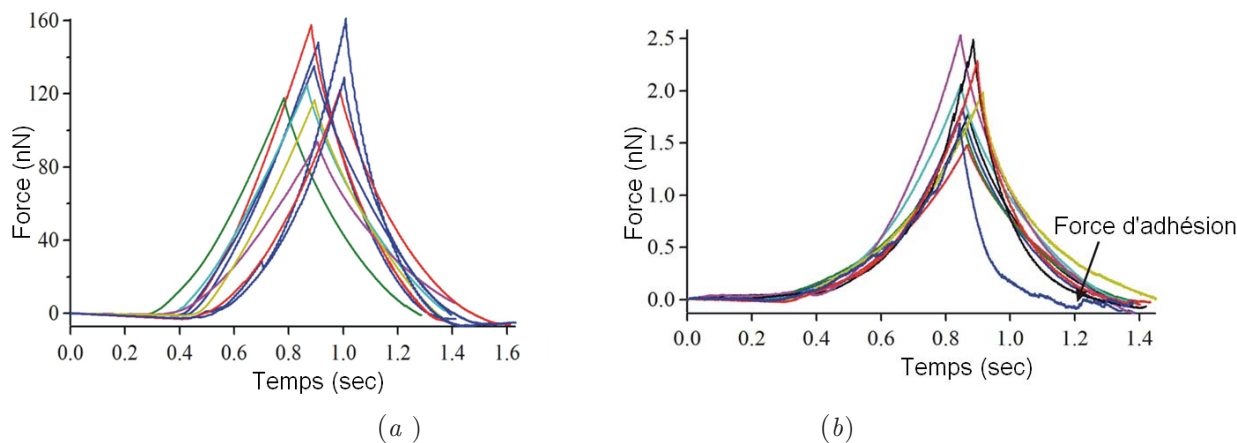


Figure 4.31 – Évolution de la force en fonction du temps : (a) cellules fixées et (b) cellules vivantes

Dans un deuxième temps, nous avons utilisé les modèles de contact de Hertz et capsule. Compte-tenu du fait que le modèle de Hertz suppose que les déformations demeurent faibles, nous avons identifié le module de Young sur la première partie des essais, c'est-à-dire pour de faibles profondeurs d'indentation. Les résultats présentés dans les figures 4.32(a), 4.32(b) et 4.33(a), 4.33(b) font une comparaison entre les modèles analytiques de Hertz et capsule appliqués à nos résultats expérimentaux. Ces essais ont été réalisés pour une faible profondeur d'indentation et pour un essai complet.

À l'évidence, nous remarquons que le modèle de Hertz donne de meilleurs résultats pour l'ensemble des courbes expérimentales, que ce soit dans le cas de cellules vivantes ou fixées. Même si cela apparaît clairement graphiquement, nous avons néanmoins calculé les écarts-types pour chaque cellule afin de confirmer ce constat. Les tableaux suivants 4.7, 4.8 résument les différents écarts-types obtenus par les modèles de Hertz et capsule.

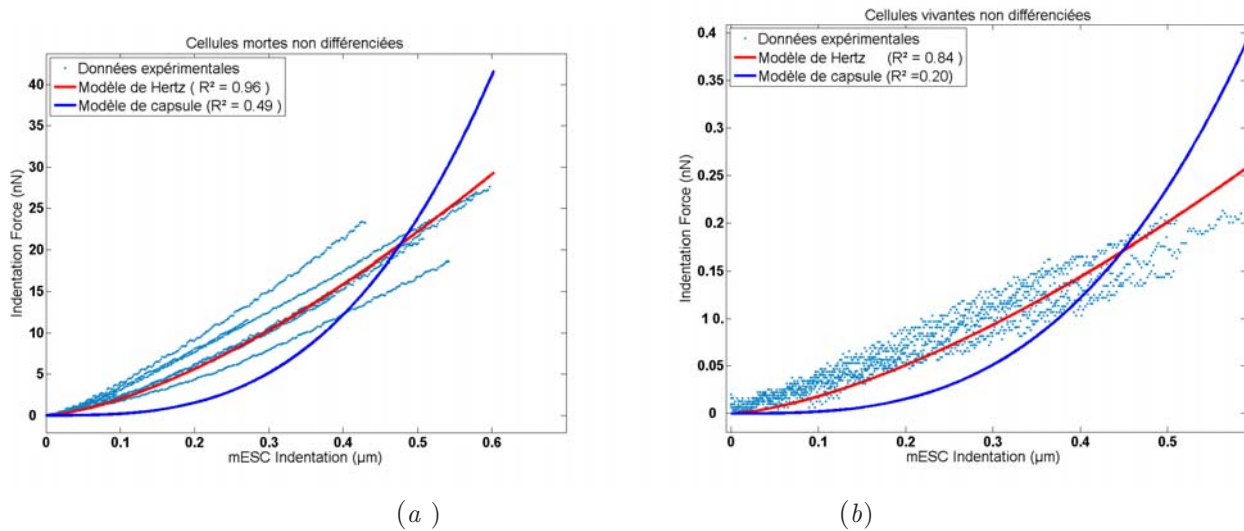


Figure 4.32 – Comparaison entre la réponse des modèles analytiques et les données expérimentales pour de petites déformations.

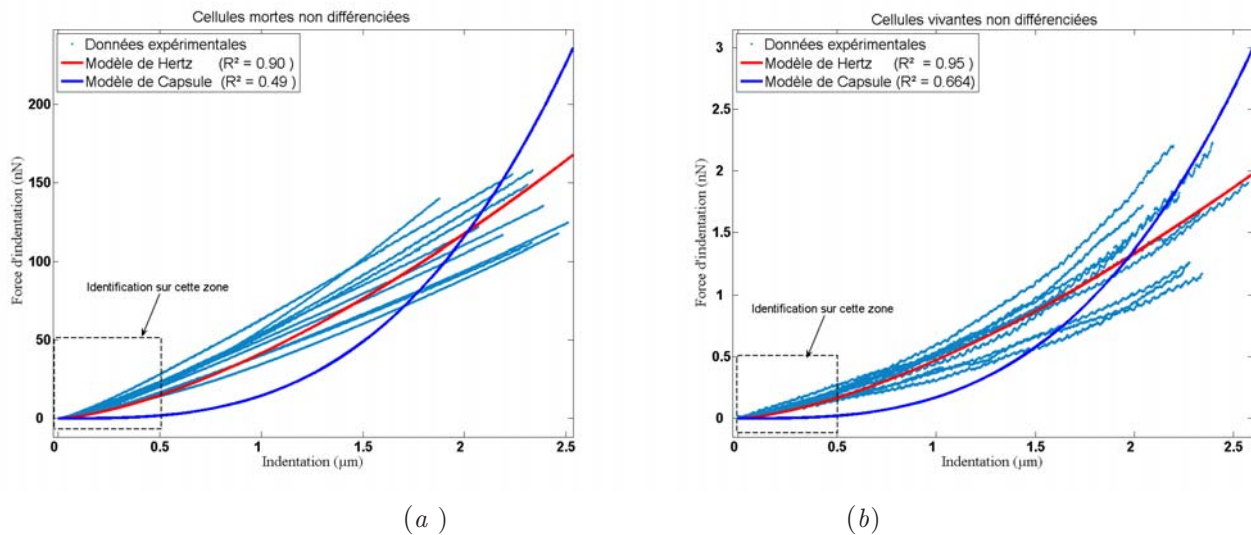


Figure 4.33 – Comparaison entre la réponse des modèles analytiques et les données expérimentales sur toute la plage d'indentation.

Pour l'ensemble des essais, nous constatons que les résultats d'identification obtenus avec le modèle de Hertz approchent au mieux les déformations de la cellule. En conclusion, le modèle de contact de Hertz sera choisi pour le calcul du module d'élasticité dans la suite de nos simulations en considérant la cellule comme un solide élastique homogène.

Les figures 4.34(a), 4.34(b) montrent les moyennes des modules d'Young calculés pour les cellules vivantes et fixées.

Tableau 4.7 – Écarts-types obtenus avec les modèles de Hertz et de capsule pour des cellules souches embryonnaires fixées indifférenciées.

Cellules	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
$R^2(Hertz)$	0.96	0.99	0.96	0.99	0.98	0.96	0.98	0.98	0.95	0.97
$R^2(Capsule)$	0.48	0.73	0.48	0.67	0.58	0.52	0.59	0.61	0.46	0.56

Tableau 4.8 – Écarts-types obtenus avec les modèle de Hertz et de capsule pour des cellules souches embryonnaires vivantes indifférenciées .

Cellules	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
$R^2(Hertz)$	0.99	0.98	0.99	0.99	0.98	0.99	0.98	0.99	0.98	0.98
$R^2(Capsule)$	0.68	0.82	0.80	0.68	0.79	0.74	0.73	0.90	0.64	0.65

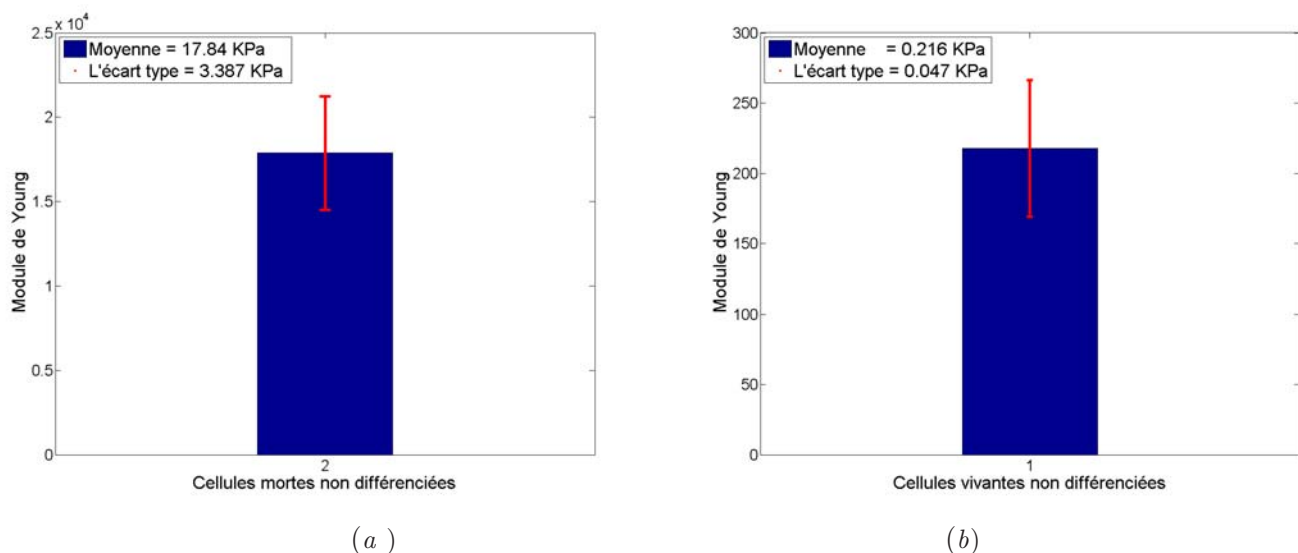


Figure 4.34 – Moyenne des modules élastiques (modules d'Young) estimés par le contact de Hertz : (a) cellules fixées indifférenciées et (b) cellules vivantes indifférenciées.

4.5.5 Simulations éléments-finis statiques et masses-tenseurs dynamiques

Nous présentons dans cette section les résultats de simulations de la réponse à l'indentation de cellules EC de souris vivantes ou fixées. Ces simulations sont obtenues au moyen, d'une part, d'un calcul statique implicite avec un code de calcul commercial Cast3M, et d'autre part, d'un calcul dynamique explicite avec notre code EF masses-tenseurs. Les caractéristiques géométriques des maillages et les propriétés mécaniques sont issues de la campagne d'essais que nous venons de détailler. Nous analyserons et comparerons les résultats issus des simulations

(numériques et temps réel) avec ceux issus des expériences d'indentation AFM. Il est important de noter que les simulations numériques avec le code Cast3M ont été réalisées dans le cas d'une configuration axisymétrique. De plus, plusieurs topologies de maillages, de plus en plus précises, ont été considérés en vue d'assurer la convergence du code EF implicite.

Les figures 4.35, 4.36 montrent une comparaison entre les résultats des simulations et les mesures expérimentales pour des cellules vivantes et fixées. Ces courbes reproduisent la force exercée lors d'une indentation en utilisant une pointe sphérique en fonction de la profondeur d'indentation.

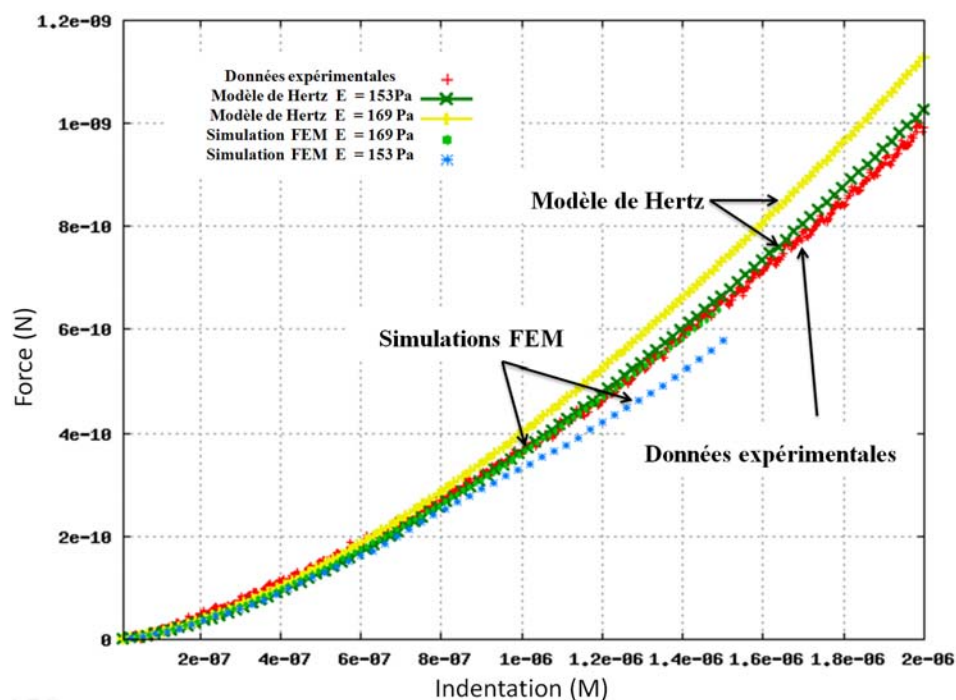


Figure 4.35 – Comparaison des réponses force d'indentation / profondeur d'indentation entre simulation EF, modèle de Hertz et résultats expérimentaux pour des cellules EC *vivantes* indifférenciées : identification sur tout l'essai $E = 153\text{Pa}$, identification en HPP $E = 169\text{Pa}$.

Une confrontation des simulations éléments-finis Cast3M et des résultats de l'expérience met en évidence l'importance de bien choisir la plage d'identification du module d'Young.

- Si le module d'Young est identifié pour les faibles déformations (conformément à la théorie de Hertz), l'adéquation entre réponse EF et expérience est excellente jusqu'à divergence du calcul éléments-finis provoquée par une distorsion trop forte du maillage sous l'indenteur ;
- A l'inverse, lorsque le module d'Young est identifié sur la totalité de l'essai, on observe un phénomène trompeur : la simulation numérique s'éloigne de la réponse expérimentale qui semble coïncider avec le modèle de Hertz mais en fait l'écart en début d'essai (là où la théorie de Hertz peut s'appliquer) est considérable.

Les observations réalisées sont similaires que l'on travaille sur des cellules vivantes ou des cellules fixées.

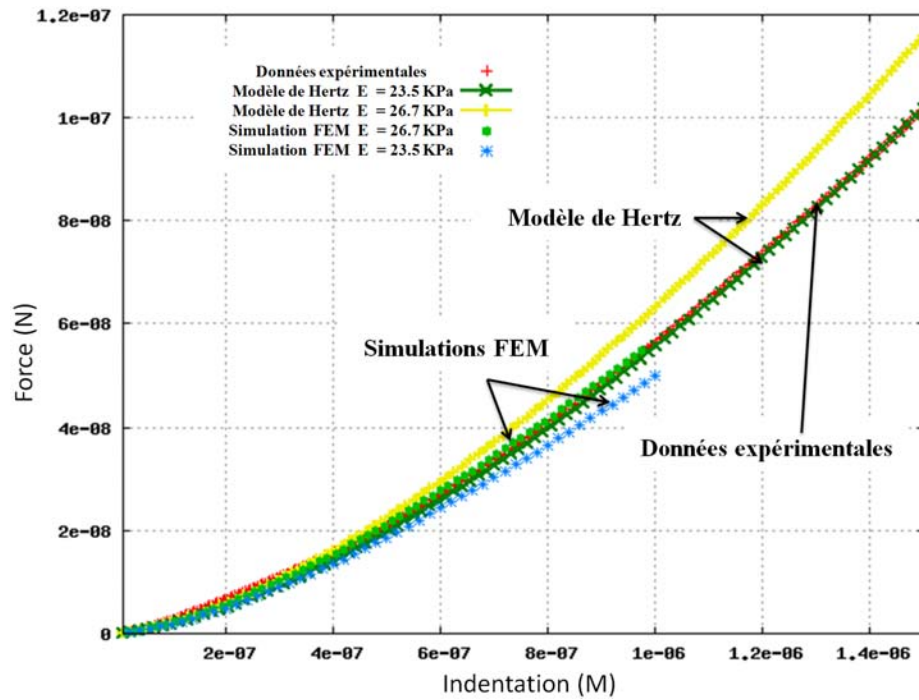


Figure 4.36 – Comparaison des réponses force d’indentation / profondeur d’indentation entre simulation EF, modèle de Hertz et résultats expérimentaux pour des cellules EC *fixées* indifférenciées : identification sur tout l’essai $E = 23.5\text{KPa}$, identification en HPP $E = 26.7\text{KPa}$.

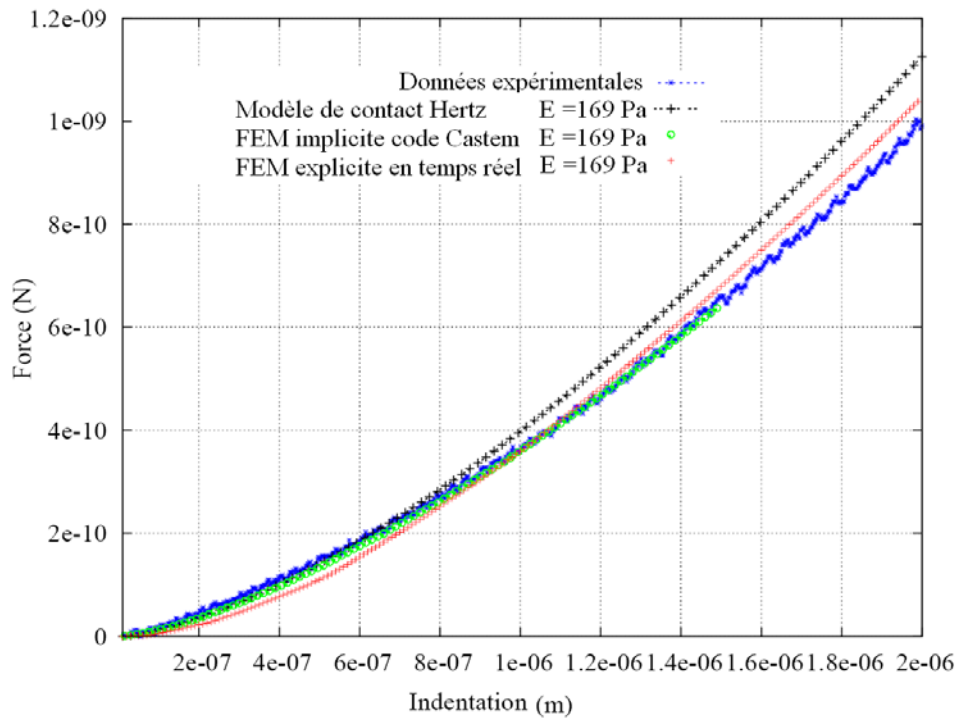


Figure 4.37 – Comparaison entre les données expérimentales ainsi que les différentes simulations en éléments finis pour les cellules vivantes.

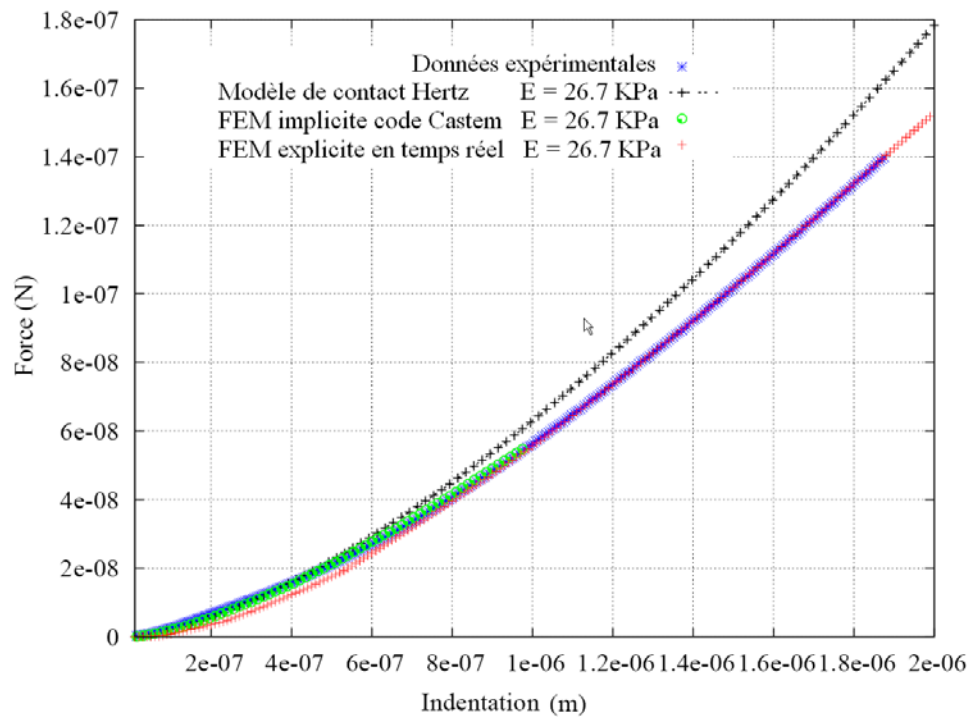


Figure 4.38 – Comparaison entre les données expérimentales ainsi que les différentes simulations en éléments finis pour les cellules fixées.

Les figures 4.38, 4.38 présentent une autre comparaison entre les données expérimentales, les données des simulations issues de notre code dynamique explicite et celles obtenues avec Cast3M. Ces résultats attestent de la bonne adéquation des deux types de simulation : quasi-statique implicite 2D ou dynamique explicite 3D. On observe un écart relativement marqué sur le début de l'indentation. Il s'explique par la différence de densité de maillage, assez grossier pour notre code explicite, qui engendre une moins bonne évaluation de la surface en contact. Les figures 6.25 illustrent ces différences de maillage et les déformations en EF 2D et en masses-tenseurs 3D pour plusieurs profondeurs d'indentations.

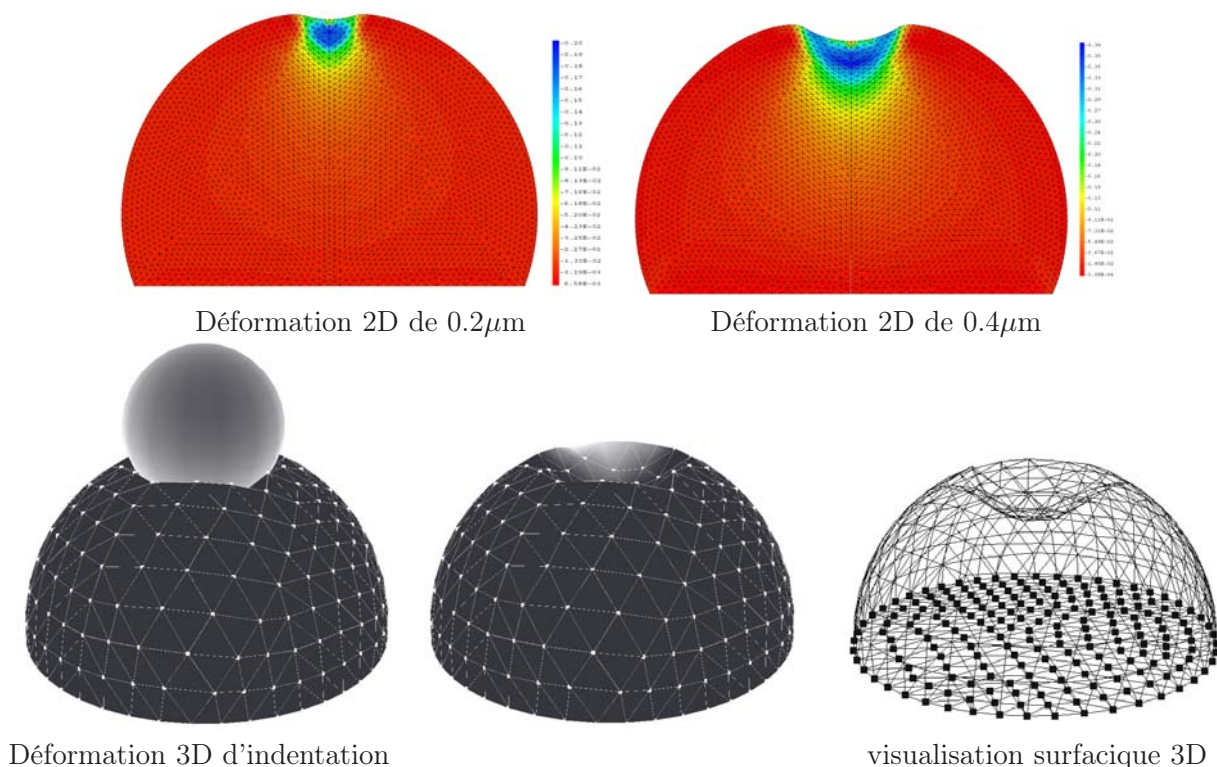


Figure 4.39 – Déformation éléments finis 2D et 3D d’une cellule souche en utilisant une pointe d’indentation sphérique.

4.6 Conclusion

Dans ce chapitre, nous avons présenté différentes modélisations de cellules biologiques qui ont été utilisées pour deux types d’applications différentes : la microinjection cellulaire ICSI où les cellules modélisées sont de type ovocyte et la nanoindentation utilisant la microscopie à force atomique où les cellules étudiées sont des cellules souches embryonnaires de souris. Nous avons décrit dans un premier temps les différentes étapes de modélisation et construction d’un modèle éléments finis du type masses-tenseurs. Nous avons ensuite adapté ce modèle pour pouvoir l’appliquer à la modélisation d’un cytosquelette ou d’une cellule soumise à des grands déplacements.

Des études expérimentales réalisées sur les cellules souches ainsi que sur les ovocytes nous ont permis à la fois d’obtenir des données indispensables à la modélisations que sont les propriétés mécaniques et géométriques des cellules étudiées et de vérifier aussi que les modèle développés durant cette thèse permettent effectivement de reproduire qualitativement (rendu visuel de la déformée) et quantitativement (efforts exercés sur la micropipette ou l’indenteur) le comportement mécanique d’une cellule biologique avec une bonne précision.

Afin de compléter notre étude, nous allons exposer dans la suite de ce mémoire, les modèles d’interaction en temps réel adaptés et couplés à nos modèles de déformations mécaniques. Une méthodologie et une architecture logicielle et matérielle sera présenté afin d’introduire les interactions haptiques en utilisant une interface à retour d’effort. Le simulateur SIMIC (Simula-

teur Interactif de Micro Injection Cellulaire) développé sera présenté en soulignant ses différentes fonctionnalités. Une adaptation de cette plate-forme qui nous permettra de le transformer en un simulateur d'indentation d'AFM 3D, outil de prédiction et de caractérisation du comportement ou de l'état de cellules souches.

Partie III - Modélisation des Interactions

Modélisation des Interactions en temps réel

5.1 Introduction

Le chapitre est organisé en deux parties : dans un premier temps, nous présentons une revue générale des méthodes les plus connues dans le domaine de détection de collisions pour les objets solides et déformables, suivi par une description des différentes stratégies d'accélération du temps de calculs, que se soit, des stratégies algorithmiques ou des stratégies matérielles. Pour le traitement des multi contacts, nous présentons une brève description des différentes catégories et méthodes de détection de collisions multiples.

Nous illustrons et nous détaillons les deux algorithmes mis en oeuvre et intégrés dans nos développements, à savoir le développement d'un simulateur d'injection cellulaire (détection de collision entre la micropipette et l'ovocyte) et un simulateur d'indentation d'AFM, basé sur le contact entre une pointe sphérique et une surface cellulaire discrétisée en éléments triangles.

Pour sécuriser et faciliter le geste opératoire durant la puncture, nous proposons une approche pour remédier aux problèmes d'instabilités haptiques basé sur la notion de couplage virtuel entre l'interface haptique et le modèle virtuel 3D. De plus, nous proposons à l'opérateur des guides virtuels basés sur des contraintes de mouvements afin de faciliter et guider au mieux son geste durant la phase d'injection.

5.2 Détection de collision

La détection de contact est l'étape la plus critique dans une simulation dynamique. Elle consiste à détecter s'il existe un instant où les deux objets ont une intersection non vide. Soit on échantillonne les trajectoires au cours du temps et on considère les intersections à des instants discrets de la simulation. Soit au contraire, on s'intéresse à l'évolution au cours du temps, et on cherche l'instant où le contact se produit [10].

Plusieurs algorithmes et bibliothèques ont été proposés dans la littérature, les disciplines concernées sont vastes qu'il est difficile d'être exhaustif sur ce sujet. Une classification assez générale des différentes familles de méthodes de détection de collision a été proposée par [118]. Pour une présentation plus détaillée, on pourra se référer au rapport issu de l'AS Collision [119], et à une revue des méthodes adaptées aux objets déformables proposée dans [75], [179], [46].

Il n'existe pas aujourd'hui un algorithme universel. Chaque application ou domaine de recherche possède ses exigences. On peut trouver dans la littérature beaucoup d'algorithmes pointus et très spécifiques. Citons certains critères permettant de choisir un algorithme de détection de collisions :

1. Complexité géométrique de la scène et des objets ainsi que la nature des géométries simulées : nombre d'objets dans une scène, nombre des primitives élémentaires d'un objet et la nature des primitives élémentaires qui constituent la définition géométrique des objets simulés (points , arrêtes, triangles...)
2. La mémoire exigée par l'algorithme pour stocker des résultats intermédiaires ou les données utiles.
3. La robustesse ainsi que la stabilité
4. Compromis entre la précision et le temps de calcul.

Nous proposons par la suite une présentation non-exhaustive des concepts et techniques les plus communément utilisés dans le cadre de simulations répondant aux caractéristiques citées précédemment. Il est possible de répartir les méthodes de détection de collisions en deux grandes catégories :

- Les approches de détection spatiale (*méthode statique*), tel que les méthodes d'intersection vide, la distance inter-objets, intersection des surfaces ainsi que la mesure des interpénétrations. Ces méthodes sont généralement moins coûteuse en temps de calcul, mais l'analyse de la robustesse montre que c'est un sujet de recherche épineux [118].
- Les approches spatio-temporelles n'exploitant que l'intersection 3D sont qualifiées de discrètes car elles examinent le système à des instants donnés. Les autres approches spatio-temporelles sont dites continues car toute la trajectoire est examinée. Dans cette dernière catégorie, les approches géométriques par intersection de volume de trajectoire 3D ou de volumes extrudés 4D font intervenir des formes complexes entraînant des algorithmes généralement coûteux en temps. Par ailleurs, les approches analytiques sont cantonnées à des formes très simples comme des polyèdres à faces triangulaires.

5.2.1 Algorithmes basés sur la gestion de la complexité géométrique

D'une manière générale, une tâche de détection de collisions, visant à fournir au solveur dynamique les informations géométriques matérialisant les contacts entre objets, est généralement décomposée en trois sous-tâches (voir la figure 5.1). Les deux premières tâches de ce cycle sont assimilables à des filtres plus ou moins grossiers destinés à réduire l'espace géométrique considéré lors de la phase de détermination des informations de contact.

