



HAL
open science

Mécanobiologie de l'interface cellules-biomatériaux. Approches in silico pour l'ingénierie tissulaire.

Jean-Louis Milan

► **To cite this version:**

Jean-Louis Milan. Mécanobiologie de l'interface cellules-biomatériaux. Approches in silico pour l'ingénierie tissulaire.. Biomécanique [physics.med-ph]. Aix-Marseille Université, 2021. tel-04458178

HAL Id: tel-04458178

<https://hal.science/tel-04458178v1>

Submitted on 15 Feb 2024

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

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



Distributed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License

Mémoire d'Habilitation à Diriger des Recherches

Aix-Marseille Université
Ecole Doctorale Sciences du Mouvement Humain

Mécanobiologie de l'interface cellules-biomatériaux
Approches in silico pour l'ingénierie tissulaire

Présenté par

Jean-Louis Milan

Maître de Conférences

Faculté des Sciences du Sport de Marseille

Institut des Sciences du Mouvement Etienne-Jules Marey

Date de soutenance 21 septembre 2021

Composition du Jury :

- Président : M. Matthieu PIEL, Directeur de Recherche, Institut CURIE
- Rapporteur : M. Thierry HOC, Professeur des Universités, ECOLE CENTRALE LYON
- Rapportrice : Mme Anne-Virginie SALSAC, Directrice de Recherche, CNRS
- Rapporteur : M. Claude VERDIER, Directeur de Recherche, UNIVERSITE GRENOBLE ALPES
- Tuteur : M. Patrick CHABRAND, Professeur des Universités, AIX-MARSEILLE UNIVERSITE

Table des matières

1.	Préambule.....	3
2.	HDR le Bilan des recherches.....	6
2.1.	<i>Apports des modèles in silico en biomécanique et mécanobiologie cellulaire et tissulaire.....</i>	<i>7</i>
2.2.	<i>Par où tout a commencé : Retour sur la thèse et le post-doctorat avec un nouveau regard.....</i>	<i>8</i>
2.3.	<i>Mécanobiologie de l'adhésion et la migration cellulaires</i>	<i>12</i>
2.3.1.	Comment la morphologie cellulaire influence-t-elle l'état mécanique ?.....	12
2.3.2.	Comment les cellules s'adaptent-elles à la rigidité du substrat ?.....	14
2.3.3.	Comment les cellules franchissent-t-elles les obstacles topographiques ?.....	23
2.3.4.	Comment la convexité du substrat influence-t-il l'état mécanique des cellules ?.....	26
2.3.5.	Comment la topographie est-elle un signal pour la migration cellulaire ?.....	29
2.4.	<i>Modélisations in silico de formation tissulaire</i>	<i>39</i>
2.4.1.	Régénération osseuse stimulée mécaniquement au sein de matrices poreuses	39
2.4.2.	Influence du traitement de surface d'un implant sur l'ostéointégration	45
2.5.	<i>Modélisation biomécanique ostéo-articulaire macro-scopique : exemple de la main.....</i>	<i>51</i>
2.6.	<i>Conclusions.....</i>	<i>54</i>
3.	HDR le Projet.....	55
3.1.	<i>Décrypter in silico les mécanismes dynamiques de curvotaxie</i>	<i>56</i>
3.1.1.	Etat de l'art.....	56
3.1.2.	Modéliser les mécanismes dynamiques de migration.....	57
3.1.3.	Modéliser la polarisation cellulaire comme un effet de la curvotaxie	58
3.1.4.	Implémentation de la cellule in silico dans le Projet ANR Aminocoat	59
3.2.	<i>Modéliser la migration cellulaire guidée par une topographie dynamique</i>	<i>61</i>
3.2.1.	Introduction du concept de topographie dynamique.....	61
3.2.2.	Etat de l'art des substrats dynamiques.....	62
3.2.3.	Ma Problématique.....	66
3.2.4.	Mes Objectifs	67
3.2.5.	Décrypter l'initiation de la curvotaxie dynamique.....	67
3.2.6.	Guidage de la migration cellulaire par des fronts de vagues.....	69
3.2.7.	Apprentissage et optimisation de la migration cellulaire	70
3.2.8.	Stratégies de migration collective.....	71
3.2.9.	Caractère innovant et ambitieux du projet	73
3.3.	<i>Design in silico de substrats 3D optimisés pour l'ingénierie tissulaire</i>	<i>75</i>
3.3.1.	Etat de l'art.....	75
3.3.2.	Ma Problématique.....	77
3.3.3.	Mes Objectifs	77
3.3.4.	Protocole.....	77
3.4.	<i>Intégrer une approche mécanobiologique dans les modèles biomécaniques macro.....</i>	<i>78</i>
4.	HDR le CV	79
4.1.	<i>Profil professionnel</i>	<i>80</i>
4.2.	<i>Profil publiant</i>	<i>80</i>
4.3.	<i>Responsabilités scientifiques :</i>	<i>84</i>
4.3.1.	- Responsable du WP 4 de l'ANR « Sinus surf » 2013-2017	84
4.3.2.	- Responsable du WP 2 du FUI15 « Quick Mold » 2013-2017	84
4.3.3.	- Responsable WP du Défi CNRS « REPOUSSE » 2016-2018.	85
4.3.4.	- Responsable du PEPS INSIS-2016 Cells&Nanofibers.....	86
4.3.5.	- Co-responsable d'une action incitative au sein de l'ISM	87
4.3.6.	- Responsable de contrats de recherche avec des entreprises	87
4.3.7.	- Responsable du contrat avec Selenium Medical.....	87
4.4.	<i>Encadrement doctoral et scientifique :</i>	<i>88</i>
4.5.	<i>Projets en Enseignement.....</i>	<i>90</i>
4.6.	<i>Animation scientifique</i>	<i>92</i>
4.7.	<i>Collaborations.....</i>	<i>93</i>
5.	Références	94

1. Préambule

Je suis Maître de Conférence à la Faculté des Sciences du Sport d'Aix-Marseille Université (AMU). Je réalise mes recherches en biomécanique et mécanobiologie au sein du Groupe Interdisciplinaire en Biomécanique Ostéoarticulaire, de l'Institut des Sciences du Mouvement (ISM - UMR7287 AMU&CNRS), dirigé par Martine Pithioux, à Marseille. J'ai désormais la conviction d'avoir acquis la maturité scientifique suffisante pour définir un projet de recherche à long terme que je porterai en autonomie. J'ai l'ambition de créer un groupe de jeunes chercheurs doctorants et post-doctorants compétents en expérimentation *in silico* pour identifier les facteurs mécanobiologiques des processus cellulaires impliqués en ingénierie tissulaire. Mon objectif est d'imaginer des environnements artificiels mais contrôlables que pourraient être les biomatériaux de demain pour stimuler une réponse cellulaire choisie. Je mets à profit l'accueil en délégation CNRS que j'ai obtenu sur deux années de 2019 à 2021 pour préparer mon dossier de demande d'Habilitation à Diriger des Recherches. En présentant ce dossier HDR j'ai le désir de montrer la cohérence de mes travaux scientifiques et la pertinence de mon projet futur.

Mes recherches portent sur les facteurs mécaniques influençant la biologie des cellules et des tissus qui composent le corps humain. Les cellules organisent les tissus, les synthétisent en fonction notamment des contraintes mécaniques qu'elles ressentent. De nombreuses questions restent encore sans réponses précises et définitives. Comment les cellules interagissent avec leur environnement mécanique ? Quel est l'environnement 3D idéal pour cultiver des cellules de manière optimale et induire une régénération tissulaire ? Le contrôle de cet environnement doit-il s'envisager aussi dans la dimension temporelle ? Quelles pourraient être les caractéristiques de biomatériaux 4D ?