Dans un premier temps, les paires de modèles susceptibles d'entrer en collisions (*broad phase*), puis, dans un deuxième temps, les zones géométriques (*narrow phase*) à prendre en compte pour la détermination des informations de contacts. Les algorithmes de détection des intersections sont en général très coûteux en temps de calculs. Par exemple, l'intersection géométrique de surfaces triangulées déformables nécessite l'exécution d'un test d'intersection triangle-triangle pour toutes les paires de triangles. De ce fait, une large part des recherches menées sur la détection des intersections s'est concentrée sur l'accélération de la phase de détection des intersections rendant prohibitif toute interaction temps-réel possible. Les méthodes d'accélération ont deux objectifs :

- l'établissement rapide de la non-intersection de deux objets composés de nombreuses primitives

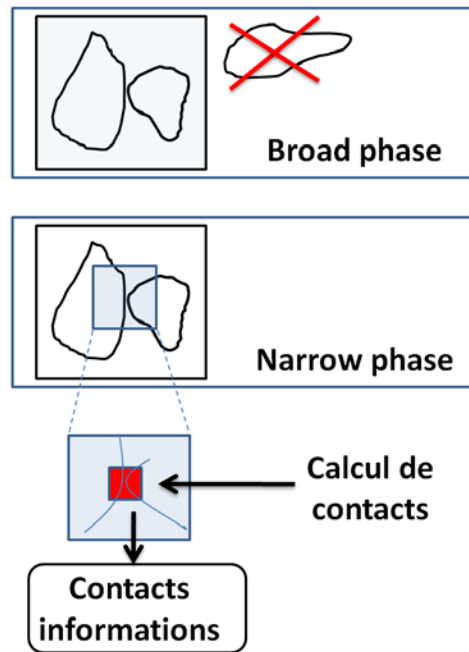


Figure 5.1 – Les différents cycles de détection de collisions.

- la localisation des primitives effectivement en intersection.

5.2.1.1 Recherche de proximité : subdivision spatiale

Différentes stratégies d'accélération du temps de calcul se basent sur le découpage de l'espace. Ces techniques consistent à subdiviser l'espace géométrique en un ensemble de régions afin d'être en mesure d'identifier les paires d'objets susceptibles d'entrer en collision. Un premier groupe de méthodes, divise l'espace en une grille uniforme ou variable en taille [42]. Cependant, une autre façon est de représenter l'espace par des arbres hiérarchiques. Les *octrees* et les arbres binaires de recherche (BSP "binary space partition") sont souvent utilisés [59]. Avec ce type de formalisme, les régions obtenues sont de forme cubique et leur décomposition hiérarchique consiste en un découpage en huit sous-boîtes identiques, découpage réalisé selon les axes principaux de la scène (voir la figure 5.2).

D'autres algorithmes basés sur des critères topologiques, consistent en l'établissement d'une carte de proximité contenant l'ensemble des distances minimum globales séparant les objets. Aussi, les tests inhérents à la détection des collisions seront uniquement effectués au sein des paires d'objets présentant une proximité importante. Afin d'établir efficacement une pseudo-carte de proximité, il est envisageable d'appliquer des algorithmes basés sur les domaines de Voronoï (voir la figure 5.3)[80].

Les éléments géométriques contenus dans le domaine de Voronoï d'un objet sont plus proches de celui-ci que de tout autre objet au sein de la scène. L'une des limites de ce type d'approche réside dans la mise à jour de la carte de proximité à chaque cycle de calcul. Les techniques permettant la mise à jour des domaines de Voronoï sont généralement de complexité $O(n \log n)$ avec n égal au nombre d'objets contenus dans la scène. Plusieurs approches visant à simplifier le processus peuvent cependant être appliquées afin de réduire les temps de mise à jour des cartes de proximité. Elle vont le plus souvent consister en une approximation géométrique des objets

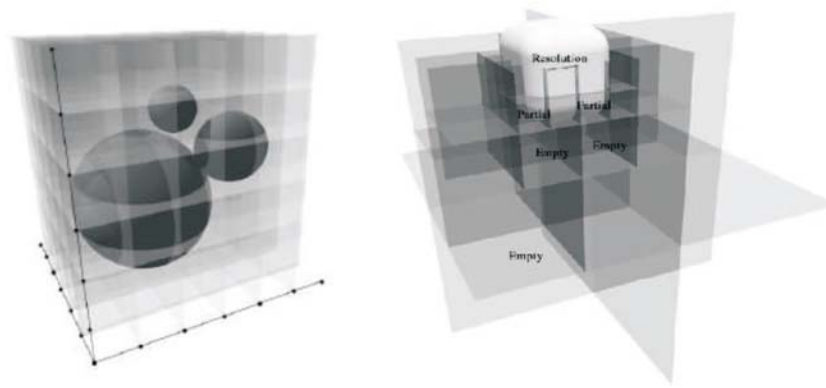


Figure 5.2 – Subdivision spatiale

visant à ne considérer non plus la géométrie exacte des modèles mais des volumes englobant ces derniers, tels que des sphères ou encore des enveloppes convexes.

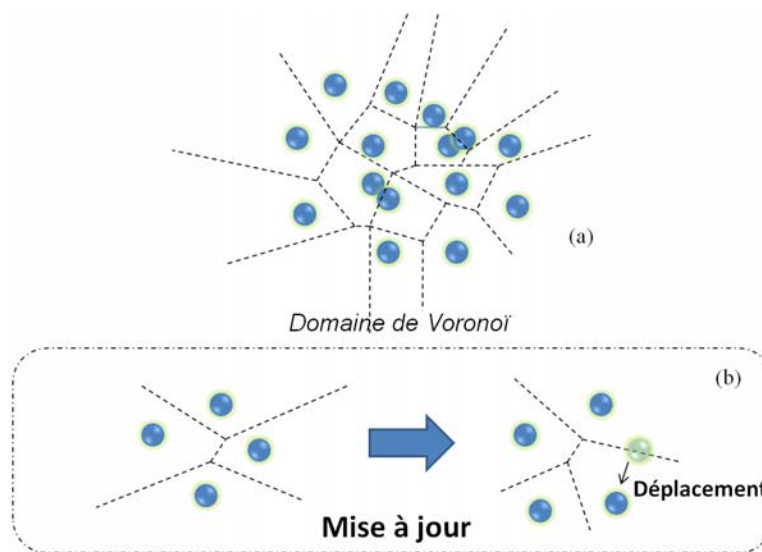


Figure 5.3 – (a) Domaine de Voronoï : chaque domaine définit une zone de proximité autour d'un objet, (b) exemple de mise à jour des domaines de Voronoï suite au déplacement de l'un des objets.

5.2.1.2 Méthodes de volumes englobants

Le principe de cette approche, est d'englober les objets dans des volumes pour lesquels le test de détection de collisions est très rapide. Les volumes sont définis avant le début de la simulation. Lorsque les volumes englobants (VE) sont en collision, on ne peut pas conclure à la collision des objets, une recherche plus avancée est nécessaire. Pour être efficace, un VE doit permettre un test rapide de détection de collision, de maximiser le rapport entre volume englobé et englobant, d'être défini rapidement à partir d'un ensemble de sommets, d'être mis à jour facilement en cas de rotation et/ou de translation et ne pas être trop gourmand en mémoire.

Plusieurs types de géométries peuvent être utilisés dans le cadre de cette décomposition de

l'objet. Les plus communément utilisés sont les sphères [144], les boîtes isothétiques (AABB : Axis Aligned Bounding Boxes) [96] et les boîtes englobantes orientées (OBB : Oriented Bounding Boxes) [54]. D'autres types de volumes englobant plus sophistiqués ont été proposés tels que les polytopes à orientation discrète (k-dops) [90], les tribox [28] ou encore les enveloppes convexes (figure 5.4). Chacun de ces types de volumes englobants se voit être plus ou moins adapté en fonction de la géométrie considérée et du niveau de performance escompté. L'hierarchie de vo-

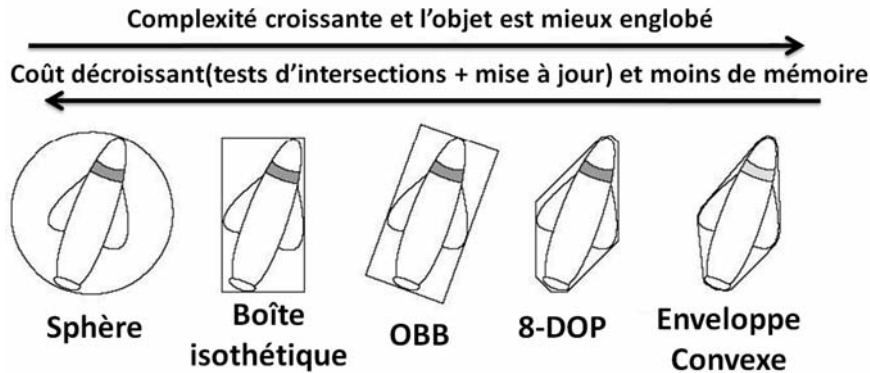


Figure 5.4 – Les différents types de volumes englobants

lumes englobants consiste en une décomposition hiérarchique des objets de la scène. Dans cette approche, plusieurs tests d'intersections donnant lieu à des descentes récursives des hiérarchies permettent d'isoler les paires de zones au sein desquelles des collisions sont susceptibles d'avoir lieu.

Dans le cas rigide, le positionnement relatif des primitives qui composent les objets au sein de leur repère de construction n'évolue pas durant la simulation. Dans ce cas, il n'est pas nécessaire de mettre à jour les hiérarchies de volumes englobants. Ceci n'est pas vrai dans le cas déformable. En effet, une déformation est assimilable au déplacement de tout ou partie des composantes d'un objet dans son repère de construction. L'utilisation d'approches basées sur des hiérarchies de volumes englobants nécessite une mise à jour régulière de ces dernières, en fonction de l'évolution de la forme des objets simulés. Il est à noter que le temps nécessaire à ces mises à jour vient s'ajouter à la durée du processus global de détection des collisions et qu'il doit, par conséquent, être minimisé : soit par reconstruction totale de la hiérarchie à chaque pas de simulation, ou par une modification de la configuration actuelle de la hiérarchie visant à permettre un englobement optimal des primitives nouvellement positionnées. Sachant que cette dernière est beaucoup plus rapide qu'une reconstruction totale [80].

5.2.1.3 Méthodes stochastiques

Les méthodes stochastiques sont basées sur les probabilités ou les statistiques pour trouver les collisions, ne garantissent pas d'inclure toutes les collisions. Par contre, la vitesse de convergence est assez rapide. Les résultats imprécis sont défendus par le fait que la description surfacique n'est qu'une approximation de la géométrie de l'objet, et qu'il est plus important d'obtenir des résultats rapides qu'exactes. Klein et al.[89] ont proposé une approche probabiliste pour détecter des collisions dans des applications où le temps de calcul est critique. Ils proposent de contrôler le rapport entre temps de calcul et fiabilité des résultats en se basant toujours sur des volumes englobants. D'après les auteurs, cette approche peut être intégrée dans les codes existants en ajoutant simplement les paramètres de probabilité au sein des noeuds des structures

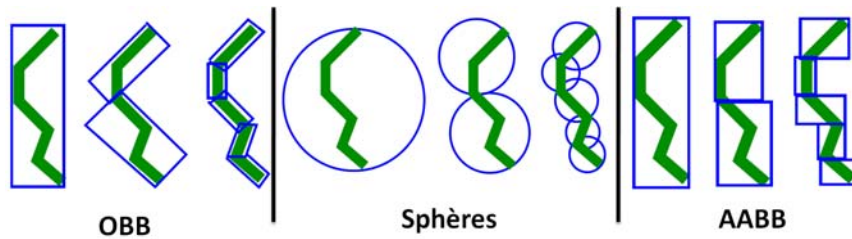


Figure 5.5 – Hiérarchies de volumes englobants : les sphères englobantes ne sont pas très compactes mais permettent le test de superposition le plus rapide, les AABB sont plus compactes mais les tests de superposition sont moins rapides, tandis que, les OBB sont les plus compactes et nécessitent le moins de tests de superposition.

hiérarchiques. Joussemet et al.[79] proposent un algorithme *ESPIONS*, qui utilise le concept de l'évolution des populations sur les paires des sommets des deux objets qui vont subir la détection de collisions.

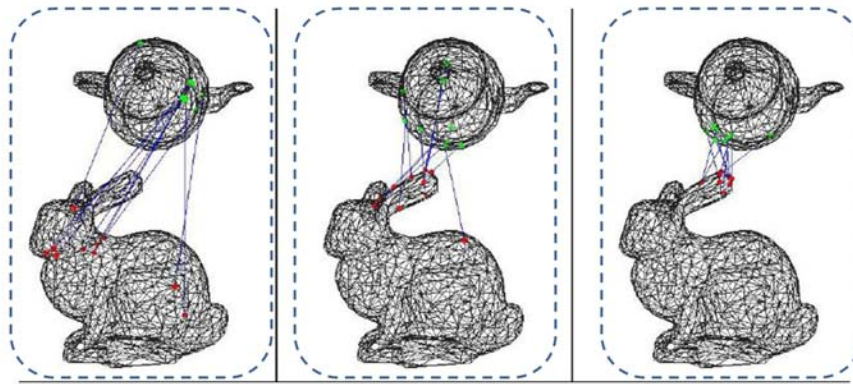


Figure 5.6 – Les résultats à différents niveaux de populations de la stratégie ESPIONS [59].

La figure 5.6 montre trois itérations de ESPIONS avec les individus trouvés. Cette méthode aboutit finalement à la liste de paires de sommets qui présentent les plus petites distances trouvées et qui sont les individus de la dernière génération. Il faut souligner que malgré sa rapidité, cette méthode, comme toutes les méthodes stochastiques, ne garantit pas de trouver la plus petite distance.

5.2.1.4 Accélération matérielle

Le matériel d'accélération de l'affichage graphique offre de nos jours des performances impressionnantes. On a même vu apparaître un langage particulier le "Cg " permettant d'implémenter directement les instructions des cartes afin de modifier l'utilisation d'un tel matériel. Certaines équipes de recherche ont proposé des approches visant à exploiter des calculateurs hardware, et particulièrement les unités de calculs dédiées à la restitution graphique (GPU). Les approches basées sur ce type de matériel imposent l'utilisation de géométries de nature polyédrique. Elles sont classifiables en deux catégories :

- Algorithmes basés sur les triangles : Ces approches se basent sur la récupération des triangles appartenant au cône de visée (view volume) [102]. Elles sont limitées par la

géométrie du view volume qui, au sein des cartes graphiques actuelles, ne peut être que de deux types : boîte parallélépipédique ou pyramide tronquée à base rectangle.

- Algorithmes basés sur les pixels : Ces approches, dites basées sur l'image, exploitent le pixels shader [88]. En d'autres termes, elles ne se basent pas sur les triangles proprement dits, mais sur leur représentation pixélique. Il est à noter que la précision de la détection est ici liée à la taille des pixels. Aussi, un compromis entre niveau de résolution et temps de calcul est à considérer. Des techniques plus récentes également basées sur ce type d'approches utilisent les nouvelles fonctionnalités proposées dans les cartes graphiques les plus évoluées telles que la détection d'occlusions [55].

5.2.1.5 Méthodes de détection de collisions multiples

Dans le cadre de détection de collisions multiples, plusieurs principes et stratégies ont été développés. On peut les classer suivant 3 catégories[176] :

- les méthodes avec fonction de pénalité explicite : ce sont des méthodes qui modélisent la force de contact par un ressort et un amortisseur virtuels. La force de contact est alors proportionnelle à la distance et la vitesse d'interpénétration des corps en contact. Il est donc très facile de traiter des contacts multiples par cette méthode. Néanmoins, ce type d'approche engendre quelques difficultés : l'existence de l'interpénétration qui n'est pas très satisfaisante visuellement et qui peut engendrer des difficultés au niveau du détecteur de collisions, ainsi que la difficulté du choix de la valeur des paramètres de raideur et d'amortissement. Une raideur trop forte conduit à des instabilités numériques propres à la résolution d'équations différentielles ordinaires. Enfin la prise en compte du frottement sec augmente les risques d'instabilité numérique.
- les méthodes des collisions avec contacts successifs : ces méthodes traitent un seul contact à la fois comme un impact. On itère jusqu'à qu'il n'y ait plus de points en contact. Cette approche est plus adaptée à des problèmes d'impact entre plusieurs corps rigides. Elles sont simples et peu coûteuses en temps de calculs dans le cas de contacts intermittents. Cependant, elles peuvent conduire à des boucles de calculs infinis dans certaines configurations comme le cas d'une chaîne fermée de solides en contact. La difficulté de cette méthode est d'estimer le temps de vol afin de trouver l'instant du choc. Redon et al.[145] proposent une méthode continue pour des corps rigides. Les méthodes des collisions ne s'appliquent pas directement à des contacts entre corps déformables qui sont des contacts persistants.
- les méthodes des contraintes avec contacts simultanés : elles traitent tous les contacts à un instant donné, on n'avance pas dans la solution tant que toutes les forces de contact ne sont pas calculées. C'est un problème d'optimisation qui est formulé au niveau des forces et des accélérations mais qui peut être également formulé au niveau des vitesses et des impulsions (méthode impulsionnelle). Cette approche permet de traiter aussi bien des contacts persistants que des contacts intermittents. Elle est adaptée aux contacts entre corps déformables [176]. Dans le cas des corps rigides compte tenu des discontinuités en cas de choc, une formulation impulsionnelle est préférable [43].

A travers cet état de l'art, nous avons proposé une présentation des différentes techniques et concepts les plus utilisés dans le cadre de la problématique qu'est la détection des collisions au sein d'environnements virtuels (objets rigides et déformables). Malgré le caractère non-exhaustif de cet état de l'art, nous avons pu constater les diverses difficultés d'utiliser ces algorithmes, qui sont fortement liées aux aspects géométriques des objets modélisés ainsi qu'aux environnements complexes de la scène.

Dans le cadre des travaux menés durant cette thèse, nous avons cherché à réduire au maximum ces contraintes inhérentes par l'implémentation d'algorithmes simples et rapides dans le cadre de simulations interactives.

5.2.2 Méthodes implémentées

Nous avons considéré deux méthodes distinctes suivant le type d'interaction cellulaire simulé.

5.2.2.1 Méthode adaptée au simulateur de microinjection cellulaire

Les contraintes temps-réel imposées par le simulateur de microinjection, nécessitent l'utilisation d'algorithmes de détection de collisions optimisés et simples d'implémentation. L'extrémité de la micropipette est représentée par un noeud alors que la surface de la cellule est discrétisée par un maillage surfacique. Le calcul d'intersection entre la micropipette d'injection et la surface de la cellule est réalisé par le calcul de l'intersection entre le noeud qui se déplace et une facette triangulaire (triangle) [124] au point de ponction. La figure 5.7 illustre le principe de collision de détection entre l'extrémité de la micropipette et la cellule. Un moyen simple et efficace pour calculer l'intersection d'un rayon avec un triangle consiste à calculer les coordonnées du point d'intersection $I(x, y, z)$ dans la base $(\vec{u}, \vec{v}, \vec{r})$. Le triangle est défini dans le repère de la scène par trois points A_1, A_2, A_3 . On représente le triangle de la manière suivante (voir la figure 5.7).

Tout d'abord, il faut déterminer l'équation du rayon, qui peut s'écrire comme suit :

$$\begin{cases} x = d_0 t + p_0 \\ y = d_0 t + p_1 \\ z = d_0 t + p_2 \end{cases} \quad (5.1)$$

où $d(d_0, d_1, d_2)$ représente la direction du rayon (micropipette) et $P(p_0, p_1, p_2)$ le point origine du rayon.

Pour obtenir la normale au triangle, il faut réaliser le produit vectoriel entre les deux vecteurs u et v . On calcule ensuite l'intersection entre le rayon et le plan défini par le triangle. Cette intersection existe, si et seulement si, le plan et le rayon ne sont pas parallèles, donc si le produit scalaire entre la normale au plan et le rayon est non nul, c'est à dire ($\vec{u} \cdot \vec{v} \neq 0$).

Dans ce cas, le point d'intersection $I(x, y, z)$ entre le plan (A, u, v) et le rayon vérifie le système d'équations suivant : $I(x, y, z) \in \text{plan}(A, u, v)$

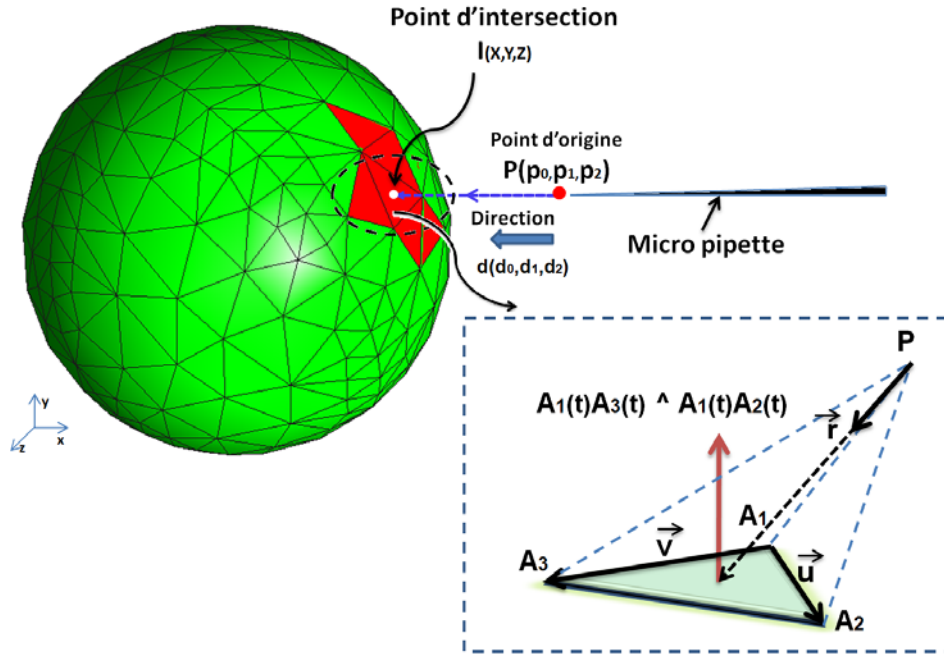


Figure 5.7 – Schéma illustrant le calcul d'intersection d'une pointe d'injection et la cellule en se basant sur l'algorithme l'intersection "ray/triangle" .

$$\begin{cases} X = aX_u + bX_v + X_A \\ Y = aY_u + bY_v + Y_A \\ Z = aZ_u + bZ_v + Z_A \end{cases} \quad (5.2)$$

Soit

$$\begin{aligned} p_0 - X_A &= aX_u + bX_v - d_0t \\ p_1 - Y_A &= aY_u + bY_v - d_1t \\ p_2 - Z_A &= aZ_u + bZ_v - d_0t \end{aligned} \quad (5.3)$$

Les inconnues de ce système sont t , a et b . Sachant que leur déterminant peut s'écrire sous la forme : $D = -(\vec{u} \wedge \vec{v}) \cdot \vec{d}$, nous en déduisons le vecteur de distance de collision défini par $W((p_0 - X_A), (p_1 - Y_A), (p_2 - Z_A))$. Finalement, nous obtenons :

$$\begin{cases} a = -(W \wedge v) \cdot d / D \\ b = -(u \wedge W) \cdot d / D \\ t = -(u \wedge v) \cdot W / D \end{cases} \quad (5.4)$$

Le point d'intersection $I(x, y, z)$ est dans le triangle, si et seulement si :

- a et b sont positifs

- $a + b$ inférieur ou égal à 1.

Finalement, afin d’avoir un algorithme de détection de collisions le plus précis possible tout en respectant le compromis entre le temps de calculs et le nombre des triangles de la surface, nous avons localisé la recherche juste dans la zone de la ponction. Pour cela, nous avons opté pour une topologie du maillage avec deux niveaux de résolution. Cette méthode permet de concentrer les calculs dans les zones où les déformations sont maximales. Dans notre application, un premier maillage utilise des éléments surfaciques triangulaires, puis autour de la zone de ponction, chaque élément est découpé de nouveau en 8 éléments surfaciques consécutifs (voir la figure 5.8).

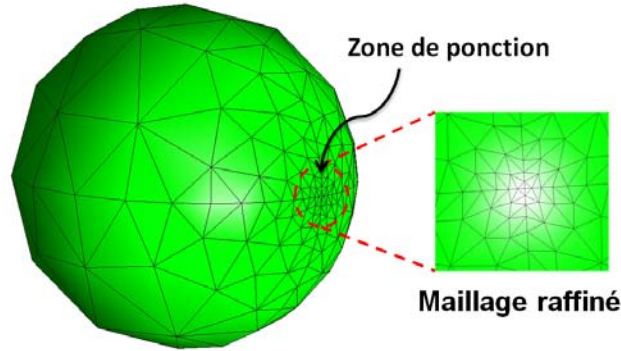


Figure 5.8 – Maillage multi résolution autour de la zone de ponction.

Dans le cas des objets déformables, la force d’interaction résultante est donnée par la relation :

$$F_{interaction} = \begin{cases} -K.dist.n - b.(\frac{d(dist.n)}{dt}) & \text{si } dist < 0 \\ 0 & \text{sinon} \end{cases}$$

où les paramètres suivants n , b et K représentent l’orientation normale, le coefficient d’amortissement et le coefficient de rigidité respectivement. On définit la constante $dist$ comme étant la plus petite distance entre la pointe de micropipette et la surface cellulaire.

L’opération de perforation des barrières ovocytaires lors de la phase de ponction nécessite des changements de topologie du maillage importants. Un des avantages de la méthode masses-tenseurs non linéaire utilisée provient du fait que le changement de topologie est possible [33], [156]. Les méthodes de simulation utilisées pour simuler l’action de l’instrument sur les tissus mous sont :

- soit par subdivision de liaisons de l’espace géométrique en un ensemble de régions. ;
- soit par suppression d’éléments.

La représentation d’une modification de topologie (découpe, incision, poncture...) par modification des liaisons (subdivision de liaisons) définies entre les masses du modèle peut être réaliste. La mise en oeuvre est, par contre, assez complexe en particulier pour un maillage volumique.

Afin de simuler la rupture de la membrane, nous avons mis en oeuvre un algorithme simple et rapide inspiré par [156] basé sur les approches par suppression d’éléments. Cet algorithme consiste à supprimer les arrêtes et les liens entre les voisins d’un tétraèdre (voir figure 5.9). Son principe de base consiste à exploiter l’information concernant la nature extérieure ou intérieure des faces

lorsqu'un seuil de déformation cellulaire est atteint. Au moment de la rupture, si une face du tétraèdre appartient au point de contact à éliminer est extérieure, elle disparaîtra complètement du maillage lorsque le tétraèdre aura été éliminé, alors qu'une face intérieure appartient forcément à deux tétraèdres différents et par conséquent reste présente dans le maillage.

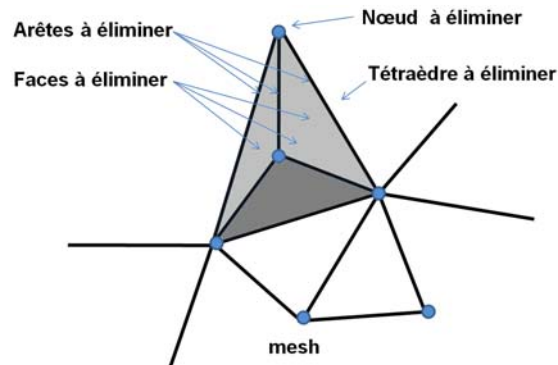


Figure 5.9 – Détermination des faces et des arêtes à éliminer dans le tétraèdre à éliminer.

Les algorithmes de gestion de collisions actuels n'intègrent pas tous les phénomènes physiques liés à l'interaction micropipette-objet déformable, à savoir, la prise en considération des forces de frottement lors de la pénétration de la pipette dans les barrières cellulaires ainsi que les forces de clampage (Fig.5.10). Ces propriétés physiques feront l'objet de développements futurs.

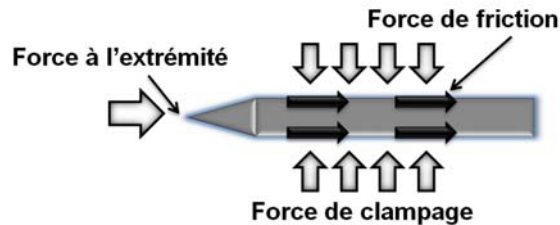


Figure 5.10 – Forces s'appliquant sur l'aiguille d'insertion d'après [61]

5.2.2.2 Méthode adaptée au simulateur d'indentation AFM

Dans le cadre de la simulation d'indentation AFM, nous avons mis en oeuvre et adapté un algorithme de détection de collisions multiples. Celui-ci considère les collisions entre la pointe sphérique du microlevier AFM (représenté par une sphère) et le maillage surfacique de la cellule (représentés par des éléments triangulaires).

Afin d'introduire une méthode simple et rapide, nous avons mis en oeuvre une méthode avec fonction de pénalité explicite. Afin d'accélérer les calculs et dans le but d'avoir un algorithme rapide, nous n'avons effectué les tests d'intersection qu'avec les points du maillage de surface. La figure 5.11 illustre la recherche de détection de collisions et le calcul de distance entre le centre de la pointe sphérique AFM et les noeuds de la surface cellulaire.

L'algorithme de calculs de distances et les collisions multiples est une approximation itérative. Il est basé sur la différence de distance entre le centre et la surface. Le schéma de fonctionnement de l'algorithme est détaillé sur la figure 5.12 : Dans la phase pré-calculatoire, nous avons enregistré les coordonnées du centre de la pointe sphérique AFM ainsi que les points topologiques du maillage de la cellule. Dans la phase d'interaction, la recherche d'interpénétration

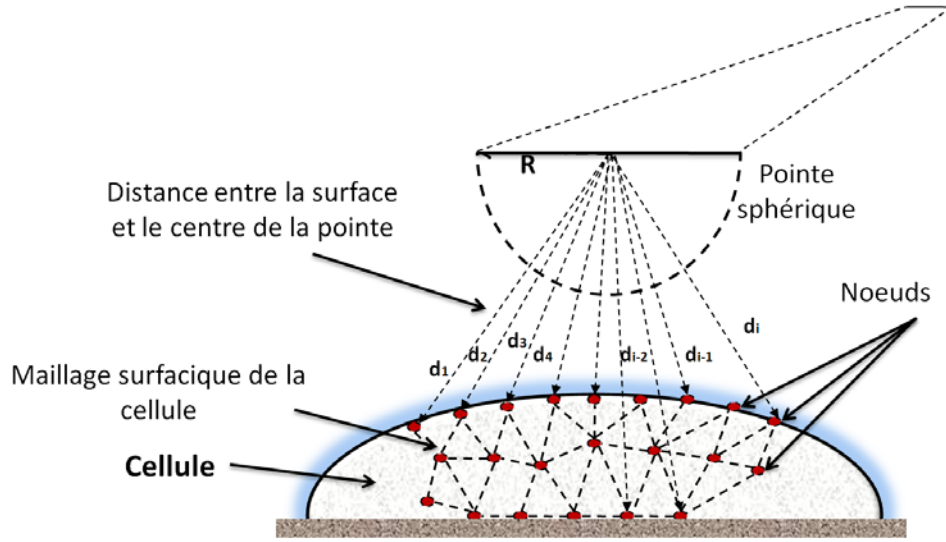


Figure 5.11 – Illustration de l'approche de recherche de distance entre le centre de la pointe sphérique d'AFM et la surface d'une cellule biologique

se fait suivant deux boucles d'itérations :

- une première boucle de l'algorithme de détection parcourt rapidement tous les triangles de la surface en repérant l'ensemble des noeuds (3 par triangle),
- puis, une seconde boucle d'itération effectue un test de distance entre les points et le centre de la pointe sphérique. L'arrêt de l'algorithme est conditionné par la profondeur d'indentation imposée par l'utilisateur.

La force d'interaction résultante est exprimée de la même manière que précédemment.

5.2.2.3 Stabilité du rendu haptique en utilisant le couplage virtuel

La boucle interne de fonctionnement de l'interface haptique (PHANTOM Desktop où l'Omni), nécessite des fréquences de rafraîchissement avoisinant les $1KHz$. Hors, la fréquence de mise-à-jour du système élément finis ne dépasse pas les $30Hz$. Cette différence importante des fréquences de fonctionnement ne permet pas d'assurer une cohérence entre les deux systèmes, ce qui introduit une instabilité au niveau du rendu haptique [16], [1], proposent une approche pour remédier à ce problème d'instabilité et d'utiliser un couplage virtuel entre l'interface haptique et le modèle virtuel 3D. Cette approche repose sur l'insertion d'une liaison virtuelle passive entre le module haptique (équivalent virtuel haptique) et le dispositif de rendu haptique afin d'assurer la stabilité et les performances du système (voir la figure 5.13). Ainsi, l'insertion de ce calculateur numérique dans la boucle de commande permet à l'opérateur d'utiliser les différents outils relatifs au rendu haptique avec plus d'efficacité et de sûreté, cela en assurant toujours un retour l'interaction en temps réel. Le modèle d'interaction sous forme de schéma bloc - connectés en cascade - est représenté dans la figure 5.14.

En general, le couplage virtuel peut avoir une structure arbitraire, dans le cas simple d'un dispositif haptique à 1 degré de liberté, l'implantation d'un couplage virtuel constituée d'un ressort de raideur K_c et d'un frottement visqueux b_c (voir la figure Fig 5.15, dont la fonction de transfert :

$$Z_{cvi}(z) = \frac{V_d(z) - V_e(z)}{F_e(z)} = b_c + \frac{k_c}{s} \Big|_{s \rightarrow \frac{z-1}{T_e z}} \quad (5.5)$$

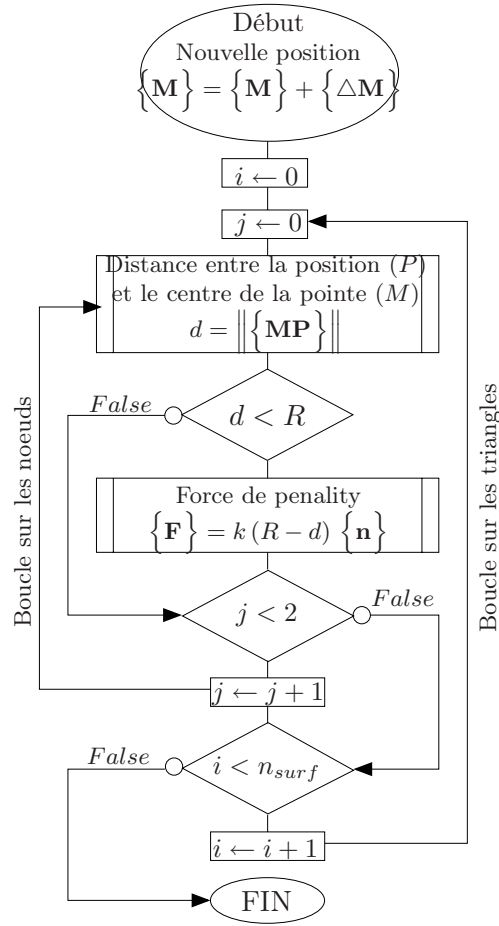


Figure 5.12 – Schéma de fonctionnement de l’algorithme de recherche de collision entre la pointe sphérique d’AFM et la surface d’une cellule biologique

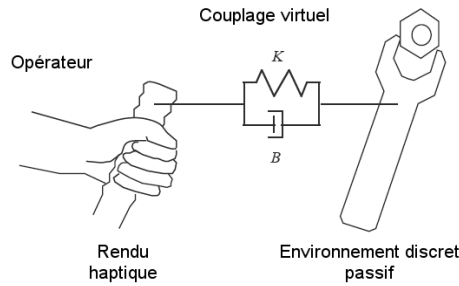


Figure 5.13 – Principe du couplage virtuel [16]

où :

- $G^*(j\omega)$: représente la dynamique du mécanisme Echantillonneur/Bloqueur et de l’opérateur humain.
- $C(z)$: représente le couplage virtuel.
- m et b : sont respectivement la masse et la viscosité de interface haptique. La fonction

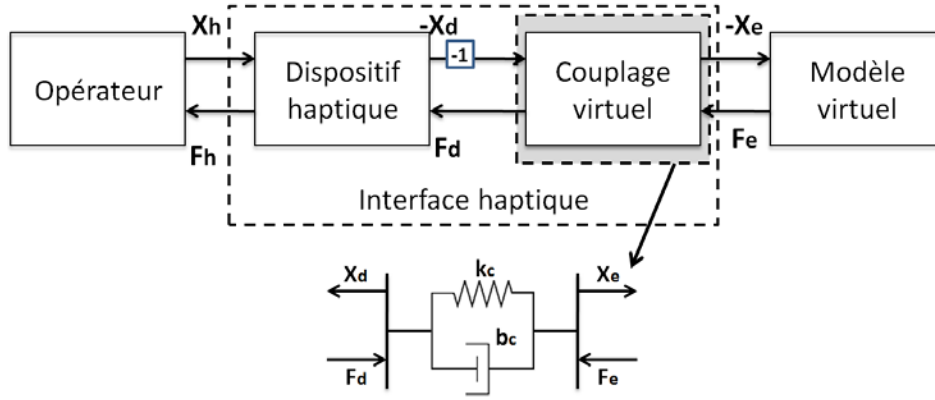


Figure 5.14 – Interaction haptique avec un couplage virtuel : modèle d'interaction et impédance

de transfert Z_{di} (à un DDL) correspondante s'exprimer comme suit :

$$Z_{di} = (m s + b)|_{s \rightarrow (2/T)(z-1/z+1)} \quad (5.6)$$

- T : est le pas de temps.
- BOZ : est un bloqueur d'ordre zero, utilisée pour conserver la dernière valeur de la force discrete issue de l'environnement virtuel F_d entre chaque deux pas d'échantillonnage. Sa fonction de transfert peut être appropriée comme suit :

$$BOZ(z) = \frac{1}{2} \frac{(z+1)}{z} \quad (5.7)$$

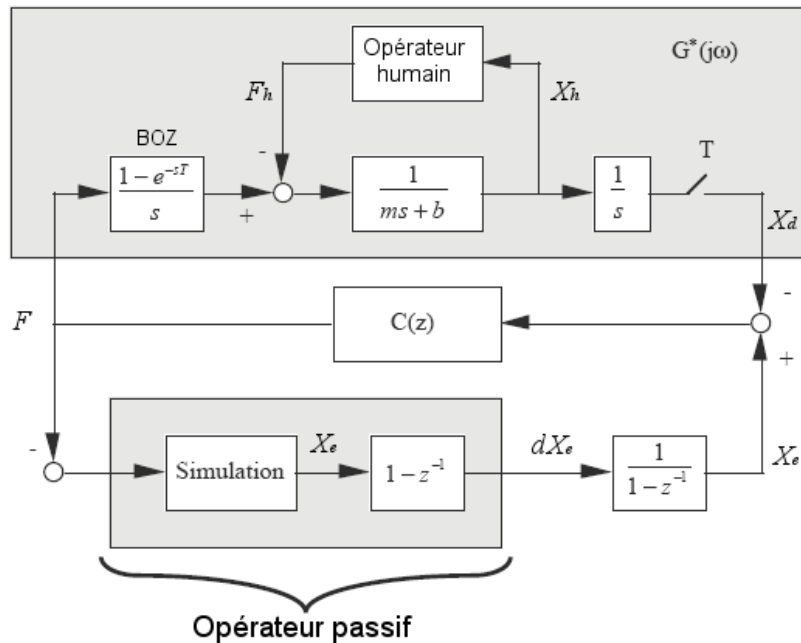


Figure 5.15 – Modèle mécanique d'interaction pour un degré de liberté

Finalement la matrice discrete hybride de l'impédance du rendu haptique s'écrit :

$$\begin{bmatrix} F_h \\ -X_d^* \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} Z_{di}(z) & BOZ(z) \\ -1 & 0 \end{bmatrix} \begin{bmatrix} X_h \\ F_d^* \end{bmatrix} \quad (5.8)$$

L'avantage de cette structure est le bon fonctionnement en mouvement libre à cause de la transmission directe de l'état du dispositif haptique à l'environnement virtuel, dans ce cas le retour d'effort est nul. Cette structure présente toutefois des inconvénients, à titre d'exemple lors de la simulation d'une raideur infinie dans un environnement virtuel, la raideur ressentir par l'opérateur n'est pas infinie, c'est seulement celle du couplage virtuel, ce qui explique sa mauvaise transparence en contact. Toutefois, cette contrainte s'adapte très bien aux outils que nous proposons (champ de potentiel, guides de mouvements) puisqu'elle ajoute un confort d'utilisation. La matrice de transfert du couplage virtuel hybride prend la forme :

$$\begin{bmatrix} F_d^* \\ -X_e^* \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} 0 & 1 \\ -1 & \frac{1}{Z_{cvi}(z)} \end{bmatrix} \begin{bmatrix} X_d^* \\ F_e^* \end{bmatrix} \quad (5.9)$$

La matrice hybride de l'interface haptique est :

$$\begin{bmatrix} F_h \\ -X_e^* \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} Z_{di}(z) & BOZ(z) \\ -1 & \frac{1}{Z_{cvi}(z)} \end{bmatrix} \begin{bmatrix} X_h \\ F_e^* \end{bmatrix} \quad (5.10)$$

5.2.2.4 Conditions de stabilité haptiques

Le critère de stabilité inconditionnelle de Liewellyn [98], pour les quadripôles linéaires donne la condition nécessaire et suffisante suivante :

$$\begin{cases} Re(s_{11}) \geq 0 \\ 2 Re(s_{11}) Re(s_{22}) \geq |s_{12}s_{21}| Re(s_{12}s_{21}) \end{cases} \quad (5.11)$$

On appliquant ce critère au système de rendu haptique (comprenant le couplage virtuel) 5.10 nous obtenons les conditions suivante :

$$\begin{cases} Re(Z_{di}(z)) \geq 0, \frac{1}{Z_{cvi}(z)} \geq 0 \\ \cos(\angle BOZ(z)) + \frac{2 Re(Z_{di}(z)) Re(\frac{1}{Z_{cvi}(z)})}{|BOZ(z)|} \geq 1 \end{cases} \quad (5.12)$$

ceci permet d'écrire la condition de stabilité inconditionnelle suivante :

$$\frac{1}{Z_{cvi}(z)} \geq \frac{1 - \cos(\angle BOZ(z))}{2 Re(Z_{di}(z))} |BOZ(z)| \quad (5.13)$$

5.2.2.5 Implémentation du couplage virtuel

A partir de la condition de stabilité 5.13 nous remontons dans un premier temps aux paramètres de l'impédances du couplage virtuelle. Connaissant la viscosité ($b = 0.005N/(mm/s)$) et la masse ($m = 45g$) du PHANTOM ainsi que le temps d'échantillonnage ($T = 0.066s$), nous commençons par représenter la partie droite de l'inégalité 5.13, puis à rechercher les valeurs limites des paramètres k_c et b_c pour que l'inégalité soit toujours vérifiée. La recherche de ces

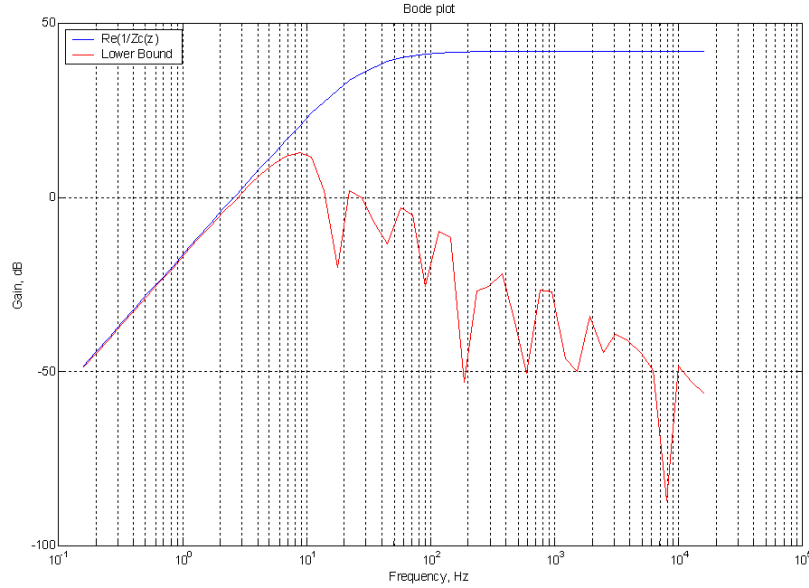


Figure 5.16 – Diagramme de Bode représentant la condition de stabilité inconditionnelle

paramètres consiste à donner une valeur fixe à k_c puis à faire varier b_c jusqu'au point limite de stabilité, cette méthode permet d'obtenir les paramètres offrant le meilleur compromis entre stabilité et transparence du couplage virtuel. Le couplage virtuel consiste à coupler un moteur physique au moteur haptique existant. Le modèle mécanique de ce moteur est celui du couplage virtuel représenté par (k_c, b_c) .

5.3 Guides virtuels haptiques

Afin de faciliter le geste opératoire durant l'intervention, nous proposons à l'opérateur des guides virtuels basés sur des contraintes de mouvements. L'objectif de ces guides est de sécuriser le geste en éliminant toutes sortes de perturbations tels que les tremblements ou les gestes brusques. Ces guides visent aussi à compléter l'information visuelle et haptique pour améliorer les performances de l'opérateur.

Les guides proposés se présentent sous forme de mécanismes virtuels appliqués au dispositif maître. Nous proposons deux types de guides : La contrainte conique et la contrainte rectiligne [3].

5.3.1 Contrainte conique

Ce guide présente deux comportements (voir figure 5.17(a)). Le premier a lieu à l'extérieur de la cellule, il est caractérisé par une force répulsive qui tend à rapprocher progressivement la pipette d'injection de l'axe de pénétration. Le guide présente ainsi une forme conique aux frontières. Le deuxième comportement prend effet lorsque la pipette entre en contact avec la cellule. Il est caractérisé par une contrainte rectiligne le long de l'axe de pénétration. L'expression

du guide est la suivante :

$$\begin{cases} F_x = -k_1 d D & \text{si } D > R \\ F_x = -k_2 d & \text{si } D < R \end{cases} \quad (5.14)$$

Avec k_1 et k_2 les coefficients de raideur du guide respectivement à l'extérieur et à l'intérieur de la cellule.

5.3.2 Contrainte rectiligne

Ce guide présente le même comportement à l'extérieur et à l'intérieur de la cellule (voir figure 5.17(b)). Il se résume en une contrainte rectiligne le long de l'axe de pénétration. Il s'exprime de la façon suivante :

$$F_x = -k d \quad (5.15)$$

Avec k le coefficient de raideur du guide virtuel.

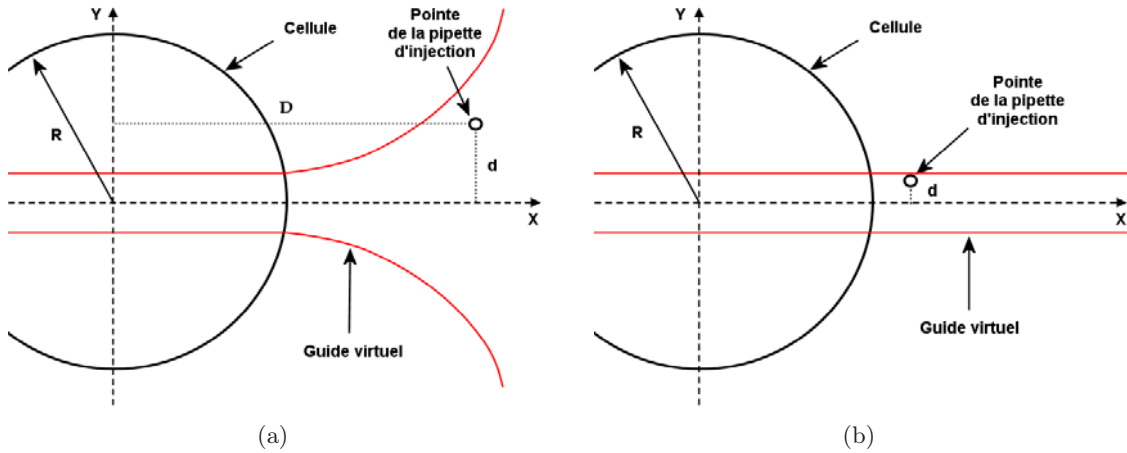


Figure 5.17 – Guides virtuels proposés : (a) présente la contrainte conique, (b) présente la contrainte rectiligne

5.3.3 Conclusion

Nous avons proposé une présentation des différents algorithmes de détection de collisions et de stratégies d'accélération pour résoudre des problèmes de détection de collision entre les objets solides et déformables. Dans le cadre des travaux menés durant cette thèse, nous avons cherché à réduire les contraintes inhérentes liées aux simulateurs chirurgicaux à savoir le temps de calcul. A partir de cet état de l'art, nous avons proposé des algorithmes de détection de collisions pour des contacts simple et multiples. Une des solutions adoptée dans nos travaux pour remédier au problème d'instabilité consiste à utiliser un couplage virtuel. Cette approche repose sur l'insertion d'une liaison virtuelle passive entre le module haptique (équivalent virtuel haptique) et le dispositif de rendu haptique afin d'assurer la stabilité et les performances du système. Finalement, les contraintes de sécurité imposées par les procédures d'injection, nous a conduit à proposer une assistance virtuelle permettant de contraindre les déplacements de la micropipette.

Implémentation et validation expérimentale

Sommaire

6.1	Introduction	152
6.2	Simulateur SIMIC	152
6.2.1	Environnement Matériel	152
6.2.2	Interface Utilisateur	153
6.2.3	Architecture logicielle	154
6.3	Mesures expérimentales et validation du simulateur interactif de micro-injection cellulaire	158
6.3.1	Description du dispositif et des conditions expérimentales	158
6.4	Mesures expérimentales et validation du simulateur interactif d'indentation AFM cellulaire	164
6.4.1	Description du dispositif et des conditions expérimentales	164
6.4.2	Préparation du milieu de culture cellulaire	165
6.4.3	Calibration : détermination de la constante de raideur du cantilever	166
6.4.4	Résultats expérimentaux	167
6.4.5	Validation expérimentale du simulateur	169
6.5	Conclusion	171

6.1 Introduction

Dans ce chapitre, nous décrivons l'architecture logicielle et matérielle du simulateur SIMIC (SIMulateur Interactif de Micromanipulation Cellulaire) que nous avons développé dans le cadre des procédures de micro-injection intracellulaire et de micro-indentation extracellulaire. Une description détaillée des fonctionnalités ainsi que de l'environnement matériel et logiciel nécessaires à la mise en oeuvre du simulateur interactif est donnée. Il est montré que le simulateur permet de restituer fidèlement les caractéristiques physiques de l'interaction opérateur-cellule biologique dans le but d'être exploité comme outil de formation, d'assistance et de guidage du geste opératoire. Une partie importante de ce chapitre est consacré à la validation expérimentale des modèles biomécaniques développés dans le chapitre 4. Un premier banc expérimental de télémanipulation à retour d'effort a été développé au sein de l'Institut PRISME pour valider les procédures de micro-injection sur des cellules de poisson (saumon et poisson zèbre). Une deuxième plate-forme expérimentale, à base d'un microscope à force atomique (AFM) développée au Robotics, Automation, manipulation and Sensing (RAMS) Laboratory, University of Maryland, a été utilisée pour valider expérimentalement les procédures de nano-indentation sur des cellules souches embryonnaires identifiées chez la souris. Les mesures issues de ces deux plate-formes ont permis d'identifier les différentes caractéristiques géométriques et mécaniques des cellules testées, et ainsi valider les résultats numériques issus du simulateur. Ces modèles numériques sont évalués du point de vue temps de calcul et complexité par rapport au nombre d'éléments de maillage.

6.2 Simulateur SIMIC

On distingue deux fonctionnalités intégrées dans le simulateur SIMIC, s'appuyant chacune sur des propriétés physiques et géométriques différentes ainsi que sur des modèles d'interaction outil/cellule dédiés :

- Simulation interactive pour l'apprentissage du geste de micro-injection cellulaire (voir la figure 6.2). Ce simulateur est basé sur la modélisation d'une cellule flottante de type ovocyte, et d'une micropipette d'injection. La collision entre l'outil et la cellule modélisée est ponctuel et ne nécessite pas de contacts multiples à l'interface de contact outil/cellule.
- Simulateur d'indentation à partir d'un levier d'indentation de type microscope à force atomique (voir la figure 6.3). Ce simulateur prend en compte la modélisation d'une cellule adhérente de type cellule souche embryonnaire et un outil d'indentation de type sphérique. Dans ce cas, la détection de collision entre la cellule et l'outil d'indentation est basée sur un modèle d'interaction de multicontacts.

Dans les deux cas, l'interaction est réalisée par l'intermédiaire d'une interface mécanique à retour d'effort respectant le geste opératoire de micro-injection et de nano-indentation cellulaire. Nous décrivons dans ce qui suit l'architecture matérielle et logicielle ainsi que le fonctionnement du simulateur SIMIC avec rendus visuel et haptique.

6.2.1 Environnement Matériel

L'environnement matériel du simulateur SIMIC est composé d'une unité de calcul et d'une interface à retour de force communiquant par l'intermédiaire d'une interface de type FireWire. Leurs caractéristiques sont décrites ci-dessous :

1. Unité de calcul de type PC sous windows XP, doté d'un processeur Intel(R) Coeur2Duo de 2 GHz, d'une mémoire type DDR2 de 2Go et d'une carte graphique de type NVIDIA GeForce 8600 GTS munie d'une mémoire DDR3 de 256 Mo.
2. Dispositif mécanique haptique considéré comme interface à retour d'effort type Phantom Desktop ou Phantom Omni de Sensable Technologies (figures 6.1). Elles disposent de plusieurs degrés de liberté (DDL) en position et en force : 6 DDL en position et orientation et de 3 DDL en effort <http://www.sensable.com>.



Figure 6.1 – Interfaces haptiques : Phantom Desktop et Phantom Omni de SensAble technologies.

6.2.2 Interface Utilisateur

L'analyse des difficultés opératoires lors des procédures de micromanipulation cellulaire, nous a conduit à proposer un environnement de simulation ergonomique en temps-réel. L'objectif principal étant de fournir à l'utilisateur un outil d'apprentissage du geste opératoire à la fois en terme de formation initiale, pour les nouveaux techniciens, et de perfectionnement sur une banque de données regroupant un certain nombre de cellules biologiques test (flottantes ou adhérentes).

L'interface utilisateur du simulateur SIMIC comprend deux scènes virtuelles 3D dédiés à la simulation du geste de micromanipulation pour l'injection (figure 6.2) ou pour l'indentation cellulaire (figure 6.3). Les deux environnements intègrent :

- une fenêtre de visualisation représentant la vue globale de la cellule et le (ou les) micro-effecteur(s) de manipulation ;
- un panneau de contrôle permettant de configurer l'affichage suivant l'activation ou non de guides haptiques basés sur des contraintes de mouvements et des guides visuels.

A partir d'un menu déroulant, l'opérateur choisi le type de cellule simulé (adhérente ou flottante), le mode opératoire choisi (injection ou indentation cellulaire), ainsi que le mode d'affichage de l'environnement virtuel (fil de fer représentant les points du maillage, plein ou transparent). Certaines options liées à l'éclairage de la scène, la gestion de texture ou encore le point de vue de l'opérateur peuvent être paramétrées pour fournir une assistance visuelle à l'opérateur. Deux modes opératoires sont possibles :

1. L'interface utilisateur permet à l'utilisateur expérimenté de planifier une stratégie de micro-injection particulière et de la répéter en vue de son expérimentation. C'est notamment le cas lorsque certains ovocytes matures présentent des rigidités membranaires élevées (possibilité de faire varier le module d'Young et le coefficient de Poisson), ou encore d'éviter les effets

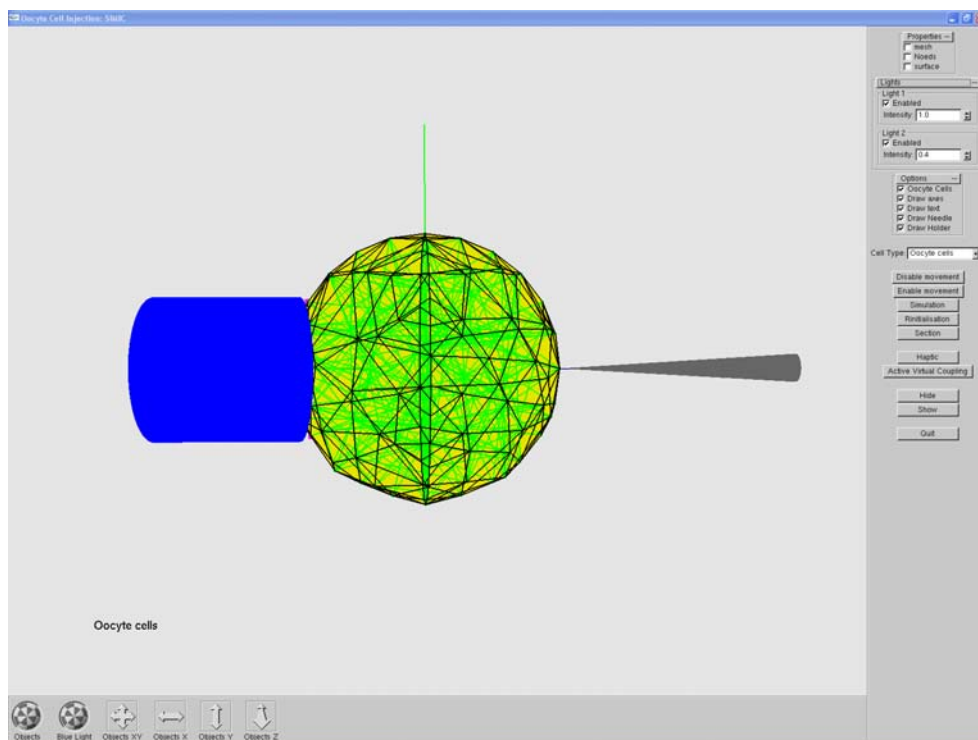


Figure 6.2 – Scène virtuelle 3D et l’interface des paramètres : Simulation de geste de micro injection cellulaire .

de glissement injecteur/cellule lors de la ponction (introduction de lois mécaniques de frottement - non disponibles sur la version actuelle-). Dans le cas précis, le simulateur a une vocation pédagogique pour aider, guider et assister par la simulation les nouveaux techniciens. Cette assistance par guides virtuels ne concerne pas seulement les aspects visuels mais aussi les aspects haptiques par la mise en place de guides haptiques restreignant les gestes de l’opérateur. Un retour de force est mis en oeuvre lorsque l’on s’éloigne du trajet planifié selon le modèle d’interaction décrit dans le chapitre V.

2. L’interface permet également de prédire le comportement biomécanique de cellules adhérentes par la simulation de contraintes mécaniques extérieures. Notamment, pour connaître le stade de développement et/ou de différenciation de certaines cellules souches embryonnaires, l’état cellulaire du matériau biologique (mort, vivant), la caractérisation du phénotype de cellules souches, etc. Le micro-effecteur d’indentation peut être choisi par l’opérateur (par exemple : sphérique, pyramidal ou plan) en vue de tests mécaniques d’indentation, de compression ou de traction (non disponibles sur la version actuelle). Le rendu haptique permet alors à l’opérateur de ressentir l’échelle des forces de nanoindentation réalisés par un microscope à force atomique.

6.2.3 Architecture logicielle

Le simulateur 3D de déformations biomécaniques a été développé sous l’environnement Microsoft Visual C++ basé sur les concepts d’une architecture orientée objet modulable et évolutive. La figure 6.4 présente la structure générale de moteur 3D en langage orienté objet C++ ainsi que l’architecture logicielle.

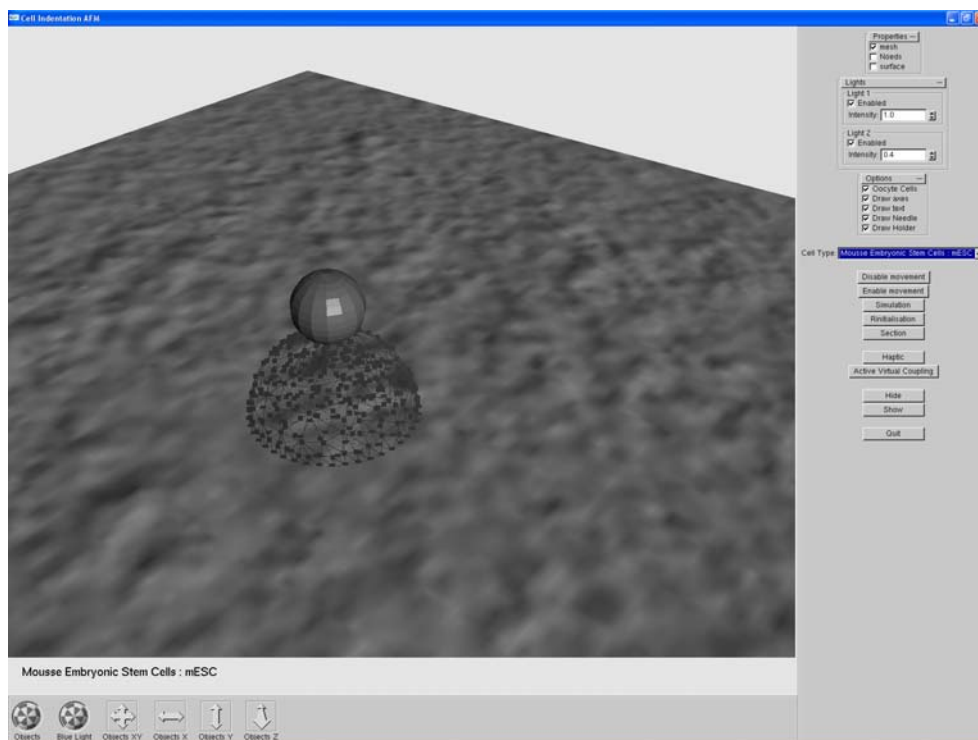


Figure 6.3 – Scène virtuelle 3D et l’interface des paramètres : Simulation de geste d’indentation d’AFM en utilisant une pointe sphérique.

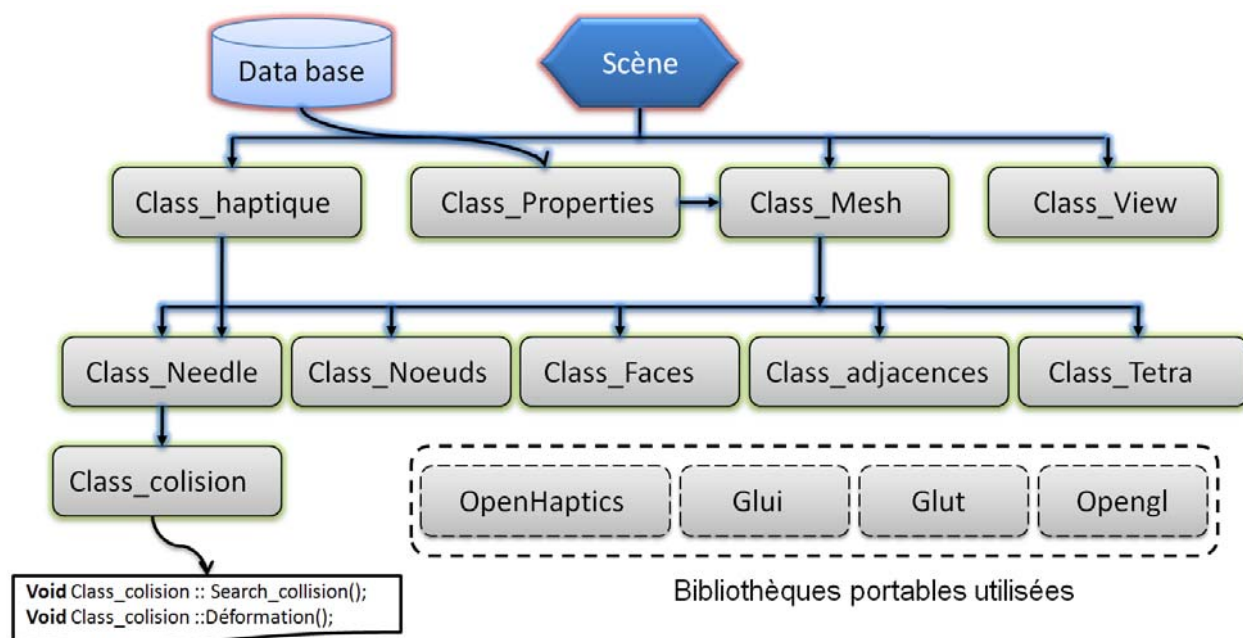


Figure 6.4 – Structure générale de moteur 3D en orienté objets C++, les principales classes de la structure de noyau.