Ces questions sont celles sur lesquelles je travaille depuis plusieurs années. Pour y répondre, je développe aux échelles cellulaire et tissulaire des modèles *in silico*. Ces avatars numériques me permettent de proposer et de tester des hypothèses expliquant la sensibilité des cellules à leur environnement mécanique et de prédire les conséquences sur l'adaptation des tissus.

Les avatars cellulaires que je développe me permettent par exemple d'analyser l'adhésion et la migration cellulaires basées sur la tension du cytosquelette et la déformabilité et la mobilité du noyau. J'étudie l'influence de la rigidité et de la complexité architecturale au sein de substrats 2D ou 3D sur les fonctions cellulaires. L'utilisation de ces modèles *in silico* en lien étroit avec des modèles *in vitro* vise à optimiser le design d'environnements cellulaires pour l'ingénierie tissulaire afin de promouvoir et de contrôler la colonisation, la viabilité et la différenciation des cellules. Dans d'autres domaines comme celui de l'oncologie, ces modèles peuvent aussi permettre de mieux comprendre les ressorts mécaniques de la migration, extrêmement dynamique dans le cas des cellules cancéreuses. Enfin, les avatars tissulaires que je développe sont capables de prédire le phénotype d'un tissu en cours de régénération en fonction des contraintes mécaniques locales ressenties par les cellules.

Pour le futur, j'entrevois le réel potentiel d'un rapprochement entre modélisations numériques *in silico*, et méthodes expérimentales *in vitro* et *in vivo*, pour provoquer une rupture dans la compréhension des processus cellulaires. Comment alors envisager les modèles *in silico*, leur apport par rapport aux modèles *in vitro* et *in vivo* ? Comment articuler ces différents outils d'exploration scientifique ? Je pense qu'il faut envisager l'*in silico* comme l'*in vitro* a été pensé par rapport à l'*in vivo*. Le passage d'un niveau à l'autre, s'il procède d'abord par un resserrement du champ exploratoire par une simplification drastique afin d'aboutir à un outil manipulable, propose en fine un élargissement des possibilités d'expériences. Les modèles *in silico* servent avant tout à identifier et caractériser les ressorts qui sous-tendent les phénomènes observés *in vitro* ou *in vivo*. Mais les modèles *in silico* préalablement validés, peuvent aussi servir à mettre en évidence de nouveaux phénomènes, des phénomènes qu'il n'est pas encore techniquement possible d'observer expérimentalement.

Comment un modèle numérique de cellule pourrait alors aider à la culture cellulaire ? En testant justement toutes les situations, toutes les configurations en amont. Sur la base des résultats *in silico*, les biologistes peuvent alors identifier l'action à mener *in vitro*. Ceci amène le concept de cellule « augmentée » : une cellule cultivée *in vitro*, qui posséderait un avatar numérique à partir duquel

plusieurs options pourraient être expérimentées afin de choisir la meilleure. Une sorte d'intelligence déportée qui serait une aide supplémentaire dans le contrôle des fonctions cellulaires.

Ce projet abouti, est celui que je propose dans ma demande d'HDR.

Diplômé en 2003 de l'École Centrale Marseille (Ex ESIM) et d'un Master en Mécanique, obtenu en parallèle en 2003 auprès de l'école doctorale Physique, Modélisation et Sciences pour L'Ingénieur, j'ai soutenu en 2007 ma thèse réalisée au Laboratoire d'Aérodynamique et de Biomécanique du Mouvement à Marseille sous la direction du Pr. Patrick Chabrand et de Sylvie Wendling sur la modélisation de la contractilité cellulaire.

J'ai développé durant cette thèse un modèle numérique et mécanique innovant capable de reproduire à la fois l'état de tension mécanique de la cellule adhérente et la réorganisation dynamique de sa structure en fonction des stimuli mécaniques. J'ai également enseigné pendant ces 3 années de thèse, 100 heures de travaux dirigés en mathématiques appliquées à l'étude du mouvement sportif au sein de la Faculté des Sciences du Sport.

Après la soutenance de ma thèse, je suis parti à l'étranger, en Espagne, pour effectuer un Post-Doctorat de 2007 à 2009 à l'Institut de BioIngénierie de Catalogne à Barcelone (IBEC), sous la direction des Professeurs Josep Planell et Damien Lacroix. Durant ce Post-Doctorat, j'ai développé un modèle in silico de régénération tissulaire pour prédire le niveau de stimulation mécanique optimal en conditions in vitro et in vivo.

J'ai intégré en 2009 et en tant qu'ATER l'ISM nouvellement créé et rattaché à la Faculté des Sciences du Sport de Marseille. En 2010 je rejoins définitivement l'équipe du Professeur Patrick Chabrand au sein de l'ISM et de la Faculté des Sciences du Sport en tant que Maître de Conférence d'Aix-Marseille Université. Depuis je développe des approches de modélisation in silico des fonctions cellulaires intégrant une vision mécanobiologique. J'assure des enseignements en biomécanique du mouvement humain en Licence et Master à la Faculté des Sciences du Sport de Marseille. Je forme notamment les étudiants des Masters « Ingénierie et Ergonomie des Activités Physiques » (IEAP) et en particulier ceux qui suivent la mention « Bio-ingénierie des Tissus et des Implants » (BTI) à la modélisation numérique en biomécanique et mécanobiologie.

Depuis mon recrutement à Aix-Marseille Université et à l'ISM en tant que titulaire, j'ai évolué dans un contexte pionnier à différents points de vue. Je me suis investi dans les quatre missions d'un Maître de Conférences qui me paraissent essentielles : 1) développer une recherche innovante 2) préparer et assurer des enseignements de qualité 3) s'impliquer dans la vie et les tâches de son équipe de recherche, 4) former les jeunes étudiants au monde professionnel dont celui de la recherche scientifique.

J'ai développé un axe de recherche original et novateur. Ce projet a demandé un travail important, principalement pour construire les différentes briques logicielles nécessaires à la modélisation du comportement cellulaire mais aussi pour construire un réseau solide de collaborations scientifiques. J'ai depuis participé à des projets ANR ou FUI dans lesquels j'ai été responsable de tâches. Je peux désormais compter sur des collaborations scientifiques fortes avec des biologistes cellulaires, d'autres numériciens et des spécialistes des biomatériaux reconnus. En particulier, je suis en relation étroite avec les biologistes cellulaires Karine Anselme et Laurent Pieuchot de l'IS2M à Mulhouse, Romain Debret (LBTI) et Jérôme Sohier (MATEIS) à Lyon, Laurence Vico et Alain Guignandon (LBTO) à St Etienne. Je suis en relation avec d'autres numériciens en mécanobiologie comme Patrick Cañadas (LMGC) à Montpellier, Daniel George (ICUBE) à Strasbourg, Rachele Allena (LBM-ENSAM) à Paris, Damien Lacroix à Sheffield, Hans van Oosterwyck (KU) à Louvain, Jerome Noailly (UPF) à Barcelone. J'ai aussi collaboré avec des physiologistes cellulaires comme Roberto Mayor (UCL) à Londres et Christopher Chen (UB) à Boston et Nathan Sniadecki (UW) à Seattle qui sont reconnus dans le domaine de la mécanobiologie cellulaire.

S'il m'a fallu du temps pour développer ces modèles numériques cellulaires, mes travaux ont depuis gagné en visibilité et en reconnaissance par la publication d'un certain nombre d'articles dans des journaux de premier plan.