- la classe principale **Class_Mesh** comporte la liste et le nombre des tétraèdres, faces, arêtes et noeuds constituant le maillage, c'est une classe mère où les autres classes héritent de ses variables ;
- les classes **Class_Noeuds**, **Class_Faces**, **Class_Tetra**, **Class_adjacents**, sont des classes dérivées de la classe mère. La classe **Class_Noeuds** calcule et référence toutes les informations concernant chaque noeud, à savoir son numéro, ses coordonnées, la liste des tétraèdres, des triangles et des arêtes où se trouvent ce point. La classe **Class_Faces** décrit une face de chaque triangle du maillage. Les attributs d'une face qui y sont répertoriés sont : sa couleur, les coordonnées de son centre de gravité, les noeuds et arêtes qui la constituent ainsi que la liste des tétraèdres qui la contiennent. La **Class_Tetra** permet de représenter un tétraèdre, les numéros des noeuds qui composent le tétraèdre, la liste et le nombre des tétraèdres voisins ainsi que la matrice de raideur du tétraèdre. ;
- La classe **Class_haptique**, permet de gérer le moteur haptique et le solveur de collision de détection (recherche de l'intersection, liste des points en contact, gestion de collisions...)

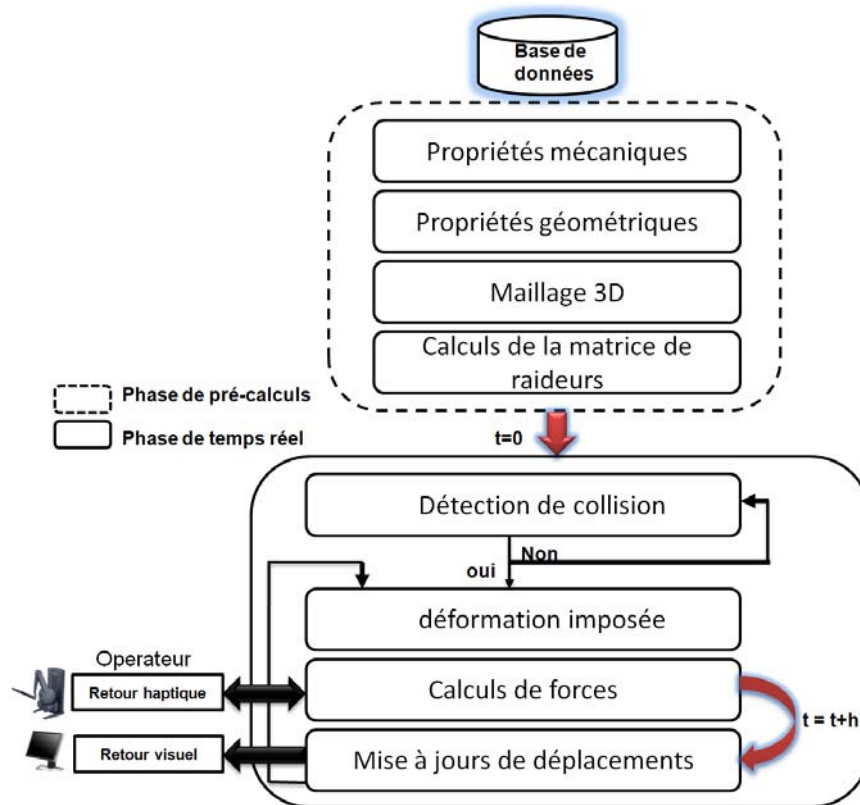


Figure 6.5 – Méthodologie de simulation haptique en temps-réel basée sur la méthode des éléments finis (FEM).

La figure 6.5 illustre la méthodologie et l'architecture logicielle du simulateur adopté dans le but d'interagir en temps-réel avec des objets biologiques déformables. La méthode de simulation haptique comporte deux phases de traitement :

6.2.3.1 Phase pré-calculatoire

Toutes les opérations les plus coûteuses en temps de calcul sont réalisées durant cette phase de pré-traitement. Tout d'abord, la construction des objets constituant la scène est réalisé à partir d'un logiciel de conception par ordinateur CAO 3D. Dans le cadre de notre étude, nous avons utilisé le logiciel MSC de chez Software Marc/Adams¹ couplé au logiciel Solidworks². La construction du maillage 3D est réalisé à partir d'un logiciel de maillage automatisé "GID". Celui-ci génère un fichier texte contenant les informations du maillage à savoir, le nombre et les coordonnées en 3D des noeuds, des tétraèdres et des triangles. Les propriétés mécaniques et géométriques des objets simulés sont obtenues à partir d'une base de données regroupant les propriétés biomécaniques de cellules telles que le module d'Young, le coefficient de Poisson, le diamètre, la section ...etc. Afin d'utiliser la méthode des éléments finis pour des applications en temps réel, il est nécessaire de calculer la matrice de raideur et les tenseurs élastiques dans une phase de pre-calculs avant la simulation - cas linéaire ou non-linéaire - et ainsi de limiter le nombre de calculs liés à la construction de ces matrices pendant la simulation. Il est possible de simuler des coupures, des déchirures ou des perforations. Cette phase pré-calculatoire permet ainsi d'initialiser le noyau de simulation avant toute interaction haptique temps-réel. Ces différents pré-calculs sont résumés à la Figure 6.2.3.1 ainsi que par l'algorithme 2.

Fichier descriptif du modèle mécanique de l'objet déformable discrétisé

- Propriétés mécaniques : module d'Young E , Coefficient de Poisson ν
- Masse volumique ρ , masse de chaque noeud m , viscosité du calcul γ
- Coordonnées et numéros des noeuds du maillage volumique
- Liste et coordonnées des tétraèdres à 4 noeuds
- Liste et coordonnées des triangles surfaciques
- Conditions de Dirichlet

```
Start;  
// Lire les données de la base " les coordonnées du maillage ; les noeuds, tétraèdres,  
triangles ; les noeuds fixes, les propriétés mécaniques : module d'Young,coefficient de  
Poisson"  
LoadFile1();  
ConstructionClasseMaillage ();  
ConstructionClasseAdjacentes ();  
ConstructionMatriceRaideurs();  
LoadGaphicalOpenGL();
```

Algorithm 2: Algorithme général de la phase pré-calculatoire.

6.2.3.2 Phase d'interaction temps-réel

La deuxième phase est la phase d'interaction et simulation en temps réel. Durant cette étape l'algorithme se comporte principalement comme une boucle alternant la recherche détection de collisions, le calcul des forces et celui des déformations ainsi que le rendu haptique et visuel. La visualisation est mise à jour après chaque calcul de déplacements et le retour haptique après

1. <http://www.mssoftware.com/>

2. <http://www.solidworks.fr/>

chaque calcul de forces. Dans le cadre d'une simulation en temps réel, une fréquence minimale de 25 images par seconde est nécessaire pour garantir une bonne interactivité visuelle. Un des grands avantages de ce modèle masses-tenseurs provient du fait que l'algorithme se comporte principalement comme une boucle alternant le calcul des forces et celui des déformations. L'action de l'opérateur se traduit par des déplacements imposés en certains noeuds du maillage (les noeuds de contact). Ainsi, à chaque instant, s'il y a collision, les déformations induites au niveau de la cellule sont calculées. Les noeuds concernés par cette collision sont également relevés et stockés. La méthode utilisée consiste à parcourir tous les noeuds du maillage surfacique, et pour chacun de ces noeuds, de multiplier son déplacement courant par la matrice de raideur pré-calculée correspondante. La somme des forces d'interaction en chaque noeud restitue la force totale appliquée aux noeuds de contacts. La force (retour haptique) induite et les nouvelles positions du maillage sont ensuite calculées. Le rendu haptique est basé sur une interface haptique de type PHANTOM Desktop. La boucle interne de fonctionnement de cette interface nécessite des fréquences de rafraîchissement avoisinant les 1000Hz. Hors, la fréquence de mise à jour du système élément finis ne dépasse pas les 40Hz. Cette différence importante des fréquences de fonctionnement ne permet pas d'assurer une cohérence entre les deux systèmes, ce qui introduit des instabilités au niveau du rendu haptique. La solution retenue pour remédier à ce problème et d'utiliser un couplage virtuel entre l'interface haptique et le système élément finis (voir le Chapitre V).

6.3 Mesures expérimentales et validation du simulateur interactif de micro-injection cellulaire

6.3.1 Description du dispositif et des conditions expérimentales

Dans ce paragraphe, nous allons décrire les différents composants matériels du système téléopéré de micro-injection développé au sein de l'Institut PRISME.

6.3.1.1 Système de micromanipulation robotique

Un système de micro-injection comporte généralement un micromanipulateur mécanique de maintien de la cellule (appelé, holder) par aspiration, un micromanipulateur d'injection (appelé, *injecteur*) à 3 degrés de liberté de translation (t_X - t_Y - t_Z). Ce dernier est contrôlé par l'opérateur par l'intermédiaire d'une interface haptique sous le champ de vision d'un (ou plusieurs) microscope(s) optique(s) couplé à des caméra CCD. La Figure 6.6 présente une version simplifiée de ce dispositif développé au sein de l'Institut PRISME.

La structure mécanique du micromanipulateur d'injection est constitué de trois tables de micropositionnement X , Y , et Z à courant continu (M-111.1DG) couplé à un nanomanipulateur piézoélectrique X - Y - Z à très haute résolution (P-611.3S NanoCube) de la société Physics Instruments (voir table 6.1). Notre système comporte donc 6 degrés de mobilité. Le micro-effecteur d'injection muni d'un capteur de force est attaché au nanomanipulateur piézoélectrique. Nous avons à disposition deux types de capteurs de forces en fonction des cellules biologiques considérées. Un premier capteur piézo-électrique de force de type 406A de chez Aurora Company (série 400A) permettant de mesurer des valeurs de force comprises entre 0 à 200 μ m avec une résolution de 10 nN soit 1 μ g (voir Annexe C). A ce titre, la Figure 6.7 présente la courbe de calibration Force-Tension du capteur considéré. Un deuxième capteur piézorésistif de force de chez FemtoTools (série FT-S270) permettant de mesurer des forces comprises entre 0 à 2000 μ m avec une résolution de 0.4 μ m.

L'observation des cellules biologiques confinées dans une boîte de Petri est réalisée à partir des microscopes optiques sous différents points de vue :

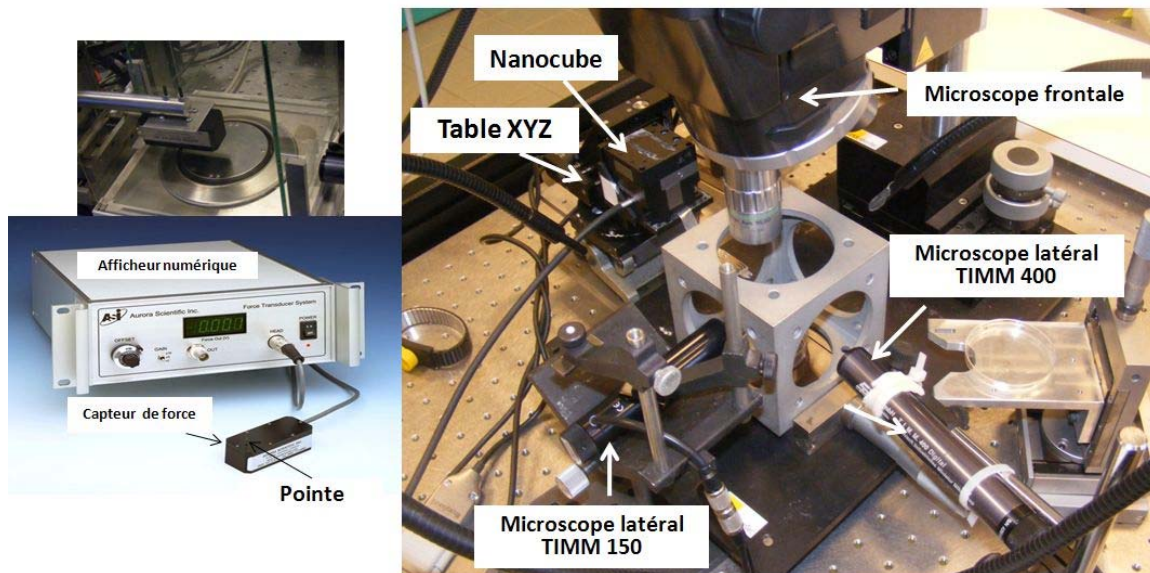


FIGURE 6.6 – Architecture matérielle du système de bio-micromanipulation.

- Microscope optique frontal : Un microscope optique de type *Mitutoyo FS70Z* équipé de trois objectifs M-Plan Apo ($\times 2$, $\times 20$ et $\times 50$) et d'une lentille dont le facteur de grossissement varie de $\times 1$ à $\times 2$;
- Microscope optique latéral, observation locale : Un microscope optique de type *TIMM* – 400 avec un grossissement continu de $\times 0.1$ à $\times 400$ (supportée par un écran 17"). La caméra CCD ($540 \times 600 \text{ pixels}$) est intégrée au microscope. Résolution : $7.3 \times 4.7 \mu\text{m}$);
- Microscope optique latéral, observation globale : Un microscope optique de type *TIMM* – 150 avec un grossissement continu de $\times 0.1$ à $\times 150$. La caméra CCD ($540 \times 600 \text{ pixels}$) est intégrée au microscope. Résolution : $7.3 \times 4.7 \mu\text{m}$);
- Caméra CCD : Une caméra de type *Chugai Boyeki N&B FC – 55 – II* équipée d'un capteur *Sony* ($500 \times 582 \text{ pixels}$). Résolution : $9.8 \times 6.3 \mu\text{m}$);

Course	15 mm
Résolution	15 nm
Commande	en position
Capteurs	encodeur rotatif

(a) Micropositionnement (3× M-111.1DG)

Course	100 μm
Résolution	1 nm
Commande	en position
Capteurs	jauge de contrainte

(b) Nanopositionnement (P-611.3SF)

TABLE 6.1 – Caractéristiques du micromanipulateur d'injection fournit par la société Physics Instruments.

Les forces mesurées sont ensuite retournées en temps-réel à l'interface haptique via une carte d'acquisition DSP-1100 en vue de réaliser le retour de force de la chaîne de micro-téléopération.

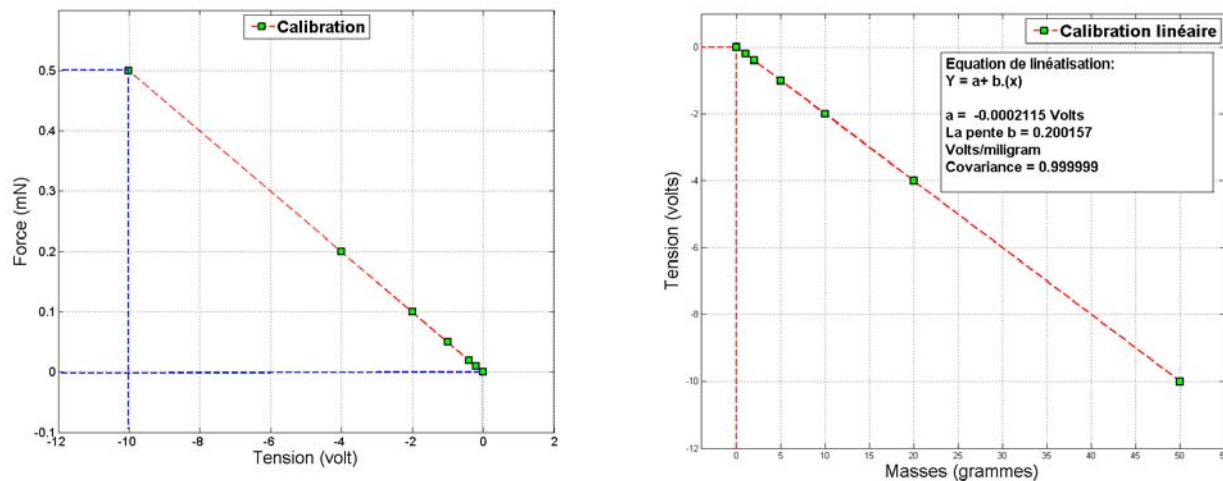
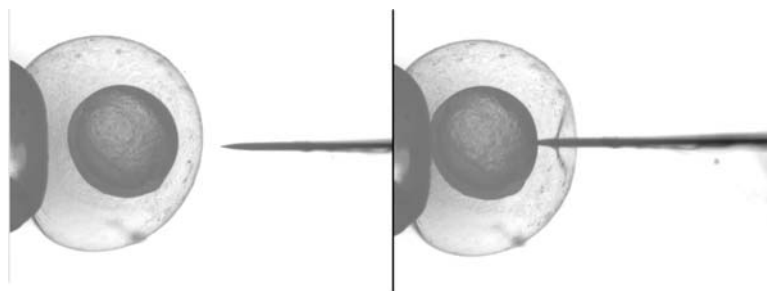


FIGURE 6.7 – Calibration du capteur de force .

6.3.1.2 Résultats expérimentaux

Nous avons effectué plusieurs études expérimentales de micro-injection cellulaire sur le système de télé-micromanipulation afin de valider les résultats de simulation des modèles biomécaniques développés au Chapitre IV. Une des difficultés majeures que nous avons rencontrées lors de nos essais a été de contrôler avec une grande précision les mouvements de l'effecteur. L'outil d'injection devant être commandé avec des précisions et des résolutions inférieures aux dimensions de la cellule pour les déplacements et de l'ordre des forces cytoplasmiques pour les efforts (eg. $< 100 \mu\text{N}$). Différentes limitations technologiques liées aux non-linéarités des matériaux piézoélectriques utilisés (hystérésis, dérive thermique, saturation), à l'influence de l'environnement extérieur (température, humidité, efforts appliqués) ainsi qu'aux architectures de contrôle (robustesse limitée vis-à-vis des perturbations extérieures, performances dégradées) ont limité la précision des micromanipulateurs piézoélectriques commerciaux utilisés. Pour cela, nous avons développé un compensateur H_∞ loop-shaping associé au correcteur existant de type PI développé par le fabricant. L'architecture de commande de type "plug-in" a permis d'augmenter sensiblement la robustesse du geste opératoire vis-à-vis des perturbations extérieures (vibrations, tremblements du geste opératoire, etc.) et des non-linéarités liées aux matériaux piézo-électriques [94] (voir Annexe A).

FIGURE 6.8 – Tests d'indentation appliqués sur des embryons de poisson zèbre de type Danio Rerio (diamètre entre 500 et 1000 μm).

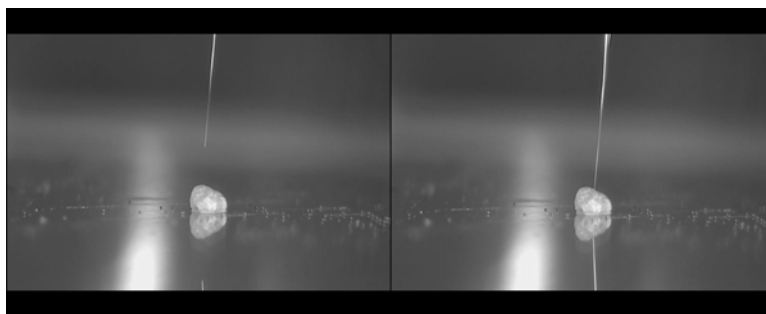


FIGURE 6.9 – Tests d’indentation appliqués sur des oeufs de saumon (diamètre entre 600 et 1200 μm).

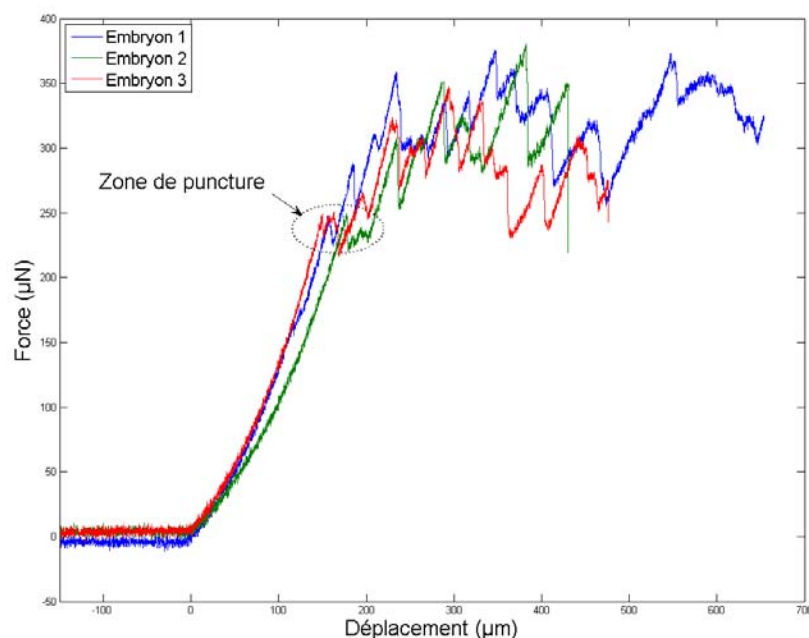


FIGURE 6.10 – Force ressentie par l’opérateur lors de la ponction/indentation d’un embryon de poisson zèbre.

Afin de calibrer le système de micromanipulation à retour d’effort, différents tests d’indentation et de ponction sur des embryons de poisson ont été considérés. La Figure 6.8 présente des images d’indentation/ponction d’une micropipette de tungstène sur un embryon de poisson zèbre de type *Danio Rerio*. La Figure 6.9 présente les images d’indentation/ponction d’une micropipette de verre sur des oeufs de saumon. La force ressentie par l’opérateur lors de la ponction de la partie membranaire externe et de l’indentation du chorion est représenté sur la Figure 6.10 pour divers spécimens d’embryons de poisson zèbre. La partie linéaire correspond à l’élasticité de la membrane jusqu’au point de ponction ($250\mu\text{N}$) puis au fur et à mesure de l’état d’avancement de la pipette, un comportement en dents de scie de la force ressentie par l’opérateur est observée. Nous constatons que l’opérateur est capable de ressentir les efforts de ponction, de frottement visqueux et de perforation. Des essais identiques ont été menés sur des oeufs de saumon.

6.3.1.3 Validation expérimentale du simulateur

En collaboration avec l'unité fonctionnelle du Laboratoire de Biologie De la Reproduction (LBDR) du CHU Pitié-Salpêtrière, Hôpitaux de Paris, dirigée par la Professeure Catherine Poirrot, nous avons cherché à effectuer des tests de ponction sur des ovocytes humains à partir de la plateforme expérimentale développée. Ces résultats permettront de valider expérimentalement les modèles biomécaniques théoriques et numériques développés au Chapitre IV. N'ayant pas obtenu l'accréditation pour manipuler des ovocytes humains en dehors des locaux du LBDR, l'installation d'une version simplifiée de la plateforme expérimentale sur site s'avère être nécessaire. Bien que cette installation soit en cours, des résultats probants n'ont pu être obtenus par manque de temps. Comme nous l'avons mentionné dans le chapitre IV, la validation de notre simulateur repose sur des travaux expérimentaux issus de la littérature scientifique. Nous nous sommes donc reportés aux essais expérimentaux réalisés par Sun et al.[171] avec leur permission. A partir des propriétés géométriques et mécaniques des cellules souches fournis par les auteurs, nous les avons introduites dans la base de données de pré-traitement du simulateur SIMIC (voir tableau 4.5).

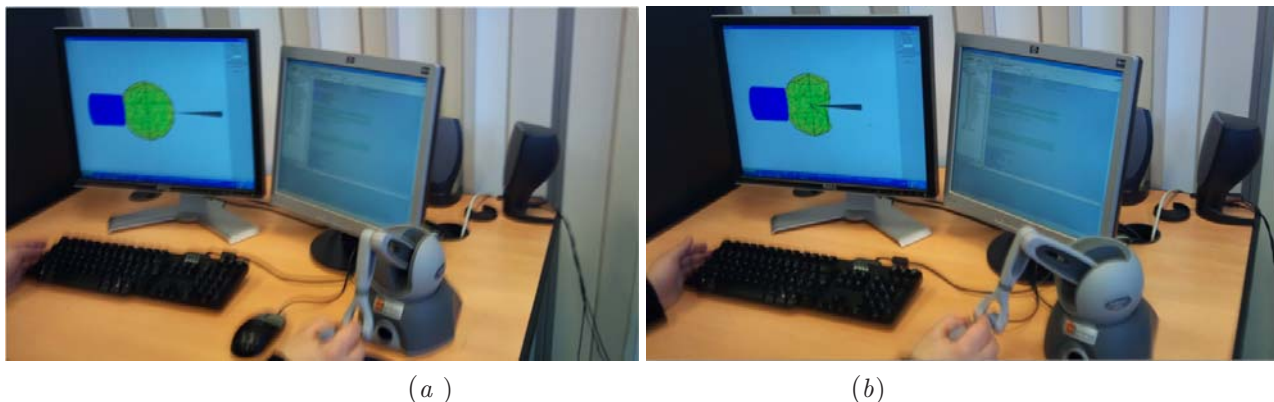


FIGURE 6.11 – Simulateur interactif de la microinjection cellulaire (ICSI) .

Différentes tâches d'interaction à retour d'effort de mouvements d'approche, de contact, d'indentation et de ponction outil/cellule ont pu être ainsi simulés en temps-réel. A titre d'illustration, la figure 6.11 présente une tâche d'assistance et de guidage du geste de l'opérateur par des guides haptiques restreignant les gestes de l'opérateur autour d'un cône d'évolution et centré sur le point de contact outil/cellule. La figure 6.12 illustre la déformation nonlinéaire de la membrane jusqu'à son point de rupture. Enfin, la confrontation des résultats expérimentaux et d'interaction haptique est donnée à la figure 6.13 pour les modèles de déformation masses-tenseurs linéaires et non-linéaires. Nous constatons qu'au point de rupture du maillage, la valeur atteinte par la force d'interaction reste identique pour les deux modèles de déformation. Le modèle non-linéaire de St Venant-Kirchhoff reste cependant le plus proche du comportement fortement non-linéaire de la cellule biologique.

6.3.1.4 Résultats et analyse des performances

Nous présentons ici une étude portant sur la complexité de calcul en fonction du nombre et le type d'éléments constituant le maillage de la cellule biologique. Nous présentons au tableau 6.2 des mesures exhaustives de temps de pré-calcul et les temps de simulation "temps-réel" en

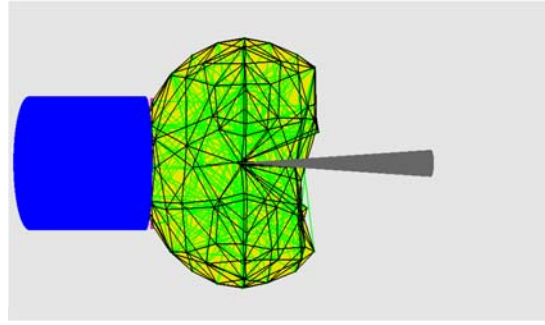


FIGURE 6.12 – Déformation cellulaire jusqu'au point de la rupture.

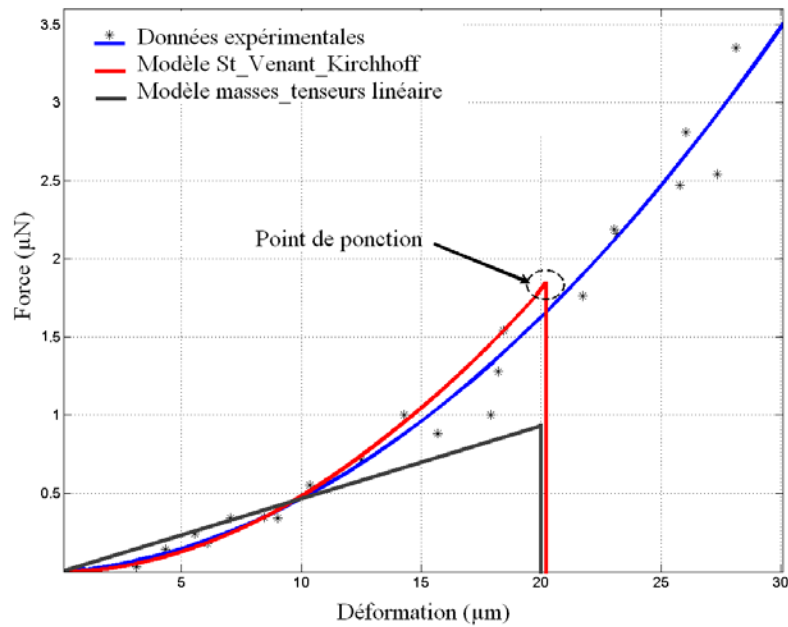
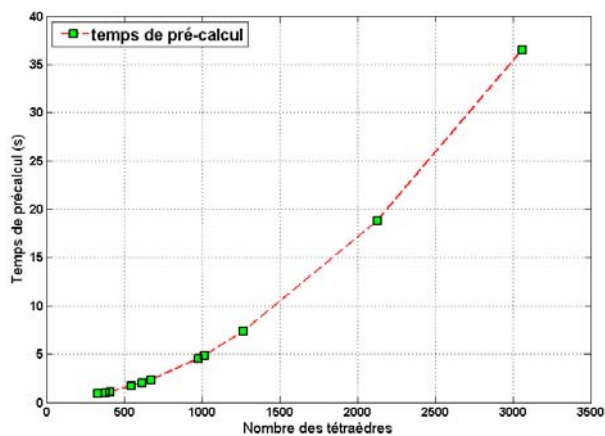


FIGURE 6.13 – Validation expérimentale du simulateur d'injection cellulaire : rupture de la membrane liée à la ponction.

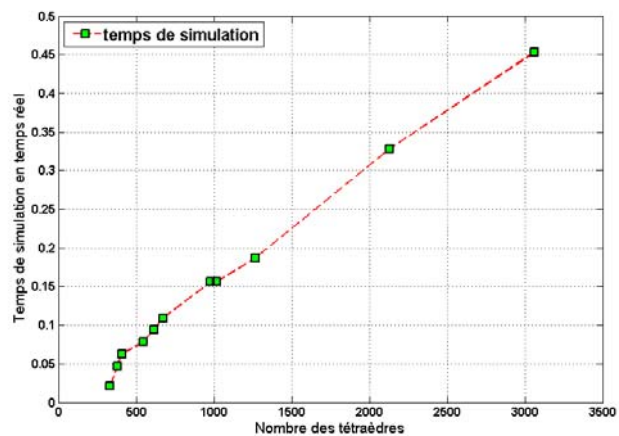
fonction de différents nombres de tétraèdres, noeuds et arrêtes. Nous pouvons remarquer sur les figures 6.14(a), 6.14(b) le temps de pré-calcul augmente globalement de façon non linéaire en fonction du nombre de tétraèdres, tandis que le temps de simulation "temps-réel" augmente à peu près linéairement par rapport au nombre de tétraèdres. Comme l'a souligné également Ghembaza [49], les parties non-linéaires et visco-élastiques, qui constituent les parties prédominantes, dépendent linéairement du nombre de tétraèdres. Évidemment, le temps de calcul des forces pour le modèle non linéaire est nettement plus long que dans le cas linéaire. D'abord parce qu'il nous faut parcourir en plus des sommets et des arrêtes, tous les triangles et tous les tétraèdres du maillage. En effet, bien que le maillage de cellule sphérique comprend beaucoup de surfaces extérieures (nombre élevé de noeuds et d'arêtes), cette partie intervient peu dans le temps de calcul. Le nombre de triangles et de tétraèdres reste l'élément prédominant. Ensuite, parce que les expressions des forces sont nettement plus compliquées que le modèle linéaire.

TABLE 6.2 – Temps de calcul en fonction du nombre d'éléments : noeuds, arêtes, triangles et tétraèdres

Noeuds	Arêtes	Triangles	Tétraèdres	Temps de pré-calculs	Temps de simulation
115	536	754	332	0.875	0.021
123	593	850	379	0.99	0.047
128	626	906	407	1.094	0.063
165	765	826	546	1.718	0.078
176	905	1644	614	2.031	0.094
192	991	1472	672	2.359	0.109
271	1425	2134	979	4.546	0.156
282	1484	2222	1019	4.859	0.156
346	1842	2766	1269	7.39	0.187
516	2921	4536	2130	18.828	0.328
731	4170	6500	3060	36.5	0.453



(a)



(b)

FIGURE 6.14 – Temps de calcul en fonction du nombre d'éléments tétraédriques : (a) temps de précalculs, (b) simulation en temps réel.

6.4 Mesures expérimentales et validation du simulateur interactif d'indentation AFM cellulaire

Dans ce paragraphe, nous allons décrire les différents composants matériels du système d'indentation AFM que j'ai utilisé pour une durée de 4 mois au sein du Robotics, Automation, Medical Systems (RAMS) Laboratory, University of Maryland pour étudier le comportement mécanique de cellules souches embryonnaires identifiés chez la souris.

6.4.1 Description du dispositif et des conditions expérimentales

L'objectif principal du dispositif expérimental est de mesurer des propriétés mécaniques de cellules souches embryonnaires identifiées chez la souris utilisant un microscope à force atomique (AFM). L'instrument consiste en une pointe très effilée de type pyramidale ou sphérique située à l'extrémité d'un microlevier agissant comme un ressort dont la déflexion est directement pro-

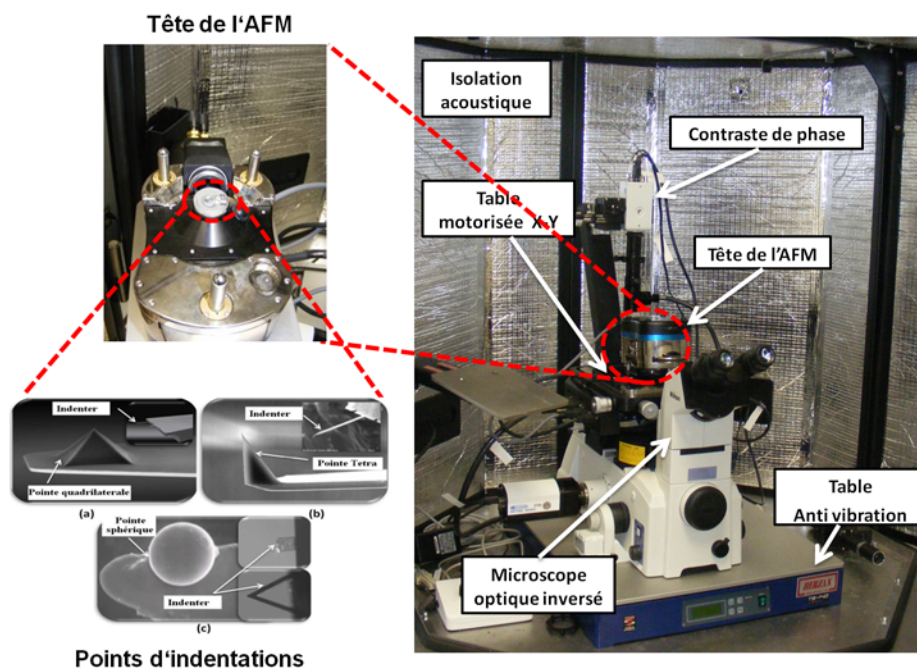


FIGURE 6.15 – Microscopie à force atomique de type *MFP3D – BIO™ Asylum Research Santa Barbara, CA*.

proportionnelle à la force. La pointe est utilisée pour indenter localement la cellule. La gamme de forces applicables par cette technique va de la dizaine de pN à quelques centaines de nN. Pour la mesure des propriétés viscoélastiques des cellules en régime fréquentiel, les forces appliquées restent faibles (typiquement quelques centaines de pN) ; la pointe n'est alors que posée sur la cellule. On mesure la force appliquée à la cellule ainsi que la déformation de celle-ci, et leur rapport est proportionnel au module viscoélastique. Outre les propriétés viscoélastiques, les nanoindentations AFM sont utilisées pour évaluer la rigidité de la cellule. C'est cette méthode que nous utiliserons tout au long de notre étude expérimentale. Le microscope à force atomique utilisé dans nos expériences de nanoindentation (figure 6.15) est du type *MFP3D – BIO™ Asylum Research Santa Barbara, CA* (voir Annexe D). Les pointes utilisées lors des expérimentations AFM sont les pointes MSCTR, fournies par la société VeecoProbesR. Les microleviers sont en nitrure de silicium et leur très faible constante de raideur (0.01 N.m^{-1}) autorise des mesures de forces particulièrement précises. Les pointes utilisées sont de forme (figure 6.15) :

- sphérique : rayon de courbure de 10 nm, diamètre $5 \mu\text{m}$;
- pyramidale : hauteur comprise entre 2,5 et $3,5 \mu\text{m}$.

Le but des essais expérimentaux de nanoindentation AFM étant d'évaluer la reproductibilité de la mesure (dérivée au point d'indentation maximale de la courbe force-déplacement et calcul du module de Young local), de la stabilité de la mesure au cours du temps et de l'effet du milieu de culture.

6.4.2 Préparation du milieu de culture cellulaire

Les cellules souches sont des cellules indifférenciées capables de proliférer, de s'autorenouveler et de se différencier, dans certaines conditions, en un, plusieurs ou tous les types cellulaires. Dans nos expériences, nous avons utilisés des cellules souches embryonnaires (ES) de souris en anglais *embryonic stem cells* qui ont été au préalable isolées et cultivées *in vitro* dans un

état indifférencié. Ce sont des cellules souches pluripotentes présentes dans l'embryon de souris peu de temps après la fécondation jusqu'au stade de développement dit de blastocyste où elles constituent encore la masse cellulaire interne. La préparation du milieu de culture cellulaire a été préparé au Department of Animal and Avian Sciences, Université du Maryland, Etats-Unis. Des boîtes de Pétri possédant une surface d'accroche spécifique (surface collagène) ont été utilisés afin de faciliter l'adhésion cellulaire des cellules ES. Ces cellules ont la capacité de s'autorenouveler de façon illimitée lorsqu'elles sont placées dans un milieu approprié. Ces dernières ont été ensemencées dans un milieu de culture de type R_1 (SCRC-1011, American Type Culture Collection (ATCC), Manassas, VA). Le milieu de culture des cellules est composé de 1000 U/ml de facteur inhibiteur de leucémie (LIF, ESGRO, Chemicon, Temecula, CA), 15% de sérum de veau f1Jtal (FBS)(Invitrogen), 2mM L-glutamine, 1x acides aminés essentiels et 0.1mM de mercaptoethanol. La différenciation des cellules est provoquée par la présence du LIF -Leukemia Inhibitory Factor- dans la culture. Juste avant de réaliser les tests, les cellules vivantes sont séparées en utilisant de la Trypsine afin d'obtenir des cellules souches individuelles. Les expérimentations ont été réalisées sur

- des cellules ES vivantes différenciées et indifférenciées pour des temps de culture de 0, 3 et 6 jours,
- des cellules ES fixées différenciées et indifférenciées pour les mêmes temps de culture de 0, 3 et 6 jours.

Les cellules ES indifférenciées et différenciées sont ensuite conservées dans un tampon PBS (Phosphate Buffered Saline) et incubées à 37 °C en présence de 0.8 mL de la solution de substrat réactif.

6.4.3 Calibration : détermination de la constante de raideur du cantilever

La calibration de la tête AFM comprend la calibration de la sonde locale, constituée d'un microlevier sur lequel une pointe est fixée- et la calibration de l'actionneur piézoélectrique de balayage de la sonde locale. Dans un premier temps la sensibilité de l'actionneur piézoélectrique est évaluée. Le but de cette calibration est de savoir précisément de combien se déplace l'échantillon pour une tension donnée. Pour cela, une courbe de force sur un échantillon de référence présentant une surface dure est enregistrée. L'utilisation du logiciel commercial MFP3D d'IGOR Pro (Asylum Research, Santa-Barbara, US) fourni avec le microscope permet la détermination de la sensibilité à partir de la courbe réalisée. Les pointes sont changées régulièrement à chaque expérimentation, elles ne sont utilisées que quelques heures au total.

A la suite de cette calibration est déterminée la constante de raideur du microlevier par la méthode des *fluctuations thermiques* [64] qui consiste à mesurer les fluctuations de la déflexion du microlevier au repos. Ces mesures sont réalisées dans le milieu de culture afin de maintenir les mêmes conditions expérimentales que lors des essais sur cellules. L'amplitude des fluctuations d'origine thermique est directement reliée à la constante de raideur du microlevier par la relation :

$$K\langle Z^2 \rangle = k_B T \quad (6.1)$$

où k_B est la constante de Boltzmann, T la température absolue, $\langle Z^2 \rangle$ la moyenne des carrés des positions du microlevier par rapport à sa position moyenne prise comme référence ($\langle Z \rangle = 0$), et K une constante proportionnelle à la constante de raideur du ressort.

Le calcul de la constante de raideur du microlevier par la méthode des "fluctuations thermiques" revient à :

1. Déterminer la pente de la région de contact à partir d'une courbe de force pour déterminer la sensibilité (nm/V)(Voir la figure 6.16)

2. Mesurer la densité spectrale de puissance thermique (DSP) pour déterminer la fréquence de résonance du microlevier confirmant ainsi le bon alignement entre la source laser et le microlevier. Les résultats sont ensuite tracés en exprimant l'amplitude de la déviation du cantilever déterminé par la transformée de Fourier ($m/\sqrt{Hz}$) en fonction de la fréquence (Hz) (Voir la figure 6.17).

Le logiciel commercial (MFP3D d'IGOR Pro)³ permet alors la détermination de la constante de raideur du microlevier.

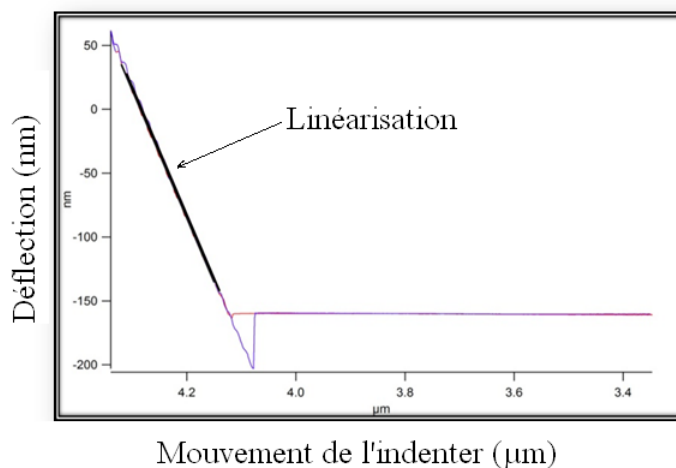


FIGURE 6.16 – Détermination la sensibilité (nm/V) de microlevier.

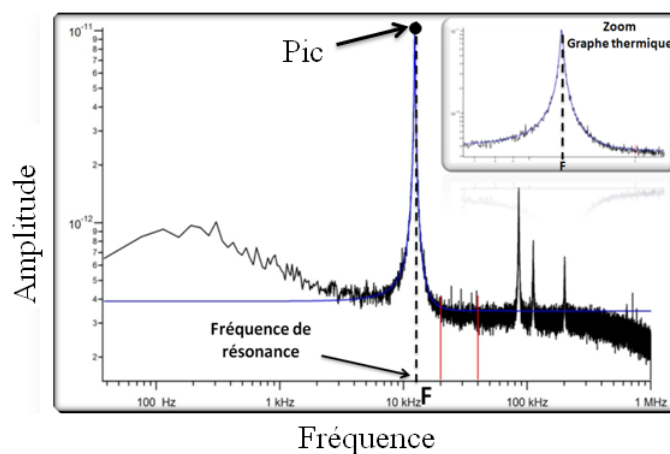


FIGURE 6.17 – Détermination et calcul la fréquence de résonance de microlevier.

6.4.4 Résultats expérimentaux

L'indentation par AFM comme outil pour l'étude de la mécanique cellulaire n'est pas encore totalement maîtrisée. De nombreux artefacts de mesure restent délicats à prendre en compte, et des difficultés dans l'interprétation des résultats poussent à l'amélioration de la modélisation du contact entre la pointe et une cellule. C'est pourquoi, nous avons effectué plusieurs séries de

3. Interface logiciel qui fonctionne avec le système MFP3D-BIO Asylum Research qui permet la visualisation et le contrôle du système

TABLE 6.3 – Propriétés géométriques et mécaniques.

	Cellules ES vivantes	Cellules ES fixées
Module de Young (KPa)	0.169	26.7
Coefficient de Poisson	0.49	0.49
Diamètre de la cellule(μm)	$\simeq 12$	$\simeq 12$
Hauteur de la cellule(μm)	8	8

mesures d'indentation appliqués sur une grande population de cellules souches embryonnaires indifférenciées : cellules vivantes et cellules fixées. La caractérisation cellules ES est réalisée par l'intermédiaire d'un microlevier muni d'une pointe sphérique de raideur $K_1 = 0.06 N/m$ (cellules vivantes) et $K_2 = 1.75 N/m$ (cellules fixées).

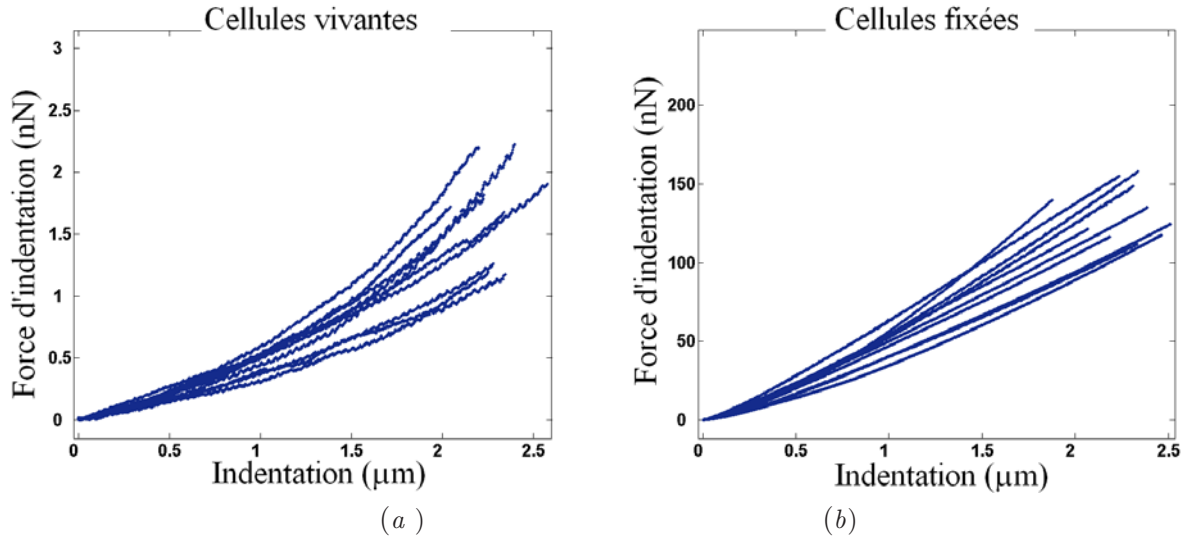


FIGURE 6.18 – Relation entre la force d'indentation et la profondeur d'indentation : (a) cellules ES vivantes, (b) cellules ES fixées.

Les figures 6.18(a), 6.18(b) présentent 10 courbes de force d'indentation (correspondant à 10 cellules testées) en fonction de la déformation. L'indentation imposée étant égale à $2\mu m$ avec une vitesse d'indentation de $4\mu m/s$. A partir de toutes les indentations réalisées, nous évaluons le module élastique en utilisant la méthode décrite au chapitre IV. Le tableau 6.3 résume les caractéristiques mécaniques et géométriques des cellules ES testées.

On peut observer que les résultats présentent une très bonne reproductibilité : les courbes obtenues restent quasi identiques pour différentes cellules. Nous remarquons également que les cellules fixées sont plus rigides que les cellules vivantes. Les deux types de cellules envisagées dans cette étude présentent donc bien une rigidité différente. Les cellules ES fixées (traités à la jasplakinolide) présentent une profondeur moyenne d'indentation plus faible que les autres, associée à un module élastique plus élevé. Cependant, il est à noter que les fonctions de répartition des dispersions de modules élastiques sur la dizaine de cellules souches embryonnaires étudiées montrent une non uniformité de la réponse mécanique intracellulaire dépendante du lieu d'indentation. Il est observé une forte variation de la valeur du module élastique en fonction de la zone indentée. On peut aussi observer que le comportement des cellules est fortement non linéaire et viscoélastique comme le prouve les résultats présentés à la Figure 6.19.

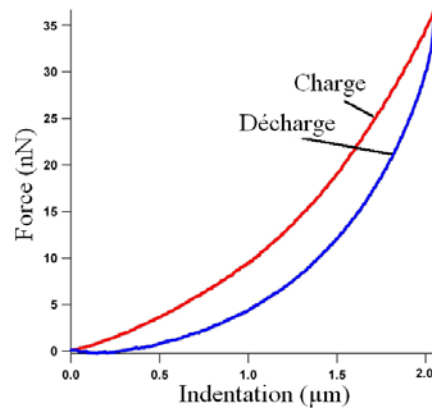


FIGURE 6.19 – Nature viscoélastique des propriétés des cellules souches embryonnaires de souris..

6.4.5 Validation expérimentale du simulateur

La Fig.6.20 présente la configuration matérielle du simulateur SIMIC. L'interface graphique utilisateur présente l'environnement virtuel de simulation. Le contact entre la sonde et la surface jouant un rôle important dans les mécanismes d'interaction, plusieurs pointes en nitrure de silicium ou en silicium cristallin ont été maillées avec différentes configurations géométriques (sphérique, conique et pyramidale). Suivant la topologie du maillage de la pointe choisie, la gestion de collision pointe-cellule implique une gestion de collisions complexe faisant intervenir des multi-contacts de type arête-triangle ou triangle-triangle qui sera la plupart du temps à l'origine d'instabilités haptiques. Pour ce faire, nous avons choisi de modéliser l'extrémité de la pointe AFM par une sphère de diamètre variable. Le rayon sera de $5\text{ }\mu\text{m}$ pour une pointe sphérique (le même que l'étude expérimentale), de 2 à 50 nm pour une pointe pyramidale et tétraédrique (les différentes caractéristiques sont présentées à l'annexe C). Une configuration sphérique est représentée à la Figure 6.20. Bien que le microlevier ne soit pas représenté sur l'environnement virtuel, il est possible d'introduire un ressort de faible raideur (de 0,01 à 50N/m) pour prendre en compte l'élasticité du microlevier et étudier sa déflexion lors de la nanoindentation AFM.

A partir des paramètres mécaniques et géométriques identifiés précédemment (voir tableau 6.3), nous avons simulé l'interaction pointe-cellule sur des configuration géométriques identiques aux cellules ES indifférenciées testées (diamètre cellule : $12\text{ }\mu\text{m}$, diamètre pointe sphérique : $5\text{ }\mu\text{m}$). Afin de simuler le comportement de déformation d'une cellule ES en temps réel, nous avons considéré les deux cas tests précédents.

Les figures 6.21 et 6.22 confrontent les résultats issus des données expérimentales et ceux issus des simulations d'interaction temps-réel. Ces courbes présentent la force produite par la simulation d'une indentation par une pointe sphérique lorsque le mouvement de l'opérateur est assisté par un guide haptique. Nous pouvons constater que l'accord obtenu est tout à fait satisfaisant entre les courbes expérimentales et les courbes simulées. Dans les deux cas de figure les résultats sont probants car nous nous sommes assurés que le centrage de la pointe AFM par rapport au sommet de la cellule était réalisé. Dans ces conditions d'indentation AFM optimales la réaction de contact normal est maximale ($F_z = F_{zmax}$) alors la réaction de contact tangentielle est quasi-nulle ($F_x \approx 0$). Un léger décalage de la pointe autour du sommet de la cellule peut provoquer une augmentation de la réaction de contact tangentielle F_x à l'origine d'erreurs de mesure. Les figures 6.24(a), 6.24(b) montrent clairement les résultats de déformations 3D de la cellule pour les deux cas précités. On constate en effet que le simulateur SIMIC peut aisément quantifier le taux d'imprécision sur la mesure d'indentation au travers de la simulation interactive.

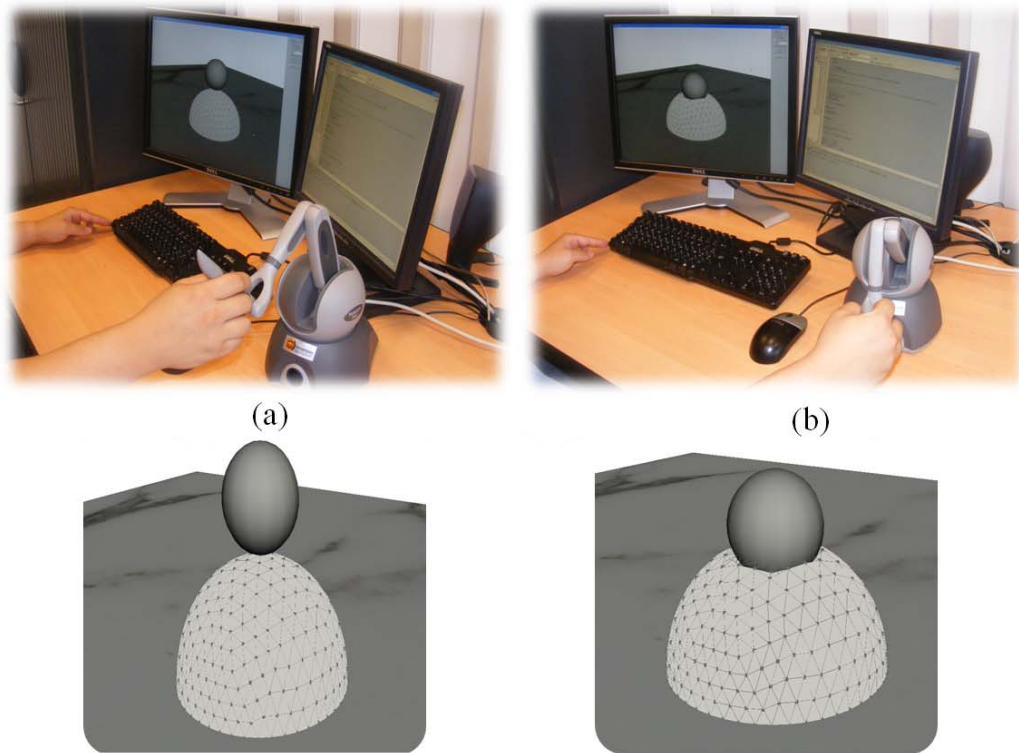


FIGURE 6.20 – Simulateur interactif d'indentation d'AFM en temps réel en utilisant un micro-levier à pointe sphérique : les figures (a) et (b) présentent l'interface graphique et haptique du simulateur, les figures (1), (2) illustrent les déformations dues à un effort vertical appliqué à la cellule.

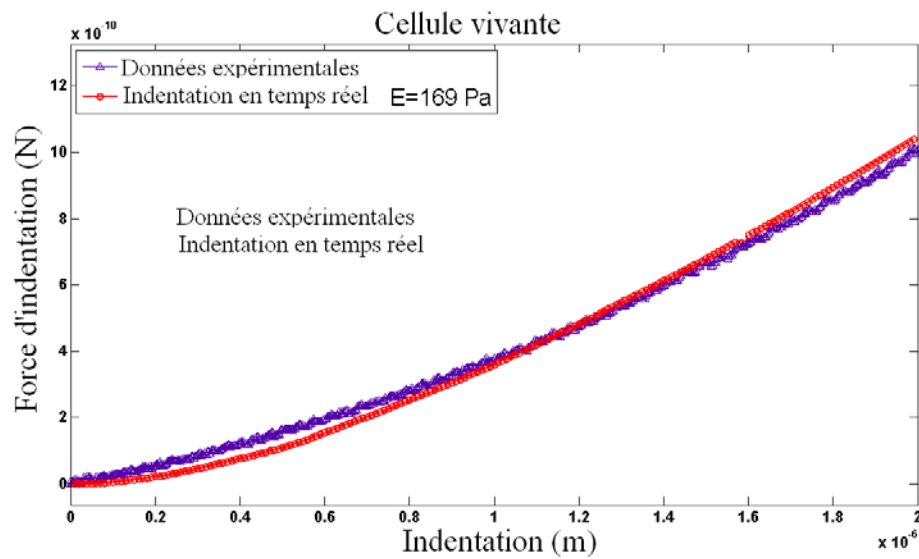


FIGURE 6.21 – Validation et comparaison entre des données expérimentales et des résultats d'interaction pour une cellule vivante.

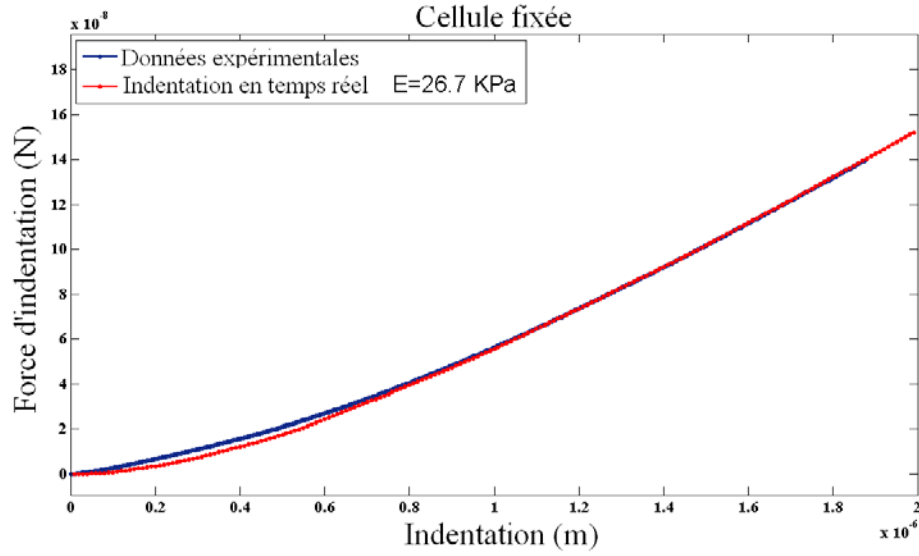


FIGURE 6.22 – Validation et comparaison entre des données expérimentales et des résultats d'interaction pour une cellule fixée.

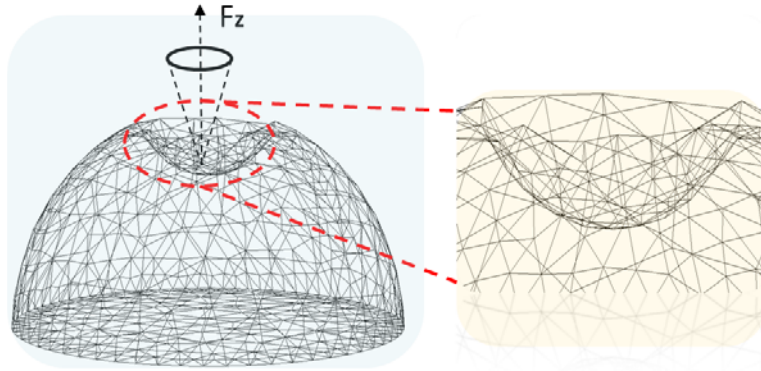


FIGURE 6.23 – Représentation d'un maillage surfacique afin de mieux visualiser les déformations

Les figures 6.25(a), 6.25(b) illustrent l'intensité des différents composantes de la force en fonction de la profondeur d'indentation. Nous remarquons que pour une indentation au centre de la cellule, la composante F_z est importante comparée à la composante F_x qui est presque négligeable, ce qui n'est plus le cas dans une configuration décentrée. Des lois microphysiques liées aux forces d'adhésion et de frottement entre la pointe et la surface cellulaire sont à l'étude en vue d'optimiser le réalisme physique du simulateur.

6.5 Conclusion

Nous avons présenté dans ce chapitre l'implémentation matérielle et logicielle de notre simulateur SIMIC dédié à la simulation interactive pour l'aide à l'assistance et à l'apprentissage du geste de microinjection et de nanoindentation cellulaire. Afin de valider les résultats d'interaction

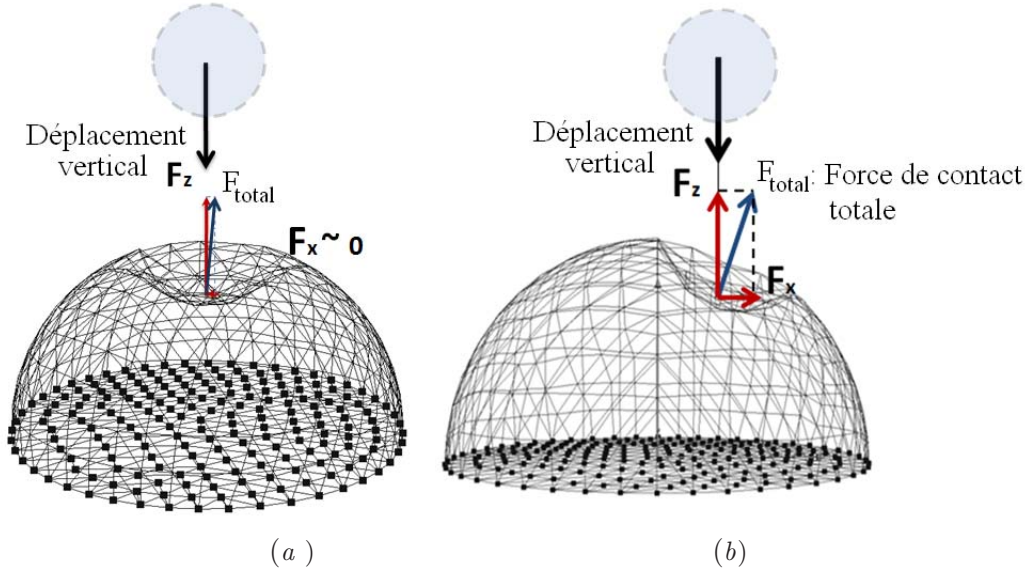


FIGURE 6.24 – Indentation verticale d’AFM : (a) force appliquée au centre de la cellule, (b) force appliquée à coté.

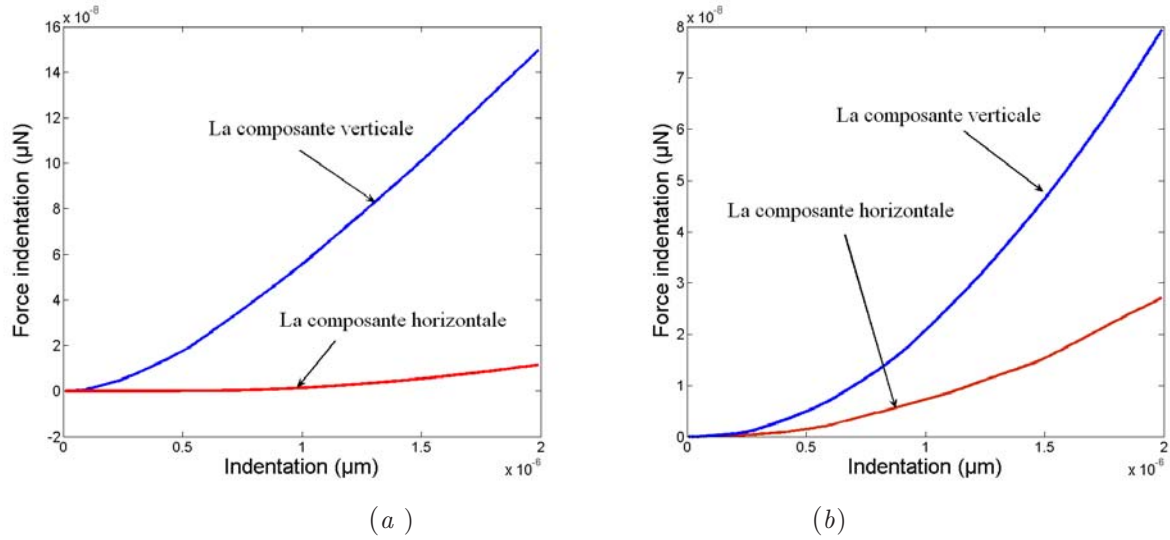


FIGURE 6.25 – Les composantes de la force de réaction : (a) indentation appliquée au centre de la cellule, (b) indentation appliquée à coté .

haptique basés sur des modèles biomécaniques physiques, nous avons mené des études expérimentales au travers de plateformes microrobotiques dédiés à la microinjection intracellulaire et à la nanoindentation extracellulaire. De manière générale, l’analyse des résultats obtenus montre que les modèles viscoélastiques non linéaires utilisés sont bien adaptés à la simulation temps-réel de la déformation de tissus biologiques mous. Dans les deux cas de simulation considérés, nous avons opté pour un rendu visuel supérieur à 25 Hz et une fréquence appropriée au rendu haptique de 300Hz permettant un bon compromis réalisme-précision. Les imprécisions liées à l’interaction haptique dépendent essentiellement de deux paramètres : la complexité du maillage et la précision du modèle biomécanique identifié expérimentalement. Dans le premier cas, les configurations de

maillages utilisées représentent de manière réalistes le comportement biomécanique des cellules. Dans le deuxième cas, les incertitudes de modélisation (liées l'identification expérimentale des paramètres biomécaniques) et de mesure (liées à la géométrie de la cellule) peuvent conduire à des rendus haptiques faussés. Pour cela, de nombreuses nanoindentations AFM ont été menées sur plusieurs populations de cellules souches embryonnaires (vivantes ou fixées) avec des cultures distinctes (non-différenciés et différenciés) en vue d'évaluer de manière locale et globale la rigidité de la cellule. D'autres essais mécaniques de type de nanotraction ou nanocompression devront être également investiguées en vue d'obtenir des caractéristiques mécaniques globales.