J'ai préparé et assuré des cours magistraux et des travaux dirigés en STAPS. Cette offre de formation a demandé les premières années un investissement important pour répondre au mieux aux

exigences de la Faculté, pour composer avec les profils hétérogènes des étudiants et adapter ma pédagogie et le contenu de mes cours. Pour m'impliquer dans la vie de la Faculté, j'ai été responsable de 2011 à 2020 du champ d'enseignements en Biomécanique, qui constitue un des quatre champs thématiques de la Faculté.

Par esprit d'équipe et par ouverture scientifique, je me suis impliqué naturellement et au-delà de mes propres projets de recherche, dans la vie de mon équipe GIBOC. L'équipe GIBOC était en construction à l'époque de mon recrutement et demandait l'implication de chacun. Ainsi j'ai très tôt participé au montage du projet scientifique de l'équipe. J'ai mis en place les moyens numériques de GIBOC, hardware et software, pour permettre aux autres chercheurs et aux doctorants de l'équipe de concevoir et de lancer des simulations numériques en biomécanique ostéoarticulaire. J'ai, comme mes collègues, assuré le relationnel avec le monde de l'entreprise et j'ai participé au suivi des doctorants et des stagiaires en essayant de trouver des solutions aux problèmes techniques et humains.

Aussi suis-je fier du développement de l'équipe GIBOC et de son succès. Désormais, l'équipe GIBOC est l'une des plus grosses équipes de l'ISM. Elle pilote depuis plusieurs années le Master BTI qui recrutent et forment chaque année un nombre croissant d'étudiants dans les domaines des dispositifs médicaux implantables et de l'ingénierie tissulaire. Créée à l'époque dans un contexte pionnier, l'Equipe GIBOC entre désormais dans une phase de pérennisation, forte de son succès et d'une reconnaissance de la part de l'Institut, de l'Université Aix-Marseille et de la part de la communauté scientifique à l'échelle nationale et à l'international. L'Equipe GIBOC bénéficie d'un réseau d'industriels dans le domaine des dispositifs médicaux implantables qui nous font confiance et avec lesquels nous travaillons. Ces industriels recrutent en stage et en CDI les étudiants du Master BTI, et établissent avec l'équipe GIBOC un nombre croissant de thèses CIFRE.

Dans un souci de former les jeunes étudiants à la vie professionnelle et au monde de la recherche, j'ai encadré de nombreux étudiants en stage de L2, L3, M1, M2, issus principalement, mais pas seulement, de la Faculté des Sciences du Sport. Ces stages nécessitent un encadrement réel notamment sur les sujets novateurs qui sont les miens.

Mes recherches en biomécanique et mécanobiologie se prolongent dans mes activités d'enseignement et mon projet de formation pour les étudiants, de la Licence au Master STAPS. J'estime ainsi que mon profil d'enseignant-chercheur s'inscrit, avec les thématiques et les exigences de la 74^e section CNU. Mon profil peut aussi relever de la 60^e sections CNU.

Dans ce contexte favorable, je peux envisager un développement ambitieux de l'axe de recherche que je porte en totale autonomie et qui réclame une implication majeure. C'est dans ce contexte que je développe ma pensée scientifique analysant mes réalisations passées pour envisager de manière pertinente et ambitieuse les développements futurs de mon projet. Ce mémoire est le résultat de cette réflexion.

2. HDR le Bilan des recherches

2.1. Apports des modèles in silico en biomécanique et mécanobiologie cellulaire et tissulaire

Les modèles mécaniques sont de grands ensembles d'équations qui décrivent une version contrôlée et réduite d'une expérience physique ou biologique. Parmi ceux-ci les modèles numériques, contrairement aux modèles analytiques, peuvent intégrer une complexité plus importante des systèmes vivants. Les ressources et les méthodes numériques permettent en effet de résoudre des équations sur des systèmes de grandes dimensions, hétérogènes et de géométries non triviales. Néanmoins, les modèles numériques restent loin de toute la complexité des modèles in vivo, et leur validité relative qui repose des hypothèses vérifiées partiellement peut bien sûr être remise en question. Les modèles in vitro sont un premier pas vers la décomposition de la physique des systèmes vivants, démêlant cette complexité. Les modèles numériques, appelés in silico en opposition aux approches in vitro, apportent à mon sens une décomposition supplémentaire de cette complexité. Les mécanismes régulant le comportement des systèmes vivants, vus comme des problèmes multi-physiques et multi-échelles peuvent être facilement modélisés in silico. L'approche in silico est devenue un outil essentiel en biophysique théorique, complémentaire des approches in vivo et in vitro, car intégrant la complexité des systèmes vivants de manière contrôlée [Mogilner2009, Rodriguez2013, Rens2017]. Les modèles in silico fournissent également des données complémentaires, à différentes échelles et de différents types, difficilement accessibles par les outils expérimentaux d'observation et de mesures actuels.

Les modèles en mécanique ainsi que les méthodes numériques qui leur sont associées sont extrêmement robustes. Leur validité n'est quasiment pas remise en cause et il est possible de parler de lois mécaniques. L'application des méthodes de la mécanique au milieu vivant reste un point délicat, d'autant plus que les biomécaniciens développent des modèles phénoménologiques qu'ils vont exploiter en dehors de leur domaine de construction

L'intérêt d'un modèle réside aussi dans le fait qu'il dépasse le cadre du visible et permet d'accéder à des éléments non observables expérimentalement, et par conséquent non vérifiables. Dans le cas du vivant, les modèles sont souvent difficiles à valider complètement. Ils ne sont validés que sur un nombre restreint de cas pour lesquels une expérience physique est possible. Leur domaine d'application est ensuite étendu par extrapolation. De plus, quand bien même il serait possible de valider par l'expérience les résultats d'un modèle, il faudrait aussi valider les équations intrinsèques à l'origine de ce comportement.

Que doit-on penser alors des modèles in silico en biomécanique et mécanobiologie ? L'intérêt premier des modèles in silico, est qu'ils permettent de tester différentes hypothèses théoriques au moyen d'expériences numériques. Ils permettent de définir de nouvelles hypothèses et de concevoir de nouvelles expériences in vitro ou in vivo. Ainsi les approches in silico aident à définir des expérimentations in vitro et in vivo plus pertinentes et participent à une meilleure compréhension des systèmes biologiques.

Il me semble également, qu'une forme de validité réside dans les modalités de la construction même d'un modèle in silico. Sa construction peut s'appuyer sur des travaux existants pour attester l'existence et la valeur des paramètres. Elle résulte surtout de l'intuition logique de la part du scientifique. Un modèle construit de manière intelligente peut bénéficier à mon sens d'une certaine forme de pertinence dans le sens où les résultats qu'il propose, accompagnent et prolongent la réflexion scientifique en suggérant de nouvelles questions et de nouvelles pistes. Ce principe de la modélisation remet au centre l'intuition et la rigueur du scientifique.

2.2. Par où tout a commencé : Retour sur la thèse et le post-doctorat avec un nouveau regard

Au cours de ma formation d'ingénieur, après un cursus généraliste et un aperçu des sciences de l'ingénieur appliquées au vivant, je me suis orienté en troisième année vers une spécialisation en Mécanique et Matériaux. En parallèle de cette troisième année d'Ecole d'Ingénieurs, j'ai suivi un DEA de Mécanique option Milieux Vivants pour me tourner vers un cursus Recherche. Durant mon stage de fin d'études, j'ai débuté un projet de recherche sur le comportement mécanique des cellules, un projet que j'ai poursuivi en thèse et que j'anime encore aujourd'hui.