Conclusion et Perspectives

Synthèse Générale

L'objectif fondamental du simulateur développé dans ce travail de thèse est de développer un outil interactif de formation clinique et éthique au travers duquel l'opérateur pourra se former et s'entraîner aux techniques de micromanipulation biologiques (micro-injection ICSI et indentation AFM) en développant une gestuelle proche de celle exécutée en réalité avec une meilleure maîtrise. Dans le cas des techniques ICSI, les nouveaux praticiens n'auront pas à s'entraîner sur des ovocytes test provenant d'animaux ou encore de vieux ovocytes humains. La conception d'un tel environnement de simulation nécessite de trouver un compromis entre la complexité des modèles adoptés et la vitesse de calcul. La recherche de structures topologiques et de modèles de déformation des tissus biologiques constitue donc un verrou scientifique important. Les résultats illustrés dans ce travail ont permis d'apporter plusieurs contributions.

Nous avons proposé dans un premier temps un modèle biomécanique de l'ovocyte (structure de tenségrité) en utilisant un modèle hybride (modèle éléments finis masse-tenseur connecté à un modèle discret masse-ressort-viscosité) pour la modélisation de déformations de la structure. Pour améliorer le réalisme de la simulation, le modèle de Saint Venant-Kirchhoff a permis de prendre en compte les caractères viscoélastique et non linéaire des tissus biologiques soumis à de grands déplacements. Ces mêmes modèles ont également été adoptés pour modéliser les déformations mécaniques d'indentation AFM de cellules souches embryonnaires de souris. La restitution dynamique du comportement non linéaire et viscoélastique des cellules a été rendu possible en satisfaisant les contraintes temps réel du simulateur.

La modélisation des interactions entre l'outil et la cellule a nécessité le développement d'algorithmes de détection et de gestion de collisions. L'algorithme proposé par Redon a été utilisé dans le cas des objets déformables pour la gestion de détections de collisions multiples. La synthèse du rendu haptique est basé sur la méthode de pénalité non linéaire. Compte-tenu des instabilités haptiques rencontrées, nous avons opté pour un couplage virtuel entre l'interface haptique et le modèle virtuel 3D. Enfin, des guides visuels et haptiques ont été également proposés en vue de guider et assister le geste opératoire du technicien.

Finalement, les différents modèles proposés ont été implémentés dans le simulateur SIMIC que nous avons développés pendant cette thèse. Ce dernier est dédié à la simulation interactive pour l'aide à l'apprentissage du geste de microinjection et de nanoindentation cellulaire. Dans les deux cas considérés, nous avons opté pour un rendu visuel supérieur à 25 Hz et une fréquence

appropriée au rendu haptique de 300Hz permettant un bon compromis réalisme-précision. Une validation expérimentale des modèles biomécaniques proposés a nécessité le développement de deux plateformes micro-robotiques de manipulation. Une première plateforme télérobotique à retour d'effort, développé au sein de l'Institut PRISME, a permis de valider le modèle d'interaction lors d'une tâche de microinjection. Une deuxième plateforme expérimentale de nanoindentation par AFM à retour d'effort, développé au RAMS Laboratory, Université du Maryland, a validé les essais mécaniques d'indentation AFM sur des cellules souches embryonnaires de souris. Ces deux campagnes d'essais ont montré de manière convaincante les performances du simulateur SIMIC en termes de ressenti de force, de réalisme des modèles de déformation et d'interactivité homme-machine.

En conclusion, il est important de noter que ces travaux se sont attachés à traiter l'intégralité du développement d'un simulateur biologique interactif : les tissus mous, les interactions temps-réel, la validation expérimentale et le système haptique dédié.

Perspectives futures

L'ensemble des recherches menés dans cette thèse CIFRE, financé par le Centre de Recherche en Biologie de Baugy, avait pour vocation de pouvoir disposer d'un outil de simulation interactif adapté à la micromanipulation biologique, notamment à la micro-injection intracellulaire de cellules flottantes et à l'indentation extracellulaires de cellules adhérentes. L'utilisation du simulateur SIMIC comme outil de formation, d'assistance et de guidage du geste nécessite néanmoins un travail important de développement et d'évaluation en vue de son utilisation. Plusieurs perspectives de recherche sont envisagées :

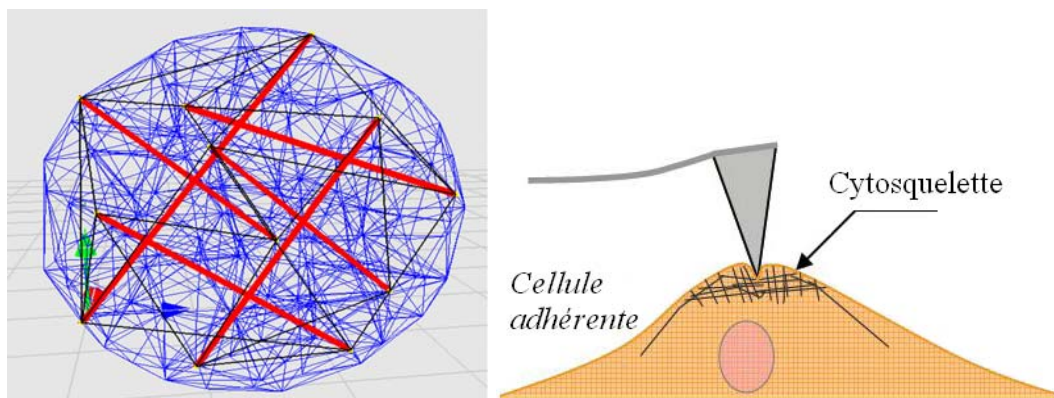


FIGURE 6.26 – Modèles réalistes de cellules (a) flottantes et (b) adhérentes comprenant le cytosquelette et le cytoplasme.

A court terme

Les améliorations à court terme concernent essentiellement les modèles déformables que nous avons proposé.

- *Micro-injection ICSI* : Un nouveau modèle de déformation beaucoup plus réaliste de l'ovocyte est en cours d'intégration. Le modèle proposé est représenté à la figure 6.26(a). Celui-ci combine les deux modèles proposés au chapitre IV pour former la structure ovocytaire, à savoir le cytoplasme, le cytosquelette et la biomembrane. Ce type de modèle pourra refléter

l'état de maturation de l'ovocyte qui n'est pas pris en compte dans le modèle actuel. Dans ce cas précis, les opérations de perforation des barrières ovocytaires nécessitera des changements de topologie importants. Ces changements de topologie du maillage nécessiteront une reformulation de la subdivision des tétraèdres en contact avec la pipette d'injection pour un fonctionnement stable en temps-réel.

- *Indentation AFM de cellules adhérentes* : Les résultats de simulation et d'expérimentation menés sur les cellules ES soumises à de faibles forces d'indentation ont montré une bonne corrélation "simulation-expérience". Ceci s'explique du fait que pour de faibles chargements seule la partie supérieure de la cellule était sollicitée. La structure sous membranaire est alors principalement responsable de la réponse mécanique de la cellule. Pour des indentations importantes ($\delta > 2\mu\text{m}$), le cytosquelette a alors une très forte importance dans les mesures de rigidités. La cellule est alors sollicitée beaucoup plus globalement, ce qui nécessite de prendre en compte dans les simulations la réponse mécanique causée par la présence du cytosquelette d'actine (figure 6.26(b)). De plus, il sera nécessaire d'introduire des lois de contact et frottement, pour reproduire des phénomènes tels que l'adhésion et le glissement au contact.

A moyen terme

En vue de l'utilisation du simulateur SIMIC dans un laboratoire de procréation assistée, différentes campagnes de validation devront être menées :

- Il sera alors important de bien définir le protocole d'évaluation, afin d'identifier les points critiques. Une campagne de mesures au sein du LBDR (Hôpitaux de Paris - Salpêtrière), devra être menée en vue de faire l'acquisition de données sur des cas réels (position du geste, efforts transmis, méthodologie de ponction). Sur la base de ces données, des algorithmes d'apprentissage (du type réseaux de neurones ou Q-learning) seront intégrés au simulateur afin d'offrir une aide personnalisée au geste de l'opérateur.
- Des outils de guidage et d'assistance seront ainsi intégrés au fur et à mesure des tests de validation tels que des modes opératoire " nouvel apprenant " (apprentissage du geste, resenti du geste de ponction, évaluation de la maturité des ovocytes...) et " perfectionnement " (injection de substances tests particulières tels que les plasticides, spermatozoïdes, gènes, ou molécules ADN).
- Finalement, une étude ergonomique auprès des opérateurs permettra de vérifier l'adaptation aux modalités sensorielles du biologiste. Une validation clinique permettra de valider la maîtrise du geste opératoire, le taux de réussite ainsi que l'amélioration de la perception sensorielle de l'opérateur.

Bibliographie de l'auteur

Publications : (R) Revues, (CI-INV) Conférences internationales invitées, (C-I) Conférences Internationales, (C-N) Conférences Nationales

Modélisation Éléments Finis et Simulation Biomécanique en Temps Réel

R. **H. LADJAL**, J.L.HANUS, A.PILLARISETTI, C. KEEFER, A.FERREIRA and J-P. DESAI, "Atomic Force Microscopy-Based Single-Cell Indentation : Experimentation and Finite Element Simulation", IEEE Transactions on Biomedical Engineering. (à soumettre)

R. **H. LADJAL**, J.L.HANUS, A.PILLARISETTI, C. KEEFER, A.FERREIRA and J-P. DESAI, " Reality-based Real Time Cell Indentation Simulator", IEEE/ASME TRANSACTIONS ON MECHATRONICS.

C-I. **H. LADJAL**, J.L.HANUS, A.PILLARISETTI, C. KEEFER, A.FERREIRA and J-P. DESAI, "Atomic Force Microscopy-Based Single-Cell Indentation : Experimentation and Finite Element Simulation", IEEE International Conference on Robots and Intelligent Systems (IROS'09), 11-15 October, 2009, St. Louis, MO, USA.

C-I. A.Pillariseti, **H. LADJAL**, C. KEEFER, A.FERREIRA and J-P. DESAI, " Mechanical Characterization of Mouse Embryonic Stem Cells", The 31st Annual International IEEE EMBS Conference (EMBC'09), 2-6 September, 2009, Hilton Minneapolis, MN, USA.

CI-INV. **H. LADJAL**, J.L.HANUS, A.FERREIRA, "Methodologies of Dynamic Cell Injection Techniques Using FEM Biomechanical Modeling" IEEE International Conference on Biomedical Robotics and Biomechatronics (BIO ROB'08), 19-22, October 2008, Scottsdale, Arizona, USA.

C-I. **H. LADJAL**, J.L.HANUS, A.FERREIRA, "Interactive Cell Injection Simulation Based on 3D Biomechanical Tensegrity Model", IEEE International Conference on Robots and Intelligent Systems (IROS'08), Page 2296-2302, September 22-26, 2008, Nice, France.

C-N. **H. LADJAL**, J.L.HANUS, A.FERREIRA, "Simulateur Interactif pour l'Apprentissage de la Fécondation In-Vitro avec Micromanipulation (ICSI) ", 13èmes Journées de la Fédération Française d'Étude de la Reproduction(FFER'08), 17-18-19Sept. 2008, Paris, France.

Téléopération et Interaction Haptique

R. **H. LADJAL**, J.L.HANUS, A.FERREIRA, "Towards Robotic Injection Cell System with Vision and Haptic Rendering", IEEE/ASME Transactions on Mechatronics. (à soumettre)

C-I. **H. LADJAL**, J.L.HANUS, A.PILLARISSETTI, C. KEEFER, A.FERREIRA and J-P. DESAI, "Haptics-Enabled Simulator for real-time Cell Indentation", IEEE International Conference on Robots and Intelligent Systems (IROS'2010).

C-I. J. KIM, **H. LADJAL**, D. Folio, A.FERREIRA and JUNG. KIM, "Telerobotic Shared Control Schemes with Vision-Based Position Servoing for Single Cell Manipulation (IROS'2010).(soumis)

C-I. **H. LADJAL**, A.FERREIRA, "Semi-Automated Control of AFM-Based Nanomanipulation Using Potential Fields", ", International Federation of automatic Control, 17th (IFAC'08) World Congress, July 6-11, 2008, Seoul, Korea.

C-I. M.AMMI ,**H. LADJAL**, A.FERREIRA, "Evaluation of 3D Pseudo-Haptic Rendering using Vision for Cell Micromanipulation", IEEE International Conference on Robots and Intelligent Systems (IROS'06), 9-15Oct. 2006, China.

C-I. M.AMMI , **H. LADJAL**, A.FERREIRA, "Virtual fixtures for robot-assisted micromanipulation, 5th International Workshop on Microfactories", IWMF October 25-27 2006, Besancon, France

Identification, Contrôle et Commande

R. **H. LADJAL**, D.FOLIO, A.FERREIRA, " Contrôle robuste H-infini d'un micromanipulateur piezoélectrique pour l'injection intracellulaire ", Journal Européen des Systèmes Automatisés (JEZA2010). (révision)

C-I. **H. LADJAL**, J.L.HANUS, A.FERREIRA, "H-infinity Robustification Control of Existing Piezoelectric-Stack Actuated Nanomanipulators", IEEE International Conference on Robotics and Automation (ICRA'09), 12-17 May.2009, Kobe, Japan.

C-N. **H. LADJAL**, A.FERREIRA, "Contrôle Robuste H-infini d'un Micromanipulateur Piézo-électrique pour l'Injection Intracellulaire" Troisième journée du GT " Manipulation multi-échelle ", GDR Robotique, 22 Janvier. 2009, Besançon, France.

C-I. **H. LADJAL**, M.BOUKNEIFER, A.FERREIRA, " Contrôleur robuste H-infini pour micro-manipulateur piézoélectrique en micro-injection intracellulaire", International Conference Francophone Automatic (CIFA'08), September 3-5, 2008, Bucharest, Romania.

ANNEXE A

.1 Modélisation et identification des axes X-Y-Z du micromanipulateur

En vue de synthétiser notre correcteur du système "actionneur+correcteur", nous nous proposons de modéliser et d'identifier son comportement. Afin de simplifier l'étude, nous considérons un modèle linéaire autour des points de fonctionnement du système.

.1.1 Modélisation

Le concept de modèle mathématique d'un processus est vital dans le domaine de l'automatique avancée. Afin d'identifier le couple "actionneur+correcteur" pour chaque degré de liberté du micromanipulateur, nous avons opté pour un modèle de représentation paramétrique. Le modèle linéaire proposé est caractérisé par un ensemble fini de coefficients des polynômes au dénominateur et au numérateur de la fonction de transfert. La forme classique du modèle est alors la suivante :

$$H(z) = \frac{b_0 z^m + b_1 z^{m-1} + \dots + b_{m-1} z + b_m}{a_0 z^n + a_1 z^{n-1} + \dots + a_{n-1} z + a_n}. \quad (2)$$

.1.2 Identification

Le système à identifier est constitué d'un actionneur piézoélectrique connecté à une carte d'acquisition. La carte d'acquisition possède des entrées et des sorties numériques de type CAN et CNA. La méthode des moindres carrés simples a été retenue pour l'identification du système. Ce choix est motivé par la simplicité qu'elle offre et du fait que dans de nombreux cas pratiques cette méthode suffit à elle seule pour faire une identification satisfaisante. De plus, étant donné que d'une part on considère le modèle linéaire au voisinage du point de fonctionnement, et d'autre part le modèle identifié ne sera pas mis à jour en temps réel, l'utilisation de cette méthode d'identification est suffisante [103]. La technique des moindres carrés se résume à déterminer un vecteur de paramètres ϑ minimisant le vecteur d'erreurs entre la mesure et le modèle, soit : $\varepsilon(t_k) = y(t_k) - \phi(t_k)\vartheta = y_k - \phi_k\vartheta = \varepsilon_k$.

La fonction $J(\vartheta) : \mathbb{R}^p \rightarrow \mathbb{R}$, à minimiser est définie par :

$$J(\vartheta) = \|\varepsilon_k\|^2 = \varepsilon_k^T \varepsilon_k = (y_k - \phi_k\vartheta)^T (y_k - \phi_k\vartheta). \quad (3)$$

Le vecteur de paramètres qui minimise le critère $J(\vartheta)$, noté $\hat{\vartheta}_k$, est appelé vecteur de paramètres estimés. En supposant que la matrice d'observation ϕ_k est de rang plein p , le vecteur de paramètres estimé est unique et est donné par :

$$\hat{\vartheta}_k = (\phi_k^T \phi_k)^{-1} \phi_k^T y_k. \quad (4)$$

Différents types de signaux peuvent être utilisés pour identifier le système donné à savoir un signal carré, triangulaire ou encore sinusoïdal. Cependant, nous avons préféré un Signal Binaire Pseudo Aléatoire (SBPA) plus représentatif (cf. figure 30(a)) du système réel car il possède l'avantage d'avoir

à lui seul plusieurs harmoniques d'excitation correspondant au spectre fréquentiel des signaux d'entrée (entre $0 < f < 3$ kHz).

.1.3 Résultats expérimentaux

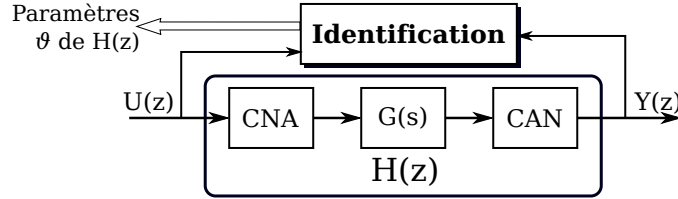


FIGURE 27 – Système d'identification de la fonction de transfert pour chaque axe.

Le système d'identification du processus est résumé par la identification. Dans le cadre de notre étude, la fonction de transfert dans le domaine discret (2), se réduit à :

$$H(z) = \frac{b_0 z^2 + b_1 z + b_2}{a_0 z^3 + a_1 z^2 + a_2 z + a_3}. \quad (5)$$

Ainsi, les paramètres fournis par l'identification sont définis par les a_i et b_j de la fonction de transfert (5). Les termes $U(z)$ et $Y(z)$ représentent les transformées en Z de l'entrée du signal numérique (SBPA) et la sortie numérique du système. Le système est muni de convertisseurs numérique/analogique (CNA) et analogique/numérique (CAN) permettant d'effectuer des conversions du domaine discret vers le domaine continu et vice-versa. $G(s)$ représente la fonction de transfert du système en continu. Les différentes étapes de la synthèse des correcteurs sont résumés par la Principe.

FIGURE 28 – Description des différentes étapes de synthèse du correcteur.

Notons que l'identification a été faite dans un premier temps en boucle ouverte. Cependant, la synthèse du correcteur a montré une limitation du gain maximal supporté par les convertisseurs CNA de la carte constructeur. Compte tenu de cette limitation technologique, une identification a été menée en boucle fermée ce qui procure un certain nombre d'avantages en termes de stabilité et de prise en compte des harmoniques de grande amplitude mais réduit par conséquent la bande passante du système.

L'identification a été effectuée pour plusieurs points de fonctionnement avec des incréments successifs de $10\mu\text{m}$ pour une étendue de mesure comprise entre $0\mu\text{m}$ et $60\mu\text{m}$ (cf. figure 29). Les fréquences de fonctionnement sont inférieures aux fréquences de résonance du système. La moyenne de l'ensemble de ces paramètres (pour une plage spécifique) a permis l'identification des modèles définis par les équations suivantes pour les axes X , Y et Z respectivement :

$$H_x(z) = \frac{0.00535z^2 + 0.0271z + 0.0507}{z^3 - 0.00557z^2 + 0.0196z - 0.93} \quad (6)$$

$$H_y(z) = \frac{0.003z^2 + 0.00741z + 0.0117}{z^3 - 0.00579z^2 + 0.025z - 0.997} \quad (7)$$

$$H_z(z) = \frac{0.000556z^2 + 0.00535z + 0.00761}{z^3 - 0.00566z^2 + 0.0222z - 1} \quad (8)$$

Les résultats expérimentaux ayant permis l'identification du système sont présentés sur la figure 30.

Afin de valider les modèles retenus, une consigne de type échelon a été appliquée sur chacune des entrées du système. À titre d'illustration, les résultats expérimentaux pour l'axe X sont donnés par la échelon. L'analyse des caractéristiques montre une erreur négligeable entre la réponse du modèle obtenue et celle du système expérimental. En outre, on observe également un retard temporel correspondant aux délais de communication du réseau qui n'est pas ici optimisé.

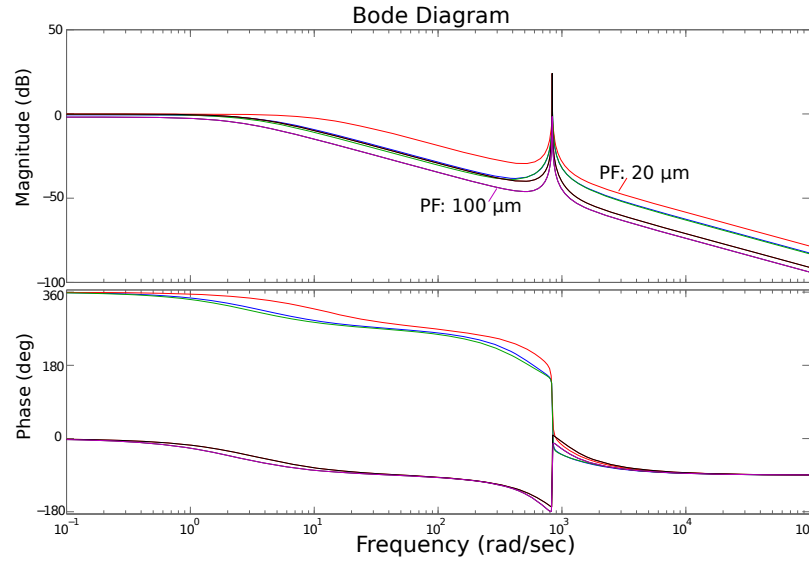
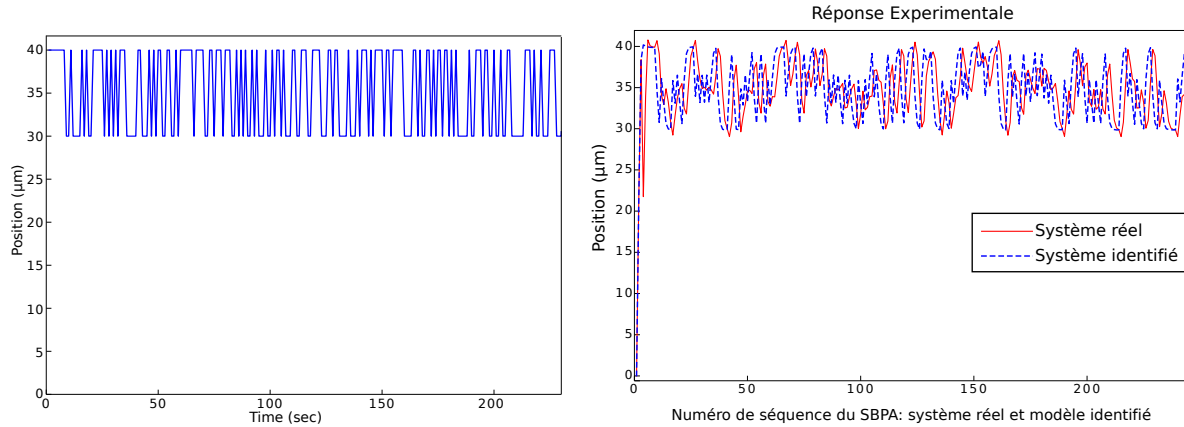


FIGURE 29 – Réponse fréquentielle de l'axe X pour différents points de fonctionnement (PF) : 20, 40, 60 ; 80 et 100 μm .



(a) Signal d'entrée pour l'identification : Signal Binaire Pseudo Aléatoire (SBPA) variant entre 30 et 40 μm . (b) Réponse expérimentale et réponse du modèle identifié

FIGURE 30 – Résultats d'expérimentations d'identification du système.

La dernière étape de la synthèse consiste à passer du domaine discret vers le domaine continu en utilisant une méthode d'approximation bilinéaire. Les fonctions continues sont représentées par les équations suivantes pour les axes X , Y et Z respectivement :

$$H_x(s) = \frac{12s^2 - 1.106 \cdot 10^4 s + 8.045 \cdot 10^6}{s^3 + 29.03s^2 + 6.971 \cdot 10^5 s + 8.13 \cdot 10^6} \quad (9)$$

$$H_y(s) = \frac{1.967s^2 - 926.4s + 6.371 \cdot 10^5}{s^3 + 0.812s^2 + 3.177 \cdot 10^5 s + 6.399 \cdot 10^5} \quad (10)$$

$$H_z(s) = \frac{1.038s^2 - 924.7s + 5.32 \cdot 10^5}{s^3 + 9.979 \cdot 10^{-13}s^2 + 3.918 \cdot 10^5 s + 6.51 \cdot 10^5} \quad (11)$$

Le tracé des différents diagrammes de Bode fait ressortir une grande similarité entre les différents axes (voir identification₄).

L'analyse des zéros et des pôles de $H_x(s)$ montre que l'axe X du système identifié reste stable car les pôles sont tous à partie réelle négative alors que les zéros sont à partie réelle positive ce qui en fait

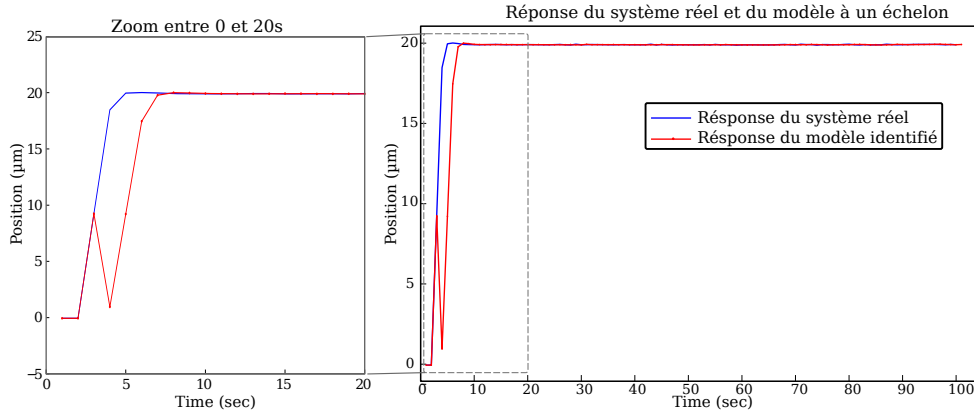


FIGURE 31 – Réponse à un échelon de tension.

un système à non minimum de phase. Les fonctions de transfert identifiées des axes Y et Z sont quant à eux instables, expliquant la différence de phase apparente par rapport à l'axe X .

.2 Synthèse de la commande

Les différentes imperfections du micromanipulateur piézoélectrique (hystérésis, dérive des caractéristiques nominales, bruit de mesure et dynamique limitée) ainsi que de la dépendance de sa dynamique vis-à-vis des charges mécaniques appliquées, un simple correcteur industriel Proportionnel-Dérivé () ne peut assurer des performances optimales. Il devient alors primordial de synthétiser un correcteur robuste qui pourra dans une certaine mesure assurer de bonnes performances du système même en cas de variation des paramètres. Plusieurs types de correcteurs robustes existent dans la littérature : régulateur RST, commandes par modes glissants, commande adaptative ou commande . Ces commandes permettent d'avoir un bon compromis performances/robustesse vis-à-vis de perturbations externes et d'incertitudes de modélisation. Parmi les correcteurs précités, la commande semble être la mieux adaptée à notre système, et en particulier la commande par loop shaping (cf. fig32).

.2.1 Commande Loop Shaping : Choix des fonctions de pondération

Le loop shaping est le fait de modeler la fonction de transfert en boucle ouverte. Le réglage des performances est obtenu en affectant un modelage ouvert (loop-shaping) du processus avant de calculer le correcteur. Cette approche se décompose en plusieurs étapes [52, 45] :

1. Ajouter à la matrice $G(s)$ du système à réguler un pré-compensateur $W_1(s)$ ou un post-compensateur $W_2(s)$ de manière à améliorer des performances du système augmenté $G_a(s) = W_2(s)G(s)W_1(s)$ (cf. fig32 :a). Typiquement, on assurera des grands gains en basse fréquence (par exemple au moyen d'une action intégrale) et des faibles gains en haute fréquence. Dans le cas monovariante, cette démarche est menée en contrôlant le gain et la phase de $G_a(jw)$ dans le plan de Bode.

$$\sigma_i(G_a(jw)) = (\lambda_i(G_a(jw)G_a(-jw)^T))^{1/2} \quad (12)$$

2. À partir des factorisations premières de $G_a(s)$, appliquer les résultats précédents pour calculer ϵ , puis un correcteur K assurant avec une valeur de ϵ légèrement inférieure à ϵ .

$$\left\| \begin{pmatrix} I \\ K \end{pmatrix} (I - W_2GW_1K)^{-1} (I \quad W_2GW_1) \right\|_{\infty} = \gamma^{-1} = \epsilon^{-1} \quad (13)$$

Ce problème peut bien sûr être résolu par la méthode de Glover-Doyle. Cependant, McFarlane et Glover [52, 45] ont montré que la valeur minimale γ est connue à l'avance :

$$\gamma = \epsilon^{-1} = \sqrt{1 + \lambda(XY)} \quad (14)$$

où λ désigne la plus grande valeur propre de XY . De plus pour tout $\epsilon < \epsilon$ un correcteur stabilisant tous les modèles appartenant à ξ_ϵ est donné par :

$$\begin{aligned} K(s) &= B^T X (sI - A + BB^T X - \gamma^2 ZY C^T C)^{-1} \gamma^2 ZY C^T \\ Z &= (I + YX - \gamma^2 I)^{-1} \\ \gamma &= \epsilon^{-1} \end{aligned} \quad (15)$$

3. La structure de correction est obtenue en combinant le correcteur K et les compensateurs W_1 et W_2 (cf. fig32 :b).

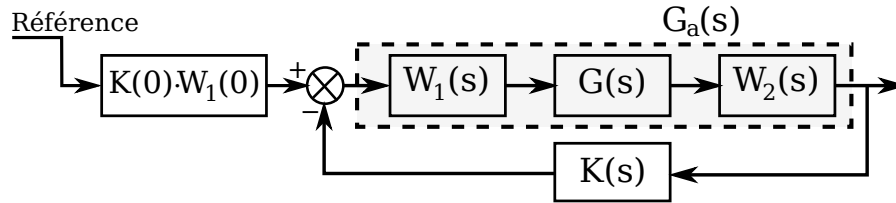


FIGURE 33 – Synthèse par loop-shaping.