Le titre de ma thèse que j'ai soutenue en 2003 est « La modélisation du comportement mécanique de la cellule et de son cytosquelette, approche basée sur la mécanique des milieux divisés ». Dans ce travail de thèse, j'ai étudié la biologie de la cellule, sa composition interne ainsi que les processus d'adhésion, de prolifération, de migration et de synthèse de protéines. Outre le contrôle de l'activité cellulaire par des facteurs biochimiques tels que les signaux hormonaux, j'ai constaté dans la littérature scientifique l'influence de l'environnement mécanique et de l'état mécanique interne de la cellule. La mécanobiologie cellulaire met en évidence une relation claire entre morphologie, niveau d'adhésion, niveau de tension interne et une réponse biologique spécifique. Cependant ces relations de dépendance sont encore peu expliquées. Je me suis donc intéressé à l'étude du comportement mécanique de la cellule en vue d'identifier à terme sa contribution dans le contrôle de l'activité cellulaire.

Le comportement mécanique des cellules vivantes dépend étroitement des propriétés mécaniques de leur cytosquelette. Le cytosquelette est une structure intracellulaire composée de filaments biopolymériques de trois types : les filaments d'actine, les microtubules et les filaments intermédiaires. Les filaments du cytosquelette s'organisent en réseaux non mixtes hautement réticulés qui possèdent des fonctions mécaniques et biologiques propres.

Ainsi, les filaments d'actine couplés à des protéines de myosine constituent des réseaux intracellulaires contractiles qui donnent à la cellule son tonus et son intégrité mécanique. Lorsque la cellule est adhérente, ce réseau de tension est connecté à la matrice extracellulaire via les points focaux d'adhésion et permet ainsi à la cellule de renforcer son adhésion et d'augmenter sa stabilité mécanique. Par ailleurs, la contraction du réseau de filaments d'actine couplée à des processus dynamiques d'accrochage et de détachement des récepteurs intégrines transmembranaires avec des protéines extracellulaires spécifiques telles que la fibronectine, produit la migration cellulaire.

Les microtubules qui possèdent une configuration tubulaire ont, au contraire, un rôle de support de compression et contrebalancent une partie de la tension interne générée par le réseau d'actine ; l'autre partie de la tension est contrebalancée par la force de réaction du cytosol, la fraction fluide du cytoplasme et par celle du substrat. Dans les processus de division cellulaire, la croissance des microtubules par polymérisation étire la cellule et sépare les chromosomes.

Enfin, les filaments intermédiaires, au comportement hyper-élastique sont présents à la fois dans le noyau et dans le cytoplasme autour du noyau. Le réseau de filaments intermédiaires peut être vu comme un prolongement, dans le cytoplasme, du nucléosquelette, structure biopolymérique intranucléaire.

Les filaments du cytosquelette sont animés en permanence de processus rapides de polymérisation et dépolymérisation qui confèrent au cytosquelette la capacité de se réorganiser de manière dynamique pour s'adapter aux forces mécaniques extérieures ou pour initier une action mécanique comme la migration ou la division cellulaire. Dans le cadre de ma thèse, j'ai développé un modèle de Cellule basé sur la mécanique des Milieux Divisés (CMD) qui représente la structure réticulée et contractile du cytosquelette par un réseau discret d'interactions de tension-compression. Le modèle CMD s'inscrit donc dans la lignée des modèles cellulaires basés sur le concept de tensegrité qui formalise l'état d'équilibre en tension de la cellule [Canadas2002 ; Wendling2003 ; Sultan2004]. Le modèle CMD introduit néanmoins une connectivité évolutive des réseaux d'interactions qui permet de reproduire la réorganisation dynamique du cytosquelette en fonction de l'environnement mécanique.

Le modèle CMD est un modèle numérique développé autour d'une géométrie 2D qui représente une cellule adhérent à un substrat plan, vue de côté. La géométrie est constituée d'un ensemble de

nœuds qui interagissent selon des liaisons compressives, cohésives ou élastiques. Ces interactions génèrent dans la géométrie des forces qui s'organisent en deux réseaux de tension et compression. Du fait des propriétés mécaniques et du rôle mécanique des trois types de filaments cytosquelettiques, les réseaux de tension et de compression représentent respectivement les filaments d'actine et les microtubules. Les filaments intermédiaires sont représentés par un réseau de tension élastique latent, détendu à l'état initial.

Les interactions entre les nœuds du modèle sont régies par plusieurs lois. Elles sont néanmoins toutes fonctions de la distance entre les nœuds et peuvent apparaître ou disparaître selon que les nœuds sont considérés comme voisins ou éloignés. Ce critère introduit donc une connectivité dynamique et évolutive dans les réseaux d'interactions.

Des essais de traction-compression réalisés sur des cellules isolées à l'aide de microplaques [Thoumine1997] ont été reproduits sur le modèle CMD (Figure 1). Les résultats en termes de rigidité globale sont en accord avec les observations expérimentales [Milan2007]. De plus, le modèle CMD a permis de décrire la contribution des différents réseaux de filaments cytosquelettiques dans le comportement mécanique global. Ainsi, une perte d'intégrité est clairement constatée lorsque le réseau de filaments intermédiaires ou le réseau profond de filaments d'actine est absent du modèle. Ces résultats sont en accord avec les observations *in vitro* faites après l'ajout de drogues dans le milieu de culture qui inhibe la polymérisation de tel ou tel réseau filamentaire du cytosquelette. Par exemple, l'ajout de cytochalasine D qui inhibe dans la cellule la polymérisation des filaments d'actine, entraîne à la fois une diminution de la tension mécanique du cytosquelette (tonus cellulaire) et une diminution également de la rigidité globale. Grâce au modèle, j'ai identifié une relation quasi-linéaire entre le tonus cellulaire et la rigidité de la cellule. Ainsi, le tonus cellulaire peut être vu comme un élément qui contrôle la rigidité de la cellule. Ajuster son tonus peut permettre à la cellule de se rapprocher de la rigidité de son environnement ou du substrat et de régler sa sensibilité aux déformations extérieures. Dans ce sens, La tension du cytosquelette pourrait être impliquée dans le contrôle du seuil de mécanosensibilité cellulaire.

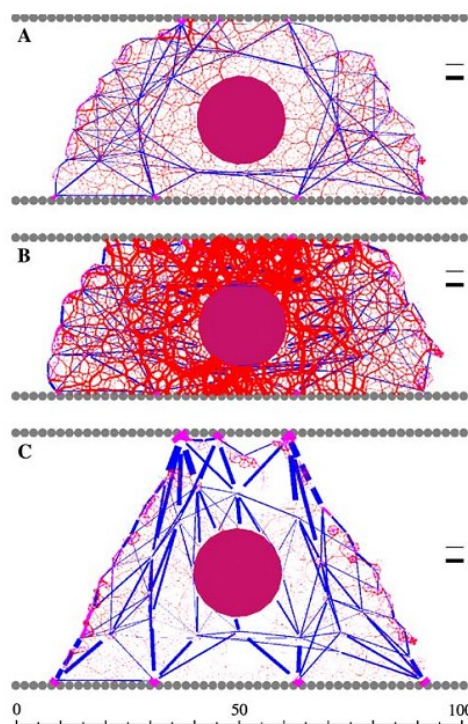


Figure 1 : Distribution des forces intra-cellulaires générées par le cytosquelette au sein d'une cellule adhérente entre deux microplaques (A), comprimée (B) puis étirée (C). [Milan2007]

J'ai identifié l'impact des conditions d'adhésion sur l'organisation du cytosquelette et sur la rigidité globale de la cellule. Ainsi, le modèle CMD a montré que la diminution du nombre de points focaux n'entraîne pas nécessairement une baisse de la rigidité globale de la cellule mais plutôt une conservation du niveau de tension interne redistribuée entre points d'adhésion restants [Milan2007].

La cellule n'est pas une entité purement « élastique ». Elle ne stocke pas toute l'énergie lorsqu'on la déforme. Il y a de la dissipation du fait de la viscosité du cytoplasme et des filaments du cytosquelette. Mais il y a aussi une dissipation d'énergie par le remodelage même du cytosquelette. J'ai ainsi estimé la part de la dépolymérisation du cytosquelette dans la dissipation d'énergie lors d'une déformation cellulaire ou lors d'un remodelage du cytosquelette dynamique après modification des conditions d'adhésion.

Au vu de ces résultats, le modèle CMD peut constituer un outil pour comprendre les déterminants mécaniques des processus cellulaires d'adhésion, de migration et de mécanotransduction, dans lesquels la réorganisation du cytosquelette est impliquée.

Le modèle CMD est basé sur le concept de tenségrité proposé par Ingber et sur les premières modélisations réalisées par Dimitri Stamenovic. En 1998, le concept de tenségrité est une théorie en rupture qui fut la première à décrire la tension intracellulaire et ses conséquences sur le comportement cellulaire. Le modèle CMD a permis d'enrichir la modélisation basée sur la tenségrité en augmentant très largement le nombre d'éléments qui compose le modèle, et en complexifiant la structure représentant le cytosquelette. Via le modèle CMD, le concept de tenségrité fait un pas de plus vers la complexité structurale de la cellule. Dans l'évolution des modèles de tenségrité, le modèle CMD fait figure d'aboutissement.

Peu après ma thèse, l'équipe du LMGC de Montpellier a d'ailleurs développé un modèle cellulaire 3D amélioré, proche du modèle CMD, basé lui aussi sur la mécanique des milieux divisés et en utilisant les mêmes types d'interaction. Ce modèle commandé par un algorithme d'évolution, a permis d'analyser la contribution des microtubules dans les processus d'adhésion en simulant leur polymérisation [Maurin2008].

La thèse m'a ouvert la porte sur la biomécanique cellulaire et sur le potentiel de l'outil numérique pour mieux la comprendre en développant des hypothèses nouvelles et en les testant. En développant mon modèle cellulaire, j'ai aussi développé mes connaissances et mes compétences. Je suis parti d'un modèle purement mécanique pour finalement aboutir à un modèle qui cherche à intégrer des caractéristiques biologiques. Je suis passé de la biomécanique à la mécanobiologie, de la caractérisation mécanique de la cellule aux mécanismes de régulation de son comportement mécanique en fonction de son environnement. La fin de ma thèse était marquée par une volonté de comprendre la mécanotransduction et de pouvoir intégrer les cascades de réactions physico-chimiques qui font suite à un stimulus mécanique, depuis l'activation des mécanosenseurs transmembranaires jusqu'à l'expression de gènes au niveau du noyau de la cellule.

Le cadre de ma thèse était assez fondamental, et n'était pas appliqué à la description d'un comportement cellulaire particulier ou à l'étude d'une pathologie. L'objectif de ma thèse se limitait d'abord à apporter des éléments génériques de compréhension sur l'état mécanique des cellules adhérentes. Mon sujet de thèse était intégré à un projet plus large sur la sensibilité des cellules aux contraintes mécaniques et ses conséquences sur l'adaptation des tissus. Mon travail participait au projet scientifique de mon équipe sur la thématique de l'os en croissance, en remodelage ou en réparation. *In fine*, bien que fondamentale, ma thèse débouche sur un outil qui est capable malgré sa simplicité, d'apporter des éléments de réponses à certaines questions pratiques relatives à des pathologies impliquant des désordres au niveau des cellules et du cytosquelette.

En revenant aujourd'hui sur mes travaux de thèse, je peux constater qu'ils ont posé les bases de la modélisation en mécanique cellulaire que je développe actuellement. Ils ont permis, par une analyse fouillée, d'établir de manière pertinente une représentation du cytosquelette de la cellule que je revendique encore aujourd'hui.

Les germes de mes travaux actuels étaient déjà présents dans ma thèse, tels que la perspective de simuler la migration cellulaire par des mécanismes polarisés au niveau des points focaux d'adhésion. J'ai aujourd'hui dépassé la vision et l'ambition que j'avais à l'époque de ma thèse. Je suis désormais à même de proposer un modèle cellulaire abouti pouvant être utilisé dans des applications concrètes comme l'identification d'un profil mécanobiologique spécifique pour les cellules cancéreuses. Les compétences acquises me permettent maintenant de critiquer ce travail de thèse non pas seulement en tant que mécanicien mais aussi avec une vision que partagent les biologistes. Je peux désormais participer à une réflexion globale sur le comportement cellulaire au même titre qu'un biologiste.

La suite de mon étude, par le travail des doctorants et post-doctorants que j'ai encadrés et par l'interaction avec les collègues biologistes et physiciens a permis de valider mon approche en modélisation cellulaire auprès de la communauté scientifique et de mettre en synergie l'in vitro avec l'in silico.

2.3. Mécanobiologie de l'adhésion et la migration cellulaires

2.3.1. Comment la morphologie cellulaire influence-t-elle l'état mécanique ?

Cette recherche a débuté dans le cadre de mon poste d'ATER de 2009 à 2010 et s'est prolongée durant les premières années de mon recrutement MCF.

Après mon travail de thèse sur la modélisation d'une cellule « idéale », sans existence réelle, j'avais l'ambition de modéliser des cellules cultivées et observées expérimentalement. Je voulais que mon modèle reprenne le maximum d'attributs cellulaires que l'on peut observer. Je voulais développer un modèle cellule-dépendant qui soit un avatar numérique de cellules réelles.

Dans le cadre du GDR 2760, je me suis rapproché de l'équipe de biologistes du Laboratoire d'Ingénierie Ostéo Articulaires et Dentaire (LIOAD) de Nantes, qui travaille sur le contrôle de l'adhésion et la différenciation des cellules souches à la surface de biomatériaux en titane fonctionnalisées par un traitement d'anodisation. Le but de notre collaboration était d'estimer à partir de la morphologie cellulaire, le comportement mécanique des cellules souches adhérentes en fonction du traitement de surface et de le mettre en parallèle avec le phénotype qu'elles atteignaient.

Pourquoi s'intéresser à la morphologie cellulaire ? Parce qu'en effet, d'un côté la morphologie cellulaire en fin d'adhésion est un facteur influençant la différenciation [Tan2003 ; Wang2009] et de l'autre côté, parce qu'en contrôlant les propriétés de surface du substrat (hydrophilie, rugosité, topographie...), il est possible d'induire la morphologie cellulaire et donc la différenciation.

Cependant, ce focus sur la morphologie cellulaire n'est pas une explication en soi. Pour aller plus loin dans la compréhension du problème, on peut penser que la morphologie cellulaire peut avoir des conséquences sur le comportement mécanique ou bien que la morphologie soit une conséquence, une signature d'un état mécanique spécifique. En tout état de cause, l'étalement cellulaire à la surface d'un substrat implique un réarrangement du cytosquelette et la modification de la tension intracellulaire qui peuvent tous deux activer des voies de mécanotransduction contrôlant la différenciation cellulaire.