Les fonctions de pondération sont choisies de manière à satisfaire les spécifications de la boucle ouverte. De ce fait, ce choix doit se faire judicieusement :

- Un grand gain en basses fréquences où les incertitudes liés aux effets d'hysteresis sont importants. Pour cela un correcteur a a été synthétisé dont l'équation pour l'axe X est la suivante :

$$W_1 = 50 \frac{10s + 35.2}{10s} \quad (16)$$

- Un gain faible en basses fréquences où les erreurs de modélisation de la dynamique du système sont les premières causes des incertitudes. Ainsi, un filtre passe bas a été synthétisé toujours pour le même axe X :

$$W_2 = \frac{1}{s + 11.3} \quad (17)$$

Le tracé du diagramme de Bode du système renforcé par les fonctions de pondération est illustré sur la figure 34.

Le correcteur final en boucle fermée, que l'on nommera K , est synthétisé à partir de la toolbox μ -analysis and synthesis et la commande `ncfsyn` de qui utilise une combinaison de modelage ouvert et la stabilité robuste [7]. Cette méthode génère un correcteur dont le degré minimal sera la somme des degrés du système étudié et les degrés des fonctions de pondération. Le correcteur K final calculé est le résultat de l'adjonction des fonctions de pondération et du correcteur K_s : $K(s) = W_1 K_s W_2$ [108]. Le correcteur synthétisé s'écrit :

$$K(s) = \frac{\text{num}}{\text{den}}, \text{ avec } \begin{cases} \text{num} = -72.66s^5 - 3345s^4 - 5.068 \cdot 10^7 s^3 \\ \quad - 1.453 \cdot 10^9 s^2 - 9.211 \cdot 10^9 s + 1.663 \cdot 10^{10} \\ \text{den} = s^6 + 86.11s^5 + 6.988 \cdot 10^5 s^4 + 4.91 \cdot 10^7 s^3 \\ \quad + 6.03 \cdot 10^8 s^2 + 1.552 \cdot 10^9 s \end{cases} \quad (18)$$

Le degré du correcteur étant assez élevé (degré 6). Afin de réduire la difficulté d'implémentation numérique, nous avons réduit la complexité du contrôleur à l'ordre 3 en utilisant une méthodologie basée sur la notion de valeurs singulières de Hankel en boucle fermée. Les résultats de la réduction montrent que le correcteur réduit est pratiquement identique au correcteur initial. Le correcteur réduit s'exprime comme suit :

$$K_r(s) = \frac{-72.69s^2 - 1824s - 6706}{s^3 + 66.88s^2 + 625.7s - 5.07 \cdot 10^{-11}}. \quad (19)$$

Finalement, l'expression finale de la fonction de transfert discrète s'écrit :

$$K_{r_d}(z) = \frac{0.1726z^2 - 0.3347z + 0.1622}{z^3 - 2.842z^2 + 2.688z - 0.846} \quad (20)$$

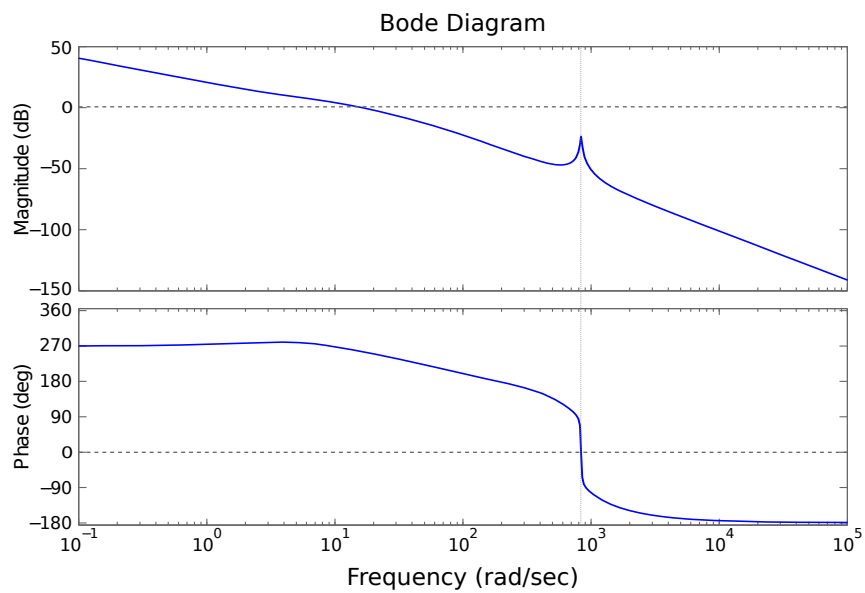


FIGURE 34 – Système renforcé par les fonctions de pondération.

FIGURE 35 – Correcteur initial(-) et correcteur réduit(*).

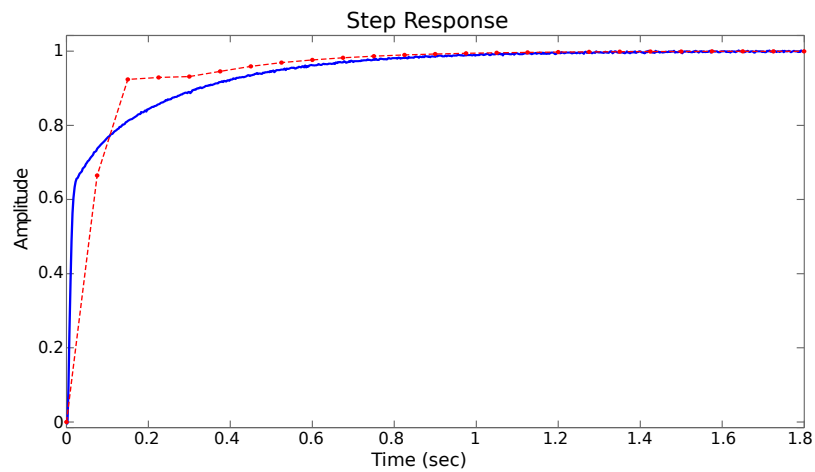


FIGURE 36 – Comparaison entre le modèle (ligne continue) et les résultats expérimentaux (ligne avec points).

L'analyse de la figure 36 montre une bonne convergence des résultats pour les deux systèmes réel et expérimental au bout d'un temps de 0.5s.

ANNEXE B

.1 Caractéristique du capteur de force Aurora série 400A

The Model 400A series of force transducers were designed to fill the need for research instruments that possess excellent frequency response and resolution, and are also extremely thermally stable. The design is based on a variable displacement capacitor whose plates are formed by vacuum metalization on the surface of cantilevered fused silica beams.

Specifications	Model #						
	400A	402A	403A	404A	405A	406A	407A
Full Scale [$\pm$ mN]	50	500	5	100	10	0.5	1000
Sensitivity [mN/volt]	5	50	0.5	10	1	0.05	100
Resolution [μ N]	1	10	0.1	2	0.2	0.01	20
Step Response Time [millisec]	0.3	0.1	1.0	0.3	1.0	5.0	0.1
Resonant Frequency [Hz]	2000	4000	600	2000	600	100	4000
Compliance [micron/mN]	0.1	0.01	1.0	0.1	1.0	10.0	0.01
Zero Drift [μ N/deg C]	5	50	0.5	10	1	0.05	100
Gain Drift [%/deg C]	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01
Hysteresis [%]	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01
Maximum Overload Force [mN]	250	2500	100	250	100	20	2500
Output Tube Length (L) [mm]	7.0	7.0	7.0	7.0	7.0	7.0	7.0
Output Tube Diameter (D) [mm]	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0

FIGURE 37 – les différentes caractéristique du capteur de force utilisé dans nos expérimentations.

.2 General Specifications

Operating Temperature : 0 to 40 °C.

Linearity of Output : $\pm 1\%$ of full scale over full scale. $\pm 0.2\%$ of full scale over 50% of full scale. Power Requirements : 120 $\pm 10\%$ VAC, 50/60 Hz, 20 Watts, maximum. 100 VAC, 220 VAC and 240 VAC optional. Cable length supplied : 6 feet (1.8 m).

Dimensions of electronics : 3.5 in. (8.9 cm) high x 8.4 in. (21.3 cm) wide x 10 in. (25.4 cm) deep (1/2-rack mountable, adapter kits available).

Weight : Electronics : 5 lbs. (2.25kg).

Head : 105 grams.

ANNEXE C

.3 Microscopie à force atomique de type *MFP3D–BIOTM Asylum Research Santa Barbara, CA*

The Atomic Force Microscope (AFM), has been the instrument of choice for three dimensional measurements at the nanometer scale. With the MFP-3D Stand Alone (MFP-3D-SA) (38) AFM, scientists can now choose a sensitive and precise AFM with the lowest noise performance that also includes a complete scientific software environment. The MFP-3D-SA is ideal for many applications including physics, material science, polymers, chemistry, nanolithography, bioscience, and quantitative nanoscale measurements. The MFP-3D has the flexibility to acquire your data, analyze it, and even make publication-ready graphics. Your imagination is your only limit.



FIGURE 38 – Microscope à force atomique de type *MFP3D – BIOTM Asylum Research Santa Barbara, CA*.

.3.1 Technical Innovations

1. Sensored, closed loop positioning for high resolution imaging, accuracy, and reproducibility.
2. Pioneering all-digital controller for open software adaptability, power and flexibility.
3. Built-in advanced features such as real-time 3D rendering, nanolithography/nanomanipulation, and Dual AC $\dot{Z}$ Mode for dual resonance and harmonic imaging.
4. Designed for flexibility and expandability, with a wide range of available system, environmental and application options to enhance capabilities, including nanoindentation and Piezoresponse Force Microscopy (PFM). Please refer to the MFP-3D Options data sheet for details.

.3.2 MFP-3D Head : Low noise, eliminates interference

Sensored optical lever with diffraction limited optics and a low coherence light source virtually eliminates interference artifacts. The NPS $\dot{Z}$ sensed Z axis provides precise measurements of the cantilever

position for accurate force and topography measurements(39).

.3.3 MFP-3D XY Scanner : Precision and accuracy unlike any tube scanner

The MFP-3D uses a flexured scanner and patented NPS sensors which measure the exact position of each axis (X-Y). They correct for hysteresis and creep, providing flat scans and the ability to accurately zoom and offset with one mouse click.

.3.4 Digital ARC2 Controller and Software Flexibility

All-digital configuration allows virtually the entire system operation to be controlled through the MFP software interface (IGOR Pro) for easy addition of new microscope capabilities.

- 100% digital for low noise, fast operation, and flexibility
- Field Programmable Gate Array (FPGA) and Digital Signal Processor (DSP)
- Fast analog-to-digital/digital-to-analog conversions

.3.5 MFP-3D Base

Three configurations for illuminating and viewing your sample :

- Top view for opaque samples
- Bottom view for transparent samples
- Dual view for both viewing options



FIGURE 39 – MFP-3D Head.

.4 D'autres pointes d'indenteur utilisées dans nos expérimentations

Les figures Fig.41, Fig.42 présentent les caractéristiques mécaniques et géométriques des différentes pointes d'indenter (pointe tétraédrique et une pointe quadrilatérale) utilisées dans nos expérimentations afin de caractériser et calculer les propriétés mécaniques et géométriques des cellules embryonnaires de souches de souris.

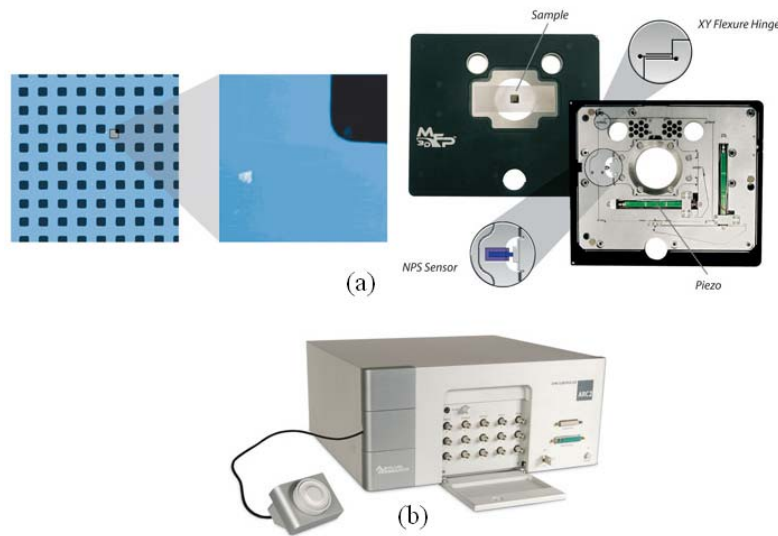
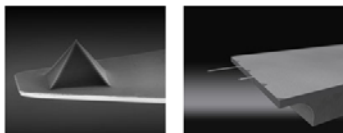


FIGURE 40 – Digital ARC2Z Controller and MFP-3D Head MFP-3D XY Scanner.



DB Series		
Cantilever #	1	2
Shape	Diving Board	
Overall Thickness	600 nm	600 nm
Length	100 μm	200 μm
Width	40 μm	40 μm
Force Constant	0.48 N/m	0.06 N/m
Resonance Frequency	67 kHz	17 kHz

FIGURE 41 – Validation et comparaison entre des données expérimentales et des résultats d'interaction pour une cellule vivante.

.5 Simulation éléments finis d'une indentation d'AFM en utilisant une pointe conique

Dans ce paragraphe nous illustrons d'autres simulations d'éléments finis en utilisant un autre code explicite (Comsol multiphysiques). Ces simulations d'indentation sont basées sur une pointe tétraèdre afin de caractériser et identifier les propriétés mécaniques des cellules souches (cellules vivantes et des cellules fixée : différenciées et indifférenciées). Nous présentons certaines expérimentations et simulations basées sur une pointe de type tétraèdre et sphériques en utilisant Comsol multiphysiques.

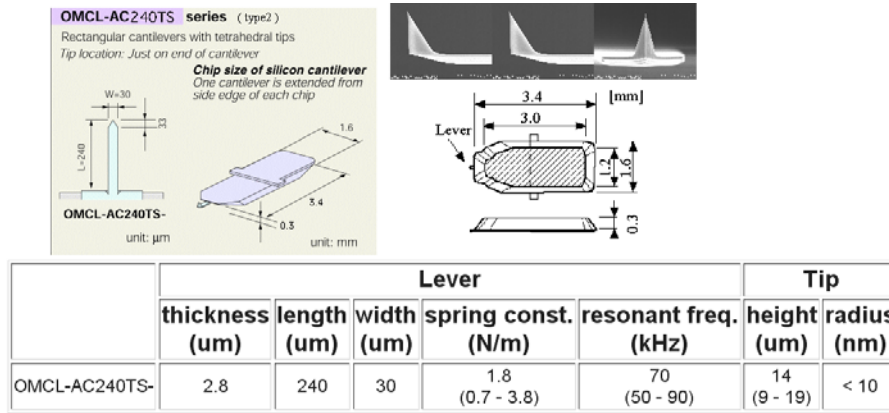


FIGURE 42 – Validation et comparaison entre des données expérimentales et des résultats d'interaction pour une cellule vivante.

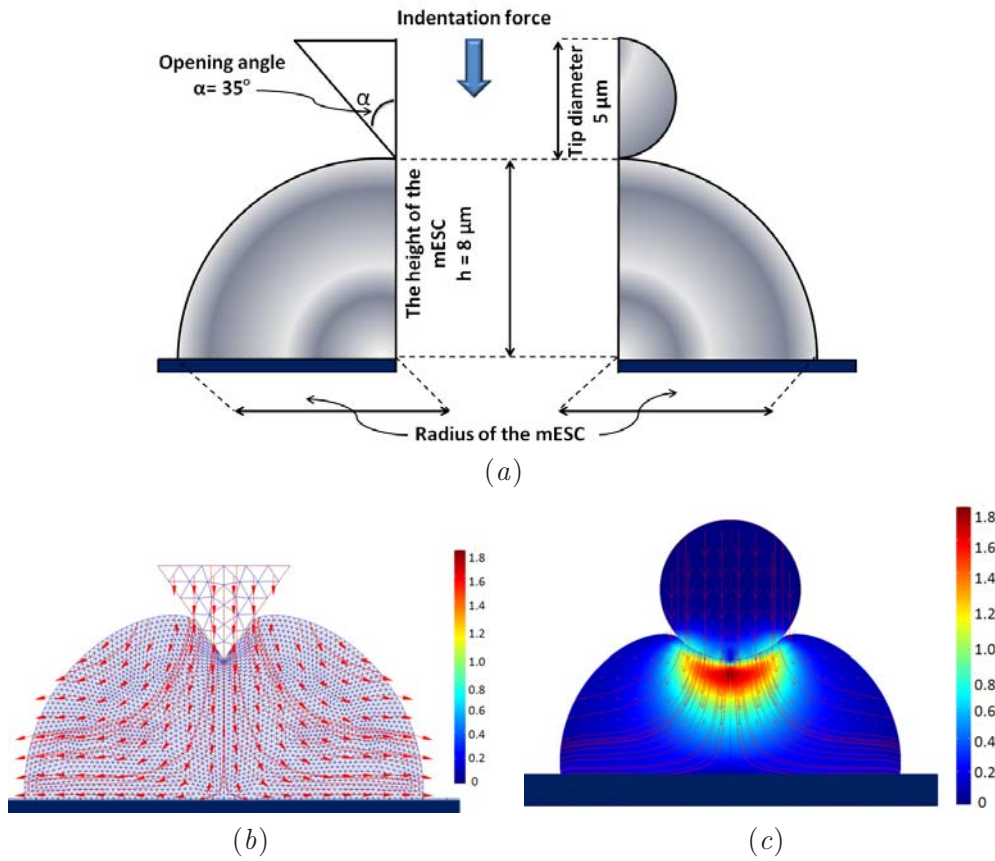


FIGURE 43 – Indentation en utilisant deux type de pointes AFM : (a) Désigne la géométrie de la cellule et les pointes d'indentation, (b) Indentation basée sur une pointe conique, (c) Indentation basée sur une pointe sphérique, les deux simulations sont effectuées par le code explicite Comsol multiphysiques .

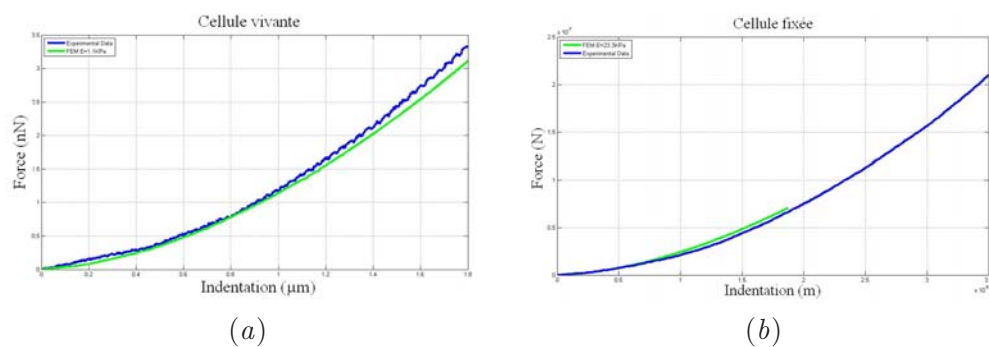


FIGURE 44 – Confrontation entre les courbes expérimentales issues de l'AFM et les courbes de simulations en utilisant une pointe conique via le code explicite Comsol.

Bibliographie

- [1] R. Adams, M. Moreyra, and B. Hannaford. Stability and performance of haptic displays : Theory and experiments. In *Proceedings of the ASME Winter Annual Meeting Haptics Workshop.*, Anaheim, USA, November 1998. 144
- [2] M. Ammi, H. Ladjal, and A. Ferreira. Evaluation of 3d pseudo-haptic rendering using vision for cell micromanipulation. In *Proc. IEEE/RSJ International Conference on Intelligent Robots and Systems*, pages 2115–2120, October 9–15, 2006. viii, 22, 53, 54
- [3] Mehdi AMMI. *Interface Homme-Machine Multimodale pour la Télé-Micromanipulation*. PhD thesis, L' université d'Orléans, 2006. 148
- [4] F. Arai, A. Kawaji, P. Luangjarmekom, T. Fukuda, and K. Itoigawa. Three-dimensional bio-micromanipulation under the microscope. In *Proc. ICRA Robotics and Automation IEEE International Conference on*, volume 1, pages 604–609, 2001. vii, 14, 15, 20
- [5] N.I. Badler, C.B. Phillips, and B.L. Webber. *Simulating humans : computer graphics animation and control*. 1993. 50
- [6] R. Balaniuk and J. Kenneth Jr. Salisbury. Soft-tissue simulation using the radial elements method. In *IS4TH*, pages 48–58, 2003. 57
- [7] G.J. Balas, J.C. Doyle, K. Glover, A. Packard, , and R. Smith. *μ -Analysis and Synthesis Toolbox for Use with MATLAB*. The Math Works Inc, 1994. 5
- [8] A.H. Barr. Global and local deformations of solid primitives. In *SIGGRAPH '84 : Proceedings of the 11th annual conference on Computer graphics and interactive techniques*, pages 21–30, New York, NY, USA, 1984. ACM. 66
- [9] C. Basdogan, H. CH, M. Srinivasan, S. Small, and S. Dawson. Force interactions in laparoscopic simulations : haptic rendering of soft tissus. *Stud Health Technol Inform.*, 50 :385–391, 1998. 50
- [10] J.W. Boyse. Interference detection among solids and surfaces. *Commun. ACM*, 22(1) :3–9, 1979. 133
- [11] D. Breen, M. Lin, J. Teran, S. Blemker, V.Ng. ThowHing, and R. Fedkiw. Finite volume methods for the simulation of skeletal muscle. 2003. viii, 56, 57
- [12] O. Brien and J. Hodgins. Graphical modeling and animation of brittle fracture. In *ACM Special Interest Group on Computer Graphics and Interactive Techniques*, pages 137–146. ACM Press Addison-Wesley Publishing Co., 1999. 63
- [13] M. Bro-nielsen. Modelling elasticity in solids using active cubes - application to simulated operations. pages 535–541, 1994. 51
- [14] M. Bro-nielsen and Stephane Cotin. Real-time volumetric deformable models for surgery simulation using finite elements and condensation. In *Computer Graphics Forum*, pages 57–66, 1996. 61
- [15] G.W. Brodland and R. Gordon. Intermediate filaments may prevent buckling of compressively loaded microtubules. *J Biomech Eng*, 112(3) :319–321, Aug 1990. 37

- [16] J.M. Brown and J.E. Colgate. Passive implementation of multibody simulations for haptic display. In *Proceedings of the 1997 ASME International Mechanical Engineering Congress and Exhibition.*, Dallas, USA, 1997. xi, 144, 145
- [17] R.E. Buxbaum, T. Dennerll, S. Weiss, and S.R. Heidemann. F-actin and microtubule suspensions as indeterminate fluids. *Science*, 235(4795) :1511–1514, 1987. 35
- [18] N. Caille, O. Thoumine, Y. Tardy, and JJ. Meister. Contribution of the nucleus to the mechanical properties of endothelial cells. *J Biomech*, 35(2) :177–187, Feb 2002. 41
- [19] H. Cakmak, H. Maass, and U. Kühnapfel. Vsone, a virtual reality simulator for laparoscopic surgery. *Minim Invasive Ther Allied Technol*, 14(3) :134–144, 2005. 52
- [20] Y. Cheng, C. A. Hartemink, J. H. Hartwig, and C. F. Dewey. Three-dimensional reconstruction of the actin cytoskeleton from stereo images. *J Biomech*, 33(1) :105–113, Jan 2000. 35
- [21] K. Chinzei, S. Warfield, N. Hata, C. Tempany, F. Jolesz, and R. Kikinis. Planning, simulation and assistance with intraoperative mri. 03 2003. 51
- [22] I. Costa and R. Balaniuk. Static solution for real time deformable objects with fluid inside. 2001. viii, 57, 58
- [23] S. Cotin and H. Delingette. Real-time surgery simulation with haptic feedback using finite elements. In *Proc. IEEE International Conference on Robotics and Automation*, volume 4, pages 3739–3744, May 16–20, 1998. 63, 64
- [24] S. Cotin, H. Delingette, and N. Ayache. A hybrid elastic model for real-time cutting, deformations, and force feedback for surgery training and simulation. *The visuel Computer*, 16 :2000. ix, 65, 66
- [25] S. Cotin, H. Delingette, and N. Ayache. Real-time elastic deformations of soft tissue for surgery simulation. *IEEE Transactions on Visualization and Computer Graphics*, 5(1) :62–73, January 1999. 61, 62, 64
- [26] PA. Coulombe, O. Bousquet, L. Ma, S. Yamada, and D. Wirtz. The 'ins' and 'outs' of intermediate filament organization. *Trends Cell Biol*, 10 :420–428, 2000. 37
- [27] S. Cover, N. Ezquerra, J. O'Brien, R. Rowe, T. Gadacz, and E. Palm. Interactively deformable models for surgery simulation. *IEEE Computer Graphics and Applications*, 13(6) :68–75, 1993. 50
- [28] A. Crosnier and J. R. Rossignac. Tribox bounds for three-dimensional objects. volume 23, pages 429 – 437, 1999. 137
- [29] D. d'Aulignac, C. Laugier, and MC. Cavusoglu. Towards a realistic echographic simulator with force feedback. In *Proc. IEEE/RSJ International Conference on Intelligent Robots and Systems IROS '99*, volume 2, pages 727–732, October 17–21, 1999. 52
- [30] D. d'Aulignac, C. Laugier, J. Troccaz, and S. Vieira. Towards a realistic echographic simulator. *Med Image Anal*, 10(1) :71–81, Feb 2006. 52
- [31] G. Debunne, M. Desbrun, M.P. Cani, and A. Barr. Adaptive simulation of soft bodies in real-time. 2000. 64
- [32] G. Debunne, M. Desbrun, MP. Cani, and AH. Barr. Dynamic real-time deformations using space time adaptive sampling. 2001. 63
- [33] H. Delingette, S.Cotin, and N. Ayache. A hybrid elastic model allowing real-time cutting, deformations and force-feedback for surgery training and simulation. In *Proc. Computer Animation*, pages 70–81, May 26–29, 1999. 30, 142
- [34] M. Desbrun. *Modelisation et animation d'objets hautement deformables a l'aide de surfaces implicites*. PhD thesis, Institut National Polytechnique de Grenoble, 1997. 55
- [35] M. Desbrun and M. Gascuel. Smoothed particles : A new paradigm for animating highly deformable bodies. pages 61–76, 1996. 55
- [36] P.F. Devaux. Static and dynamic lipid asymmetry in cell membranes. *Biochemistry*, 30 (5)(3) :1163–1173, 1991. 33
- [37] P. Devroey and A.V. Steirteghem. A review of ten years experience of icsi. *Hum Reprod Update*, 10(1) :19–28, 2004. 2, 6

- [38] C. Dong, R. Skalak, and K. L. Sung. Cytoplasmic rheology of passive neutrophils. *Biorheology*, 28(6) :557–567, 1991. 38, 39
- [39] C. Dong, R. Skalak, KP. Sung, G.W. Schmid-Schonbein, and S. Chien. Passive deformation analysis of human leukocytes. *Journal of Biomechanical Engineering*, 110(1) :27–36, 1988. 38, 39
- [40] C. Duriez. *Contact frottant entre objets déformables dans des simulations temps-réel avec retour haptique*. PhD thesis, Université d’Evry France, 2004. 61
- [41] R.M. Epand. Lipid polymorphism and protein-lipid interactions. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Reviews on Biomembranes*, 1376(3) :353 – 368, 1998. 33
- [42] C. Ericson. *Real Time Collision Detection*. Morgan Kaufmann Publishers, 2004. 135
- [43] K. Erleben, J. Sporrang, K. Henriksen, and H. Dohlmann. Physics-based animation. *edition charles river Media INC, Canada*, 2005. 139
- [44] E. Evans and A. Yeung. Apparent viscosity and cortical tension of blood granulocytes determined by micropipet aspiration. *Biophys J*, 56(1) :151–160, Jul 1989. 38, 39
- [45] D. Mc Farlane and K. Glover. A loop shaping design procedure using synthesis. *IEEE Transactions on Automatic Control*, 37 :759–769, 1992. 4
- [46] F. Faure. *Simulation physique interactive pour la synthèse d’images*. PhD thesis, Habilitation à Diriger des Recherches de l’Université Joseph Fourier, 2008. 133
- [47] G. Forgacs. On the possible role of cytoskeletal filamentous networks in intracellular signaling : an approach based on percolation. *J Cell Sci*, 108 (Pt 6) :2131–2143, Jun 1995. viii, 42
- [48] R.B Fuller and E.J. Applewhite. *Synergetics : Explorations in the Geometry of Thinking*. Vol.1. Macmillan Publishing Co :New-York, 1975. 44
- [49] M.B.K Ghembaza. *Modélisation des déformations des tissus biologiques pour la simulation réaliste et interactive en robotique chirurgicale mini-invasive*. PhD thesis, Université paris XII Val de Marne, 2005. viii, 50, 163
- [50] L.J. Gibson and MF. Ashby. *Cellular solids : structure and properties*. Oxford, 1988. 43
- [51] S. Gibson, J. Samosky, A. Mor, C. Fyock, E. Grimson, T. Kanade, R. Kikinis, H. Lauer, N. Mckenzie, S. Nakajima, H. Ohkami, R. Osborne, and A. Sawada. Simulating arthroscopic knee surgery using volumetric object representations, real-time volume rendering and haptic feedback. 1997. viii, 51
- [52] K. Glover and D. Mc Farlane. Robust stabilization of normalized coprime factor plant descriptions with bounded uncertainty. *IEEE Transactions on Automatic Control*, 34(8) :821–830, 1989. 4
- [53] B. L. Goode, D. G. Drubin, and G. Barnes. Functional cooperation between the microtubule and actin cytoskeletons. *Curr Opin Cell Biol*, 12(1) :63–71, Feb 2000. 36
- [54] S. Gottschalk, M. C. Lin, and D. Manocha. Obb-tree : A hierarchical structure for rapid interference detection. 1996. 137
- [55] N. K. Govindaraju, S. Redon, M.C. Lin, and D. Manocha. Cullide : Interactive collision detection between complex models in large environments using graphics hardware. In *Eurographics Workshop on Graphics Hardware, San Diego, USA*, 2003. 139
- [56] F. Guilak and V. C. Mow. The mechanical environment of the chondrocyte : a biphasic finite element model of cell-matrix interactions in articular cartilage. *J Biomech*, 33(12) :1663–1673, Dec 2000. xiii, 40, 104
- [57] J.L. Hanus. Oocyte large displacement analysis : some mechanical and numerical aspects. Technical report, Institut PRISME, 2008. 74, 84, 86, 97
- [58] A. K. Harris, P. Wild, and D. Stopak. Silicone rubber substrata : a new wrinkle in the study of cell locomotion. *Science*, 208(4440) :177–179, Apr 1980. 35, 36
- [59] M. Hatab. *Vers une approche unifiée de détection de collision pour objets de natures diverses*. PhD thesis, Université D’Evry Val D’Essonne, 2006. x, 135, 138
- [60] S. R. Heidemann and R. E. Buxbaum. Tension as a regulator and integrator of axonal growth. *Cell Motil Cytoskeleton*, 17(1) :6–10, 1990. 35