Les signaux mécaniques que j'ai identifiés comme autant de points clés caractérisant le comportement mécanique de la cellule étaient tout d'abord le niveau de tension intracellulaire généré par le cytosquelette, la rigidité globale de la cellule, le niveau de tension transmise au noyau et le niveau de déformation du noyau en fonction de la morphologie cellulaire. La déformation du noyau en déplaçant les territoires chromosomiques, peut promouvoir la transcription de gènes spécifiques [Martin2012, Cho2017]. L'expérimentation numérique permet ici des analyses de mécanique intracellulaire qui sont difficiles à réaliser *in vitro*.

J'ai développé et étendu le modèle CMD au cas 3D (Figure 2) pour se rapprocher davantage de la morphologie réelle de la cellule. Dans le modèle CMD 3D comme dans celui développé initialement en 2D, les réseaux filamenteux du cytosquelette et du nucléosquelette étaient représentés comme un système mécanique d'interactions multiples en traction et en compression entre les nœuds d'un milieu divisé. Les particularités du modèle CMD 2D telles que la connectivité libre et dynamique étaient conservées. J'ai représenté dans le modèle 3D le noyau par un milieu déformable qui m'a permis d'analyser le niveau de déformation au cours de l'étalement cellulaire.

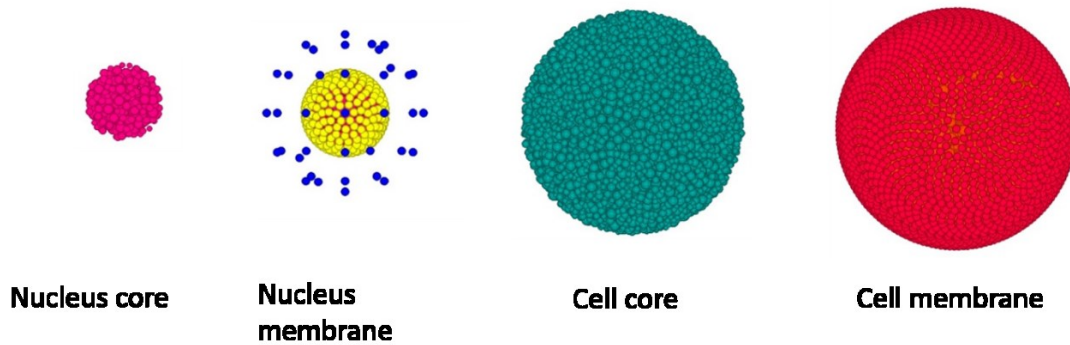


Figure 2 : Composition du modèle cellulaire 3D

J'ai également développé un algorithme qui contrôle l'étalement du modèle CMD 3D sur le substrat jusqu'à ce qu'il atteigne la morphologie exacte d'une cellule observée in vitro donnée. J'ai ainsi répété ces simulations pour plusieurs cellules cultivées in vitro. Le post-traitement des résultats des simulations donnait ensuite accès à des informations mécaniques originales relatives au cytosquelette et au noyau que les expériences in vitro ne peuvent pas fournir. Ces résultats originaux ont montré que le tonus intracellulaire, les forces focales d'adhésion ainsi que la déformation nucléaire augmentaient avec l'étalement cellulaire. Ces niveaux de déformations et de contraintes intracellulaires qui ont été calculés au sein de cellules souches aux morphologies typiques ont été rapprochés du phénotype que ces cellules développent ensuite [Milan2013]. Ces résultats permettent donc d'associer à un profil de différenciation cellulaire un état mécanique intracellulaire (Figure 3).

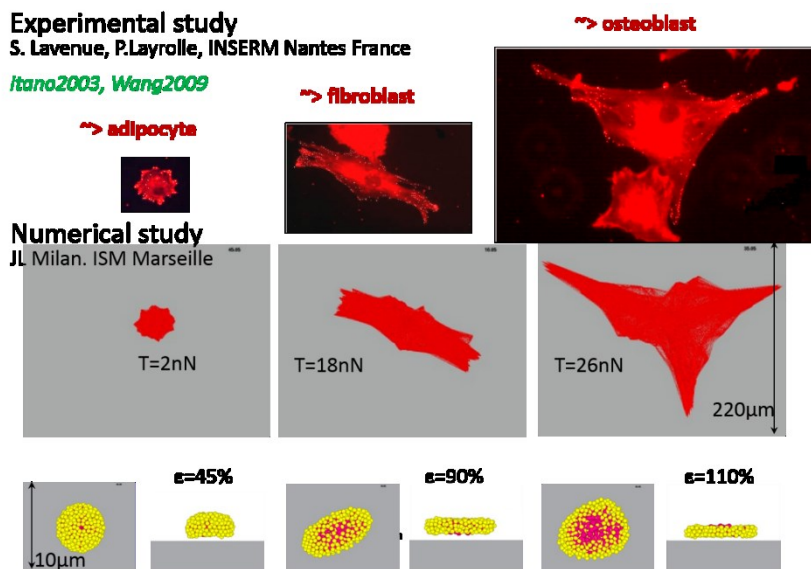


Figure 3 : Identification à l'aide du modèle cellulaire 3D du tonus cellulaire et de la déformation nucléaire au sein de cellules souches à la morphologie typique des phénotypes adipocyte, fibroblaste et ostéoblaste. [Milan2013]

Dans un deuxième temps, j'ai appliqué le modèle d'adhésion cellulaire pour caractériser le potentiel d'un traitement de surface à promouvoir l'adhésion cellulaire. Les traitements de surfaces par anodisation créent à la surface des implants en titane des nanopores agissant comme des pièges électrostatiques à protéines dès que l'implant est plongé dans un environnement biologique. Les protéines adsorbées à la surface de l'implant peuvent être des protéines possédant une séquence RGD, comme la protéine de fibronectine, et qui sont les seules protéines sur lesquelles les cellules peuvent s'accrocher. Les nanopores à la surface des implants titane traités par anodisation représentent ainsi pour la cellule des sites potentiels pour créer des adhésions focales.

J'ai mis au point un protocole *in silico* pour évaluer l'influence de la densité des sites d'adhésion à la surface de ces implants sur le niveau d'étalement de la cellule et sur son état mécanique en fin d'adhésion. Dans ce protocole, le modèle adhérait et s'étalait de manière libre à la surface de l'implant en se comportant comme une cellule réelle qui émet des prolongements cytoplasmiques de quelques micromètres de longueur, les filopodes, pour inspecter la surface du substrat à la périphérie cellulaire, identifier la présence de protéines d'adhésion et créer ensuite de nouveaux points focaux d'adhésion. Au cours de la simulation d'adhésion, le cytosquelette se réorganisait et se renforçait. Il était possible de suivre l'augmentation de la tension intracellulaire et de la déformation du noyau en cours d'adhésion et ce en fonction de la richesse de la surface en sites d'adhésion [Milan2013]. Ainsi, à ce stade, le modèle cellulaire était capable d'identifier la densité suffisante de nanopores et ainsi le traitement de surface optimisé pour induire un étalement et un tonus cellulaires contrôlés stimulant la différenciation ostéoblastique.

Ce modèle mécanobiologique cellulaire apparaissait déjà comme une aide dans le design de biomatériaux en identifiant ici des propriétés de surface spécifiques optimales pour contrôler l'adhésion et la différenciation des cellules.

Les résultats reposaient néanmoins sur un biais. En effet, le comportement mécanique des cellules calculé par le modèle, en particulier le niveau de tension intracellulaire était basé sur une estimation des forces de traction que la cellule exerçait sur le substrat. Dans les simulations, les forces de traction au niveau des plaques focales devaient se situer dans la plage 10-30nN. Il était en effet impossible de pouvoir mesurer ces forces de traction de la cellule sur des surfaces en titane. Cette limite sera dépassée dans la suite des études que j'ai menées.

2.3.2. Comment les cellules s'adaptent-elles à la rigidité du substrat ?

La rigidité du substrat influence le comportement des cellules adhérentes, à la fois mécaniquement et biologiquement. En particulier, les cellules souches mésenchymateuses tendent à se différencier en ostéoblastes sur des substrats très rigides ($E > 25\text{kPa}$), en fibroblastes ($E \sim 10\text{kPa}$), en chondrocytes ($E \sim 1-5\text{kPa}$) et en adipocytes sur des substrats très mous ($E < 0.5\text{kPa}$), et ce en impliquant des événements biochimiques de mécanotransduction [Fu2010 ; Léguant2010 ; Rape2011 ; Tee2011]. Si des études montrent que les cellules tirent plus sur un substrat rigide [Discher2005], aucune étude permettait de décrire l'influence de la rigidité du substrat sur l'état mécanique interne de la cellule, ni sur le niveau et la distribution spatiale de la tension intracellulaire, ni sur le stress subi par le noyau.

Afin d'apporter des éléments de réponse, j'ai conçu un protocole de simulations *in silico* pour évaluer le tonus cellulaire et la contrainte du noyau au sein de cellules cultivées *in vitro* sur des substrats de différentes rigidités. Pour obtenir le maximum de données d'entrée pour le modèle, les expérimentations *in vitro* devaient permettre, pour chaque cellule, de mesurer ou d'observer la morphologie cellulaire, le réseau de filaments d'actomyosine, la distribution spatiale des points focaux, et les forces de traction générées sur eux par les cellules.

Pour dépasser le biais évoqué dans le chapitre précédent j'ai initié une collaboration internationale avec Christopher Chen et Nathan Sniadecki, de l'Université de Washington à Seattle, qui ont développé des substrats 2D composés de microplots flexibles en PDMS. Ces microplots d'un diamètre de $1\mu\text{m}$ environ, peuvent avoir des longueurs allant de $0,5\mu\text{m}$ à $5\mu\text{m}$. Plus leur longueur augmente, plus ils sont flexibles. En connaissant la longueur de ces microplots et leurs propriétés matérielles, et en analysant le déplacement de la tête des microplots sur lesquels tire la cellule, il est possible de visualiser la position des adhésions focales et d'estimer assez précisément les forces de traction que la cellule exerce sur le substrat au niveau de ses points focaux (Figure 4).

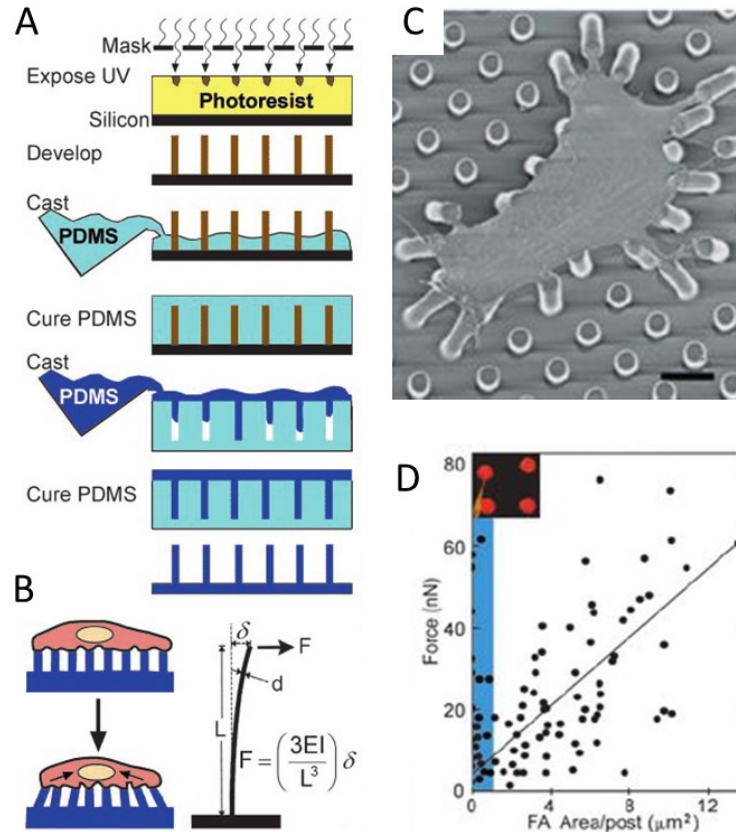


Figure 4 : (A) Fabrication des microplots. (B) Les cellules en adhérant aux microplots, exercent des forces de traction qui fléchissent les plots en fonction de leur diamètre et longueur. (C) des cellules musculaires lisses représentatives attachées aux plots où seul le haut des plots a été imprimé avec de la fibronectine ; la barre d'échelle = 10 μm . (D) Force générée sur chaque plot en fonction de la taille de l'adhésion focale sur le plot. La zone ombrée (bleue) indique les adhérences inférieures à $1 \mu\text{m}^2$. Encart : Image d'une petite adhérence typique (<math>< 1 \mu\text{m}^2</math>) formée par une cellule générant une force substantielle sur un plot (rouge). [Tan2003]

Le groupe de C. Chen et N. Sniadecki a cultivé des cellules HUVECs sur des substrats microplots de diverses rigidités. Les forces de traction cellulaires mesurées in vitro à partir de substrats microplots, représentent la signature de la cellule. Les cellules cultivées in vitro ont été traitées par immunomarquage et leur cytosquelette reconstruit numériquement dans le modèle CMD (Figure 5).

En régulant la contraction du cytosquelette dans le modèle, il a été possible de générer une tension intracellulaire produisant une traction sur le substrat équivalente à celle exercée par la cellule observée expérimentalement. Les calculs ont permis de déterminer l'influence de la tension intracellulaire sur le noyau (Figure 6).

Le modèle montre qu'une plus grande rigidité du substrat entraîne une augmentation de la tension intracellulaire. Comme le modèle reproduit exactement l'état de tension de la cellule, cela signifie que la cellule génère effectivement une tension plus importante sur un substrat rigide. Le noyau, connecté au cytosquelette, montre par conséquent un état de contrainte et de déformation plus importants sur un substrat rigide (Figure 7) [Milan2016].

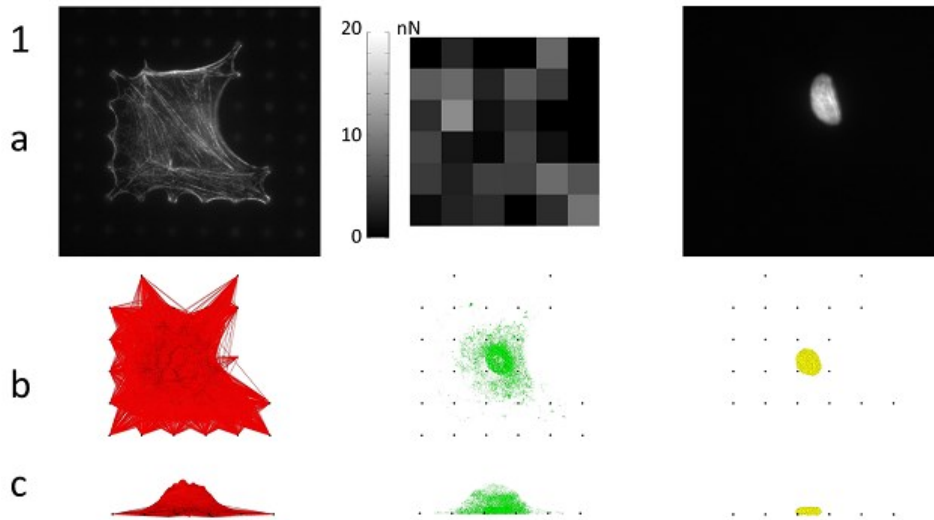


Figure 5. Cellule cultivée *in vitro* sur des microplots. Champs de forces au niveau des microplots sur lesquels adhère la cellule. Reconstruction de la structure du cytosquelette et calcul des forces intracellulaires de tension (en rouge) et de compression (en vert). Le modèle calcule la déformation du noyau (en jaune). [Milan2016]