- [61] K. Hiroyuki, W. Toshikatsu, A. Michel, and M. Kazuyuki. A model for relations between needle deflection, force, and thickness on needle penetration. In *MICCAI '01 : Proceedings of the 4th International Conference on Medical Image Computing and Computer-Assisted Intervention*, pages 966–974, London, UK, 2001. Springer-Verlag. x, 143
- [62] R. M. Hochmuth. Measuring the mechanical properties of individual human blood cells. *J Biomech Eng*, 115(4B) :515–519, Nov 1993. 39
- [63] A. Hoskins, M. El-Gindy, and R. Vance. Truck driving simulator effectiveness. *Winter Annual Meeting, Symposium on "Advances in Vehicle Technologies", Louisiana, New Orleans, USA*, pages 14–19, 2004. 24
- [64] J.L. Hutter and J.Bechhoefer. Calibration of atomic-force microscope tips. *Review of Scientific Instruments*, 64(7) :1868–1873, 1993. 166
- [65] D. E. Ingber. Cellular tensegrity : defining new rules of biological design that govern the cytoskeleton. *J Cell Sci*, 104 (Pt 3) :613–627, Mar 1993. viii, xiii, 35, 44, 45
- [66] D. E. Ingber. Tensegrity : the architectural basis of cellular mechanotransduction. *Annu Rev Physiol*, 59 :575–599, 1997. viii, 44, 45
- [67] D. E. Ingber. Opposing views on tensegrity as a structural framework for understanding cell mechanics. *J Appl Physiol*, 89(4) :1663–1670, Oct 2000. 30
- [68] D.L. James and K.P. Dinesh. Artdefo : Accurate real time deformable objects. pages 65–72, 1999. viii, 58, 59
- [69] D.L. James and K.P. Dinesh. Multiresolution green’s function methods for interactive simulation of large-scale elastostatic objects. *ACM Transactions on Graphics*, 22 :47–82, 2002. 58
- [70] D.L. James and K.P. Dinesh. Multiresolution green’s function methods for interactive simulation of large-scale elastostatic objects. *ACM Trans. Graph.*, 22(1) :47–82, 2003. 66
- [71] P. A. Janmey. The cytoskeleton and cell signaling : component localization and mechanical coupling. *Physiol Rev*, 78(3) :763–781, Jul 1998. 35
- [72] P.A. Janmey, U. Euteneuer, P. Traub, and M. Schliwa. Viscoelastic properties of vimentin compared with other filamentous biopolymer networks. *J Cell Biol*, 113(1) :155–160, Apr 1991. 35, 36
- [73] P.A. Janmey, S. Hvidt, J. Peetermans, J.D. Ferry J. Lamb, and T.P. Stossel. Viscoelasticity of f-actin and f-actin/gelsolin complexes. *Biochemistry*, 21 :8218–8227, 1988. 35
- [74] L. Jerabkova, T. Kuhlen, T. P. Wolter, and N.Pallua. A voxel based multiresolution technique for soft tissue deformation. In *VRST*, pages 158–161, 2004. 64
- [75] P. Jimenez, F.Thomas, and C.Torras. 3d collision detection : a survey. *Computer & Graphics*, 25 :269–285, 2001. 133
- [76] F. Jülicher, K. Kruse, J. Prost, and J.-F. Joanny. Active behavior of the cytoskeleton. *Physics Reports*, 449, Issues 1-3 :3–28, 2007. 41
- [77] K. L. Johnson. One hundred years of hertz contact. *Proc Instn Mech Engrs*, 196 :363–378, 1982. 114
- [78] Wendy R. Jones, H. Ping Ting-Beall, Greta M. Lee, Scott S. Kelley, Robert M. Hochmuth, and Farshid Guilak. Alterations in the young’s modulus and volumetric properties of chondrocytes isolated from normal and osteoarthritic human cartilage. *Journal of Biomechanics*, 32, Issue 2 :119–127, 1999. 38, 39
- [79] L. Joussemet. *Approche évolutionniste pour la détection des collisions au sein d’environnements virtuels denses*. PhD thesis, L’Université de Montpellier II, 2006. 138
- [80] L. Joussemet, A. Crosnier, and C. Andriot. Espions : A novel algorithm based on evolution strategy for fast collision detection. In *In Proceedings of EuroHaptics*, 2006. 135, 137
- [81] H. Karcher, J. Lammerding, H. Huang, R.T. Lee, R.D. Kamm, and M.R. Kaazempur-Mofrad. A three-dimensional viscoelastic model for cell deformation with experimental verification. *Biophys J*, 85(5) :3336–3349, Nov 2003. viii, 40

- [82] K. Katoh, Y. Kano, M. Amano, K. Kaibuchi, and K. Fujiwara. Stress fiber organization regulated by mlck and rho-kinase in cultured human fibroblasts. *Am J Physiol Cell Physiol*, 280(6) :C1669–C1679, Jun 2001. 35
- [83] I. Kaverina, K. Rottner, and J. V. Small. Targeting, capture, and stabilization of microtubules at early focal adhesions. *J Cell Biol*, 142(1) :181–190, Jul 1998. 36
- [84] U.G. Kühnapfel. Endoscopic surgery training using virtual reality and deformable tissue simulation. 2000. viii, 52
- [85] D.H. Kim, B. Kim, S. Yun, and S. Kwon. Cellular force measurement for force reflected biomanipulation. In *Proc. IEEE International Conference on Robotics and Automation ICRA '04*, volume 3, pages 2412–2417 Vol.3, 2004. 12, 20
- [86] D.H. Kim, Y. Sun, S. Yun, B. Kim, C.N. Hwang, B. Nelson, and SH. Lee. Mechanical property characterization of the zebrafish embryo chorion. *Conf Proc IEEE Eng Med Biol Soc*, 7 :5061–5064, 2004. vii, 12, 13, 20, 30, 31
- [87] J. Kim, J.S. Farrokh, and J. Kim. A physically-based haptic rendering for telemanipulation with visual information : Macro and micro applications. In *Proc. IEEE/RSJ International Conference on Intelligent Robots and Systems IROS 2008*, pages 3489–3494, September 22–26, 2008. viii, 23, 24
- [88] Y.J. Kim, M.A. Otaduy, M.C. Lin, and D. Manocha. Fast penetration depth computation for physically-based animation. 2002. 139
- [89] J. Klein and G. Zachmann. Adb-trees : Controlling the error of time-critical collision detection. In *In 8th International Fall Workshop Vision, Modeling, and Visualization (VMV)*, pages 37–46. Springer, 2003. 137
- [90] J.T. Klosowski, M. Held, J.S.B. Mitchell, H. Sowizral, and K. Zikan. Efficient collision detection using bounding volume hierarchies of k-dops. volume 4, pages 21–36, 1996. 137
- [91] RM. Koch, MH. Gross, F.R. Carls, D.F.von. Büren, G. Fankhauser, and Y.I.H. Parish. Simulating facial surgery using finite element models. In *SIGGRAPH '96 : Proceedings of the 23rd annual conference on Computer graphics and interactive techniques*, pages 421–428, New York, NY, USA, 1996. ACM. 52
- [92] K. Kruse, J. F. Joanny, F. Jülicher, J. Prost, and K. Sekimoto. Generic theory of active polar gels : a paradigm for cytoskeletal dynamics. *Eur Phys J E Soft Matter*, 16(1) :5–16, Jan 2005. 41
- [93] U. G. Kumlhnäpfel, Ch. Kuhn, M. Hubner, H. G. Krumm, H. Maass, and B. Neisius. The karlsruhe endoscopic surgery trainer as an example for virtual reality in medical education. *Minimally Invasive Therapy and Allied Technologies*, 6 :122 – 125, 1997. viii, 52
- [94] H. Ladjal, J.L Hanus, and A. Ferreira. H infinity robustification control of existing piezoelectric-stack actuated nanomanipulators. In *ICRA*, pages 3353–3358, 2009. 160
- [95] H. Ladjal, J.L. Hanus, A. Pillarisetti, C. Keefer, A. Ferreira, and J.P. Desai. Atomic force microscopy-based single-cell indentation : Experimentation and finite element simulation. In *IROS*, pages 1326–1332, 2009. 30, 31
- [96] T. Larsson, T.A. Möller, T. Larsson, and T. A. möller. Collision detection for continuously deforming bodies. 2001. 137
- [97] Y. Lee, D. Terzopoulos, and K. Walters. Realistic modeling for facial animation. In *SIGGRAPH '95 : Proceedings of the 22nd annual conference on Computer graphics and interactive techniques*, pages 55–62, New York, NY, USA, 1995. ACM. 52
- [98] F.B. Liewellyn. Some fundamental properties of transmission systems. In *Proc. IRE*, vol. 40., pages 271–283, 1952. 147
- [99] C. T. Lim, E. H. Zhou, and S. T. Quek. Mechanical models for living cells—a review. *J Biomech*, 39(2) :195–216, 2006. 38
- [100] X. Liu and Yu. Sun. Automated mouse embryo injection moves toward practical use. In *Proc. IEEE International Conference on Robotics and Automation ICRA '09*, pages 526–531, 2009. vii, 16, 17, 20

- [101] O. Loh, A. Vaziri, and H. D. Espinos. The potential of mems for advancing experiments and modeling in cell mechanics. *Experimental Mechanics*, 49 :105–124, 2009. 38
- [102] J.C Lombardo, M.P. Cani, and F. Neyret. Real-time collision detection for virtual surgery. In *In Computer Animation*, pages 26–28, 1999. 138
- [103] R. Longchamp. *Commande numérique de systèmes dynamiques*. PPUR presses polytechniques, Lausanne, 2006. 1
- [104] A Luciani, S Jimenez, J L Florens, C Cadoz, and O Raoult. Computational physics : a modeler simulator for animated physical objects. In *In Eurographics Workshop on Animation and Simulation*, 1991. 54
- [105] V. Lulevich, D. Andrienko, and O.I. Vinogradova. Elasticity of polyelectrolyte multilayer microcapsules. *J Chem Phys*, 120(8) :3822–3826, Feb 2004. 115, 116
- [106] V. Lulevich, I.L. Radtchenko, GB. Sukhorukov, and OI. Vinogradova. Deformation properties of nonadhesive polyelectrolyte microcapsules studied with the atomic force microscope. *The Journal of Physical Chemistry B*, 107(12) :2735–2740, March 2003. 115
- [107] V. Lulevich, T. Zink, HY. Chen, FT. Liu, and GY. Liu. Cell mechanics using atomic force microscopy-based single-cell compression. *Langmuir*, 22(19) :8151–8155, Sep 2006. 116
- [108] P. Lundstrom, S. Skogstad, and Z.C. Wang. Weight selection for and mu-control methods : insights and examples from process control. In *Workshop on Control*, Brighton, U.K, 1991. 5
- [109] A. J. Maniotis, C. S. Chen, and D. E. Ingber. Demonstration of mechanical connections between integrins, cytoskeletal filaments, and nucleoplasm that stabilize nuclear structure. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 94(3) :849–854, Feb 1997. 30, 35
- [110] A.M. Mastro, M.A. Babich, W.D. Taylor, and A.D. Keith. Diffusion of a small molecule in the cytoplasm of mammalian cells. *National Academy of Sciences. Cell Biology*, 81 :3414–3418, 1984. 30
- [111] L. Mattos, E. Grant, R. Thresher, and K. Kluckman. From teleoperated to automatic blastocyst microinjections : Designing a new system from expert-controlled operations. In *Proc. IEEE/RSJ International Conference on Intelligent Robots and Systems IROS 2008*, pages 4036–4041, 2008. vii, 18, 20
- [112] D. Maugis. Adhesion of spheres : the j.k.r-d.m.t transition using a dugdale model. *Journal of Colloid and Interface Science*, 150 :243–269, 1992. 119
- [113] M.Bro-nielsen. Finite element modeling in surgery simulation. In *Proceedings of the IEEE*, pages 490–503, 1998. 62
- [114] JG. McGarry and PJ. Prendergast. A three-dimensional finite element model of an adherent eukaryotic cell. *Eur Cell Mater*, 7 :27–33 ; discussion 33–4, Apr 2004. viii, xiii, 46, 104
- [115] G. Meller. A typology of simulators for medical education. *J Digit Imaging*, 10(3 Suppl 1) :194–196, Aug 1997. 25
- [116] C. Mendoza and C. Laugier. Simulating cutting in surgery applications using haptics and finite element models. In *in Proc. Virtual Reality Conf*, pages 295–296, 2003. viii, 63
- [117] P. Meseure. *Animation basée sur la physique pour les environnements interactifs temps réel. Habilitation à diriger des recherches en sciences mathématiques*. PhD thesis, Université des sciences et technologies de Lille, 2002. viii, 52, 53
- [118] P. Meseure. *Animation basée sur la physique pour les environnements interactifs temps-réel*. PhD thesis, L’université des sciences et technologies de Lille, 2002. 133, 134
- [119] P. Mesure, A. Kheddar, and F. Faure. Détection de collision et calcul de la réponse. Technical report, Action spécifique du CNRS N° : 90 , p27, 2003. 133
- [120] D. Metaxas and D. Terzopoulos. Dynamic deformation of solid primitives with constraints. In *SIGGRAPH '92 : Proceedings of the 19th annual conference on Computer graphics and interactive techniques*, pages 309–312, New York, NY, USA, 1992. ACM. 66
- [121] K. Miller. Biomechanics of soft tissues. *PubMed*, 6(1) :158–167, 2000. 30

- [122] T.J. Mitchison. Compare and contrast actin filaments and microtubules. *Mol Biol Cell*, 3(12) :1309–1315, Dec 1992. 36
- [123] M. Müller, J. Dorsey, L. McMillan, R. Jagnow, and B. Cutler. Stable real-time deformations. pages 49–54, 2002. 63
- [124] T. Möller and B. Trumbore. Fast, minimum storage ray triangle intersection. *Journal of graphics, gpu, and game tools*, 2(1) :21–28, 1997. 140
- [125] W. Mollemans, F. Schutyser, J.V. Cleynenbreugel, and P. Suetens. *Tetrahedral Mass Spring Model for Fast Soft Tissue Deformation*. Springer Berlin / Heidelberg, 2003. 65
- [126] C. Monserrat, U. Meier, M. Alcañiz, F. Chinesta, and M. C. Juan. A new approach for the real-time simulation of tissue deformations in surgery simulation. *Comput Methods Programs Biomed*, 64(2) :77–85, Feb 2001. 58
- [127] R. Motro. Tensegrity systems and geodesic domes. *International Journal of Space Structures*, 5 :341–351, 1990. 44
- [128] R.J. Muffer. Av-8b harrier ii training capabilities. In *Collection of Technical Papers , AIAA Flight Simulation Technologies Conference, 1985, St Louis, MO, USA, pp. 11-15*, 1985. 24
- [129] M. Müller, B. Heidelberger and M. Teschner, and M. Gross. Meshless deformations based on shape matching. In *SIGGRAPH '05 : ACM SIGGRAPH 2005 Papers*, pages 471–478, New York, NY, USA, 2005. ACM. 66
- [130] A. Murta and J. Miller. Modelling and rendering liquids in motion. In *In Proceedings of WSCG*, pages 194–201, 1999. 54
- [131] T. Noma, L. Zhao, and N.I. Badler. Design of a virtual human presenter. In *IEEE Computer Society*, pages 45–51, 2000. 50
- [132] M. Padilla, F. Altamirano, F. Arambula, and J. Marquez. Mechatronic resectoscope emulator for a surgery simulation training system of the prostate. volume 1, 2007. 52
- [133] G. Palermo, H. Joris, P. Devroey, and A. C. Van Steirteghem. Pregnancies after intracytoplasmic injection of single spermatozoon into an oocyte. *The Lancet*, 340 :17–18, 1992. 3, 5, 7
- [134] A. Palmer, T.G. Mason, J. Xu, S.C. Kuo, and D. Wirtz. Diffusing wave spectroscopy microrheology of actin filament networks. *Biophysical Journal*, 76(2) :1063 – 1071, 1999. 35
- [135] K.L. Phelps, D.L. Taylor, and F. Lanni. Probing the structure of cytoplasm. *Journal Cell Biol*, 102(6) :2015–22, 1986. 30
- [136] G. Picinbono. *Modèles géométriques et physiques pour la simulation d'interventions chirurgicales*. PhD thesis, Thèse de doctorat de l'Université de Nice Sophia-Antipolis, 2008. 102, 103
- [137] G. Picinbono, H. Delingette, and N. Ayache. Non-linear and anisotropic elastic soft tissue models for medical simulation. In *In Proceedings of IEEE International Conference on Robotics and Automation*, 2001. 64, 65, 101
- [138] G. Picinbono, H. Delingette, and N. Ayache. Non-linear anisotropic elasticity for real-time surgery simulation. *Graphical Models*, 65, Issue 5 :305–321, 2003. 65
- [139] G. Picinbono, J.-C. Lombardo, H. Delingette, and N. Ayache. Anisotropic elasticity and force extrapolation to improve realism of surgery simulation. In *Proc. IEEE International Conference on Robotics and Automation ICRA '00*, volume 1, pages 596–602, April 24–28, 2000. 65
- [140] A. Pillarisetti, M. Pekarev, A.D. Brooks, and J.P. Desai. Evaluating the effect of force feedback in cell injection. *IEEE Transactions on Automation Science and Engineering*, 4(3) :322–331, July 2007. vii, xiii, 12, 14, 20
- [141] E. Promayon. *HDR : Modèles physiques discrets pour le vivant (Modéliser et simuler les phénomènes biologiques et les gestes médico-chirurgicaux)*. PhD thesis, Université Joseph Fourier , Grenoble I, France, 2008. 25
- [142] C.J. Prychid and P.J. Rudall. Calcium oxalate crystals in monocotyledons : A review of their structure and systematics. *Ann Bot*, 84(6) :725–739, 1999. 33
- [143] G.K. Ragsdale, J. Phelps, and K.L Phelps. Viscoelastic response of fibroblasts to tension transmitted through adherens junctions. *Biophysical Journal*, 73(5) :2798 – 2808, 1997. 30

- [144] S. Redon, A. Kheddar, and S. Coquillart. Contact : Arbitrary in-between motions for collision detection. In *In Proceedings of IEEE*, 2001. 137
- [145] S. Redon, A. Kheddar, and S. Coquillart. Fast continuous collision detection between rigid bodies. In *Proc. of Eurographics (Computer Graphics Forum*, page 2002, 2002. 139
- [146] Stéphane REGNIER. *HDR : La manipulation aux échelles microscopiques*. PhD thesis, L'université Pierre et Marie Curie, Paris6, France, 2006. 119
- [147] A.R. Rivers and D.L. James. Fastlsm : fast lattice shape matching for robust real-time deformation. In *SIGGRAPH '07 : ACM SIGGRAPH 2007 papers*, page 82, New York, NY, USA, 2007. ACM. ix, 66, 67
- [148] R.Kumar, A.Kapoor, and R. H.Taylor. Preliminary experiments in robot/human cooperative microinjection. In *Proc. IEEE/RSJ International Conference on Intelligent Robots and Systems (IROS 2003)*, volume 4, pages 3186–3191, October 27–31, 2003. vii, 15, 16, 20
- [149] E. Sackman. Membrane bending energy concept of vesicle- and shape-transitions. *FEBS Lett.*, 346 :3–16, 1994. 33
- [150] R.M. Satava. Medical virtual reality. the current status of the future. *Stud Health Technol Inform*, 29 :100–106, 1996. viii, 25
- [151] R.L. Satcher and C.F. Dewey. Theoretical estimates of mechanical properties of the endothelial cell cytoskeleton. *Biophys J*, 71(1) :109–118, Jul 1996. viii, 43
- [152] M. Sato, D. P. Theret, L. T. Wheeler, N. Ohshima, and R. M. Nerem. Application of the micropipette technique to the measurement of cultured porcine aortic endothelial cell viscoelastic properties. *J Biomech Eng*, 112(3) :263–268, Aug 1990. 38, 39
- [153] A.M. Schill, S.F. Gibson, H.J. Bender, and R. Männer. Biomechanical simulation of the vitreous humor in the eye using an enhanced chainmail algorithm. pages 679–687, 1999. 51
- [154] G.W. Schmid-Schönbein, K. L. Sung, H. Tözeren, R. Skalak, and S. Chien. Passive mechanical properties of human leukocytes. *Biophys J*, 36(1) :243–256, Oct 1981. 38, 39
- [155] JM. Schwartz. *Calcul rapide de forces et de déformations mécaniques non-linéaires et visco-élastiques pour la simulation de chirurgie*. PhD thesis, Université Laval QUÉBEC, 2003. 108
- [156] JM. Schwartz, M. Denninger, D. Rancourt, C. Moisan, and D. Laurendeau. Modelling liver tissue properties using a non-linear visco-elastic model for surgery simulation. *Med Image Anal*, 9(2) :103–112, Apr 2005. 30, 65, 142
- [157] JM. Schwartz, È. Langelier, C. Moisan, and D. Laurendeau. Non-linear soft tissue deformations for the simulation of percutaneous surgeries. *Medical Image Computing and Computer-Assisted Intervention ũ MICCAI 2001*, Volume 2208/2009 :1271–1272, 2001. 65
- [158] JM. Schwartz, D. Laurendeau, M. Denninger, and D. Rancourt. Geometrically and physically non-linear models for soft tissue simulation. in *Sixth Int. Symp. on Computer Methods in Biomechanics and Biomedical Engineering, (Madrid, Spain)*, 2004. 65
- [159] S. Sclaroff and A. Pentland. Generalized implicit functions for computer graphics. In *SIGGRAPH '91 : Proceedings of the 18th annual conference on Computer graphics and interactive techniques*, pages 247–250, New York, NY, USA, 1991. ACM. 66
- [160] G. Sela, S. Schein, and G. Elber. Real-time incision simulation using discontinuous free form deformation. pages 114–123, 2004. viii, 50, 51
- [161] Y. Shafrir and G. Forgacs. Mechanotransduction through the cytoskeleton. *Am J Physiol Cell Physiol*, 282(3) :C479–C486, Mar 2002. 42
- [162] J. Shearer and T.E. Graham. New perspectives on the storage and organization of muscle glycogen. *Can J Appl Physiol*, 27(2) :179–203, Apr 2002. 33
- [163] J. Shen and D. Thalmann. Interactive shape design using metaballs and splines. 1995. 50
- [164] R.C. Silveira. *Modélisation et conception d'un nouveau simulateur d'accouchement (BIRTHSIM) pour l'entraînement et l'enseignement des jeunes obstétriciens et des sages femmes*. PhD thesis, Laboratoire d'Automatique Industrielle de l'INSA de Lyon, France, 2004. 25

- [165] S. J. Singer and G. L. Nicolson. The fluid mosaic model of the structure of cell membranes. *Science*, 175(23) :720–731, Feb 1972. 33
- [166] D. Stamenovic and M. F. Coughlin. The role of prestress and architecture of the cytoskeleton and deformability of cytoskeletal filaments in mechanics of adherent cells : a quantitative analysis. *J Theor Biol*, 201(1) :63–74, Nov 1999. 44
- [167] D. Stamenovic, J. J. Fredberg, N. Wang, J. P. Butler, and D. E. Ingber. A microstructural approach to cytoskeletal mechanics based on tensegrity. *J Theor Biol*, 181(2) :125–136, Jul 1996. 45
- [168] D. Stora, P.O. Agliati, M.P. Cani, F. Neyret, and J.D. Gascuel. Animating lava flows. pages 203–210, June 1999. viii, 56
- [169] C. Sultan, D. Stamenovic, and D.E. Ingber. A computational tensegrity model predicts dynamic rheological behaviors in living cells. *Ann Biomed Eng*, 32(4) :520–530, Apr 2004. 89
- [170] Y. Sun and B.J. Nelson. Biological cell injection using an autonomous microrobotic system. *I. J. Robotic Res.*, 21 :861–868, 2002. vii, 15, 17, 20
- [171] Y. Sun, K.T. Wan, K.P. Roberts, J.C. Bischof, and B.J. Nelson. Mechanical property characterization of mouse zona pellucida. *IEEE Transactions on Nanobioscience*, 2(4) :279–286, December 2003. vii, ix, 11, 12, 20, 30, 31, 105, 108, 115, 162
- [172] K. Sundaraj, C. Laugier, and F.B. Casson. Intra-operative ct-free examination system for anterior cruciate ligament reconstruction. 10 2003. voir basilic : [http ://emotion.inrialpes.fr/bibemotion/2003/SLB03/](http://emotion.inrialpes.fr/bibemotion/2003/SLB03/) address : Las vegas, NV (US). 58
- [173] K. Sundaraj, C. Laugier, and F.B. Casson. Towards a complete intra-operative ct-free navigation system for arthroscopy anterior cruciate ligament reconstruction. volume 5, 2004. 58
- [174] K. Sundaraj, C. Mendoza, and C. Laugier. A fast method to simulate virtual deformable objects with force feedback. In *ICARCV*, pages 413–418, 2002. 57
- [175] D. Tabor. Friction - the present state of our understanding. *Journal of Lubrification Technology*, 103 :169–179, 1981. 119
- [176] N. Talbi. *résolution du contact frottant entre objets déformables en temps réel et avec retour haptique*. PhD thesis, L’Université d’Evry Val d’Essone, 2008. 139
- [177] D. Terzopoulos and K. Fleischer. Modeling inelastic deformation : Viscoelasticity, plasticity, fracture. 22 :269–278, August 1988. 55
- [178] D. Terzopouloust, J. Platt, A. Barr, and K. Fleischert. Elastically deformable models. *Computer Graphics*, 21 :205–214, 1987. viii, 55, 56
- [179] M. Teschner, S. Kimmerle, B. Heidelberger, G. Zachmann, L. Raghupathi, A. Fuhrmann, M.P. Cani, F. Faure, N.M. Thalmann, W. Strasser, and P. Volino. Collision detection for deformable objects. *Comput. Graph. Forum*, 24(1) :61–81, March 2005. 133
- [180] D.P. Theret, M.J. Levesque, M. Sato, R.M. Nerem, and L.T. Wheeler. The application of a homogeneous half-space model in the analysis of endothelial cell micropipette measurements. *J Biomech Eng*, 110(3) :190–199, Aug 1988. 37
- [181] M.A. Tsai, R.S. Frank, and R.E. Waugh. Passive mechanical behavior of human neutrophils : power-law fluid. *Biophys J*, 65(5) :2078–2088, Nov 1993. 39
- [182] P. A. Valberg and H. A. Feldman. Magnetic particle motions within living cells. measurement of cytoplasmic viscosity and motile activity. *Biophys J*, 52(4) :551–561, Oct 1987. 30
- [183] A. Vinckier and G. Semenza. Measuring elasticity of biological materials by atomic force microscopy. *FEBS Lett*, 430(1-2) :12–16, Jun 1998. 115
- [184] K.Y. Volokh, O. Vilnay, and M. Belsky. Tensegrity architecture explains linear stiffening and predicts softening of living cells. *J Biomech*, 33(12) :1543–1549, Dec 2000. 45
- [185] D.H. Wachsstock, W.H. Schwartz, and T.D. Pollard. Affinity of alpha-actinin for actin determines the structure and mechanical properties of actin filament gels. *Biophys J*, 65(1) :205–214, Jul 1993. 43
- [186] D.H. Wachsstock, W.H. Schwarz, and T.D. Pollard. Cross-linker dynamics determine the mechanical properties of actin gels. *Biophys J*, 66(3 Pt 1) :801–809, Mar 1994. 43

- [187] W. Wang, X. Liu, D. Gelinas, B. Ciruna, and Y. Sun. A fully automated robotic system for microinjection of zebrafish embryos. *PLoS One*, 2(9) :e862, 2007. 16, 20
- [188] S.K. Warfield, F. Talos, A. Tei, A. Bharatha, A. Nabavi, M. Ferrant, P. Mcl, F.A. Jolesz, and R. Kikinis. Real-time registration of volumetric brain mri by biomechanical simulation of deformation during image guided neurosurgery. 2002. 51
- [189] IG. Welsford. High-efficiency expression of k562 cells using an automated microinjection system. *Fujitsu Computer Systems*, 2006. viii, 18, 19, 20
- [190] S. Wendling, P. Canadas, C. Oddou, and A. Meunier. Interrelations between elastic energy and strain in a tensegrity model : contribution to the analysis of the mechanical response in living cells. *Comput Methods Biomech Biomed Engin*, 5(1) :1–6, Feb 2002. 44
- [191] S. Wendling, C. Oddou, and D. Isabey. Stiffening response of a cellular tensegrity model. *J Theor Biol*, 196(3) :309–325, Feb 1999. 45
- [192] M.H. William, J.F. Hughes, and H. Kaufman. Direct manipulation of free-form deformations. pages 177–184, 1992. 50
- [193] A. Witkin and W. Welch. Fast animation and control of nonrigid structures. In *SIGGRAPH '90 : Proceedings of the 17th annual conference on Computer graphics and interactive techniques*, pages 243–252, New York, NY, USA, 1990. ACM. 66
- [194] Xunlei Wu, Michael S. Downes, Tolga Goktekin, and Frank Tendick. Adaptive nonlinear finite elements for deformable body simulation using dynamic progressive meshes. In *Computer Graphics Forum*, pages 349–358, 2001. 64
- [195] Y. Xie, D. Sun, C. Liu, and S.H. Cheng. An adaptive impedance force control approach for robotic cell microinjection. In *Proc. IEEE/RSJ International Conference on Intelligent Robots and Systems IROS 2008*, pages 907–912, September 22–26, 2008. 20
- [196] Yu. Xie, D. Sun, C. Liu, S.H. Cheng, and Y.H. Liu. A force control based cell injection approach in a bio-robotics system. In *Proc. IEEE International Conference on Robotics and Automation ICRA '09*, pages 3443–3448, May 12–17, 2009. vii, 12, 13, 20
- [197] J. Yamashita, H. Yokoi, Y. Fukui, and M. Shimojo. A virtual surface modeler for direct and regional free form manipulation. In *Proc. of ICAT'94*, 1994. 50
- [198] F. Zara, F. Faure, and JM. Vincent. Parallel simulation of large dynamic system on a PCs cluster : Application to cloth simulation. *Int. J. Comput. Appl.*, 26(3) :173–180, March 2004. Special issue on cluster/grid computing. 63

Hamid LADJAL

DÉVELOPPEMENT D'UN SIMULATEUR HAPTIQUE POUR LA CARACTÉRISATION ET LA MICROINJECTION CELLULAIRES

L'objectif fondamental de cette thèse est de développer et de mettre en œuvre un outil interactif de simulation des techniques de micromanipulation biologiques de cellules. Au moyen de cet outil, l'opérateur pourra se former, s'entraîner et améliorer sa maîtrise en développant une gestuelle proche de celle exécutée en réalité. La conception d'un tel environnement de simulation en temps-réel nécessite de trouver un compromis entre le réalisme des modèles de comportement biomécanique utilisés, la précision et la stabilité des algorithmes des méthodes de résolution et de rendu haptique utilisées ainsi que la vitesse de calcul. La modélisation mécanique retenue repose sur l'utilisation du modèle hyperélastique de St Venant-Kirchhoff et une formulation dynamique explicite éléments-finis du type masses-tenseurs. Le bien-fondé de cette modélisation est vérifié sur des essais de microindentation par Microscopie à Force Atomique (AFM) de cellules souches embryonnaires de souris et de microinjection d'ovocytes. Nous avons développé et implémenté des modèles d'interaction en temps-réel qui s'articulent autour de la détection et la gestion rapide des collisions entre outil/cellule.

La synthèse du rendu haptique fourni à l'opérateur est également proposée par l'intermédiaire d'un couplage virtuel. Pour chaque application, nous avons justifié nos choix méthodologiques et Algorithmiques qui sont guidés par les contraintes de "réalisme+précision" "temps-réel". Les différents modèles proposés ont été intégrés dans le simulateur SIMIC que nous avons développé pendant cette thèse. Ce dernier est dédié à la simulation interactive pour l'aide à l'apprentissage du geste de microinjection et de nanoindentation cellulaire.

Mots clés : AFM, Eléments finis, Simulation et interaction haptique, objets déformables, temps réel

HAPTIC SIMULATOR FOR CELL CHARACTERIZATION AND MICROINJECTION

The fundamental objective of this thesis is to develop and implementing an interactive simulation techniques for micromanipulation biological cells. Using this tool, the operator can form, train and improve its control by developing a gesture similar to that performed in reality. The design of such a simulation environment in real time requires a compromise between the realism of biomechanical models used the accuracy and stability of algorithms and solution methods used haptic rendering and computational speed. Modeling Mechanical restraint involves the use of hyperelastic model of St Venant-Kirchhoff formulation and explicit dynamic finite element-type mass tensors. The validity of this model is tested on microindentation tests by Atomic Force Microscopy (AFM) of mouse embryonic stem cells and microinjection of oocytes. We have developed and implemented models of real-time interaction that revolve around the detection and management of rapid collisions between tool / cell.

The synthesis of the haptic feedback provided to the operator is also available through a virtual coupling. For each application, we have justified our methodological choices and Algorithms that are guided by the constraints of realism + precision "" real time ". The various proposed models have been integrated into the simulator SIMIC that we developed during this thesis. This is dedicated to interactive simulation to support learning of gesture microinjection and cell nanoindentation.

Keywords : AFM, Finite element, Simulation and haptic interaction, deformable objects, Real time