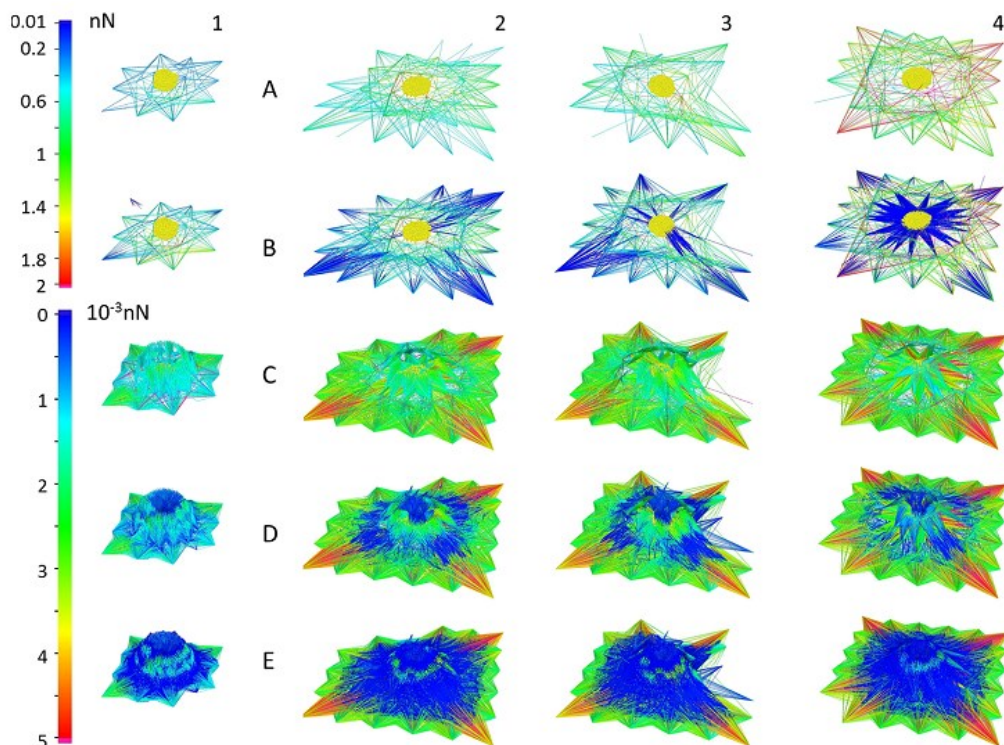


Figure 6 : Organisation des forces intracellulaires en fonction de la rigidité du substrat, du plus mou (à gauche) au plus rigide (à droite). Les différentes lignes présentent les fibres qui composent le cytosquelette en fonction de la valeur de tension qu'elles génèrent. Cette représentation laisse entrevoir l'organisation du cytosquelette en plusieurs sous-structures des plus contraintes (en haut) aux moins contraintes (bas). Les sous-structures générant de fortes contraintes de tension n'impliquent qu'un nombre relativement restreint de fibres. Ceci a pour conséquence que les fortes tensions ne transitent pas à travers la cellule de manière continue et homogène mais suivant des directions particulières. [Milan2016]

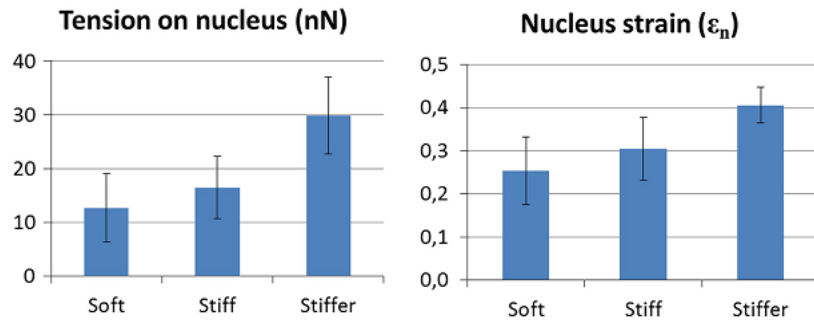


Figure 7 : Estimation numérique de l'état de tension du noyau et de sa déformation en fonction de la rigidité du substrat (raideur horizontale soft = 11 nN/μm, stiff = 31nN/μm et stiffer = 39nN/μm)

Les résultats montrent que si le tonus cellulaire augmente avec la rigidité du substrat, la déformation du noyau (ϵ) augmente de manière égale avec le tonus intracellulaire (Tonus) mais aussi avec le diamètre de la cellule (D) suivant :

$$\epsilon \propto \sqrt{\text{Tonus} * D}$$

Comme dans cette étude, le tonus et le diamètre des cellules adhérentes évoluent avec la rigidité du substrat (raideur horizontale des microplots, dénommée ici *Stiffness*) suivant :

$$\begin{cases} \text{Tonus} \propto \text{Stiffness}^2 \\ D \propto \sqrt{\text{Stiffness}} \end{cases}$$

Il est possible de relier le niveau de déformation du noyau avec la rigidité du substrat suivant :

$$\epsilon \propto \text{Stiffness}^{3/2}$$

Par rapport à l'état de l'art, cette équation fut la première à quantifier et à relier le niveau de déformation du noyau à la rigidité du substrat.

Les limites de ce modèle peuvent être analysées. Si la structuration du cytosquelette contractile que propose le modèle en fin de simulation est valide avec la signature de la cellule en termes de forces de traction sur le substrat, elle n'est pas forcément fidèle à l'architecture réelle du cytosquelette dans la cellule.

Ceci empêche de cartographier très précisément la distribution interne des forces intracellulaires qui transitent principalement par le cytosquelette et dont on sait qu'elles jouent un rôle primordial dans la mécanotransduction et le contrôle de l'activité des cellules adhérentes. Des études *in vitro* récentes basées sur la technique très intéressante du FRET (*Fluorescence Resonance Energy Transfer*) permettent de discriminer au sein de la cellule les zones de forte tension de celles peu sollicitées [Cost2015]. Cependant si la technique FRET permet une quantification relative des forces à l'échelle moléculaire de l'ordre du piconewton, il n'est pas possible de quantifier le nombre de molécules en tension et donc de mesurer les contraintes de traction à l'échelle de toute la cellule.

Dans le cadre de la thèse de Ian Manificier que j'ai co-encadrée avec le Pr. Imad About, nous avons amélioré le modèle précédent en y intégrant une reconstruction fidèle du cytosquelette de la cellule. Cette extension du modèle cellulaire est basée sur la reconstruction du cytosquelette de la cellule adhérente à partir des images du réseau d'actine et de la cartographie des adhésions focales obtenues par immunofluorescence. Dans notre approche, ces images du cytosquelette sont transformées numériquement en une structure mécanique réticulée et précontrainte (Figure 8). Pour ce faire, nous avons développé un algorithme qui convertit l'image 2D d'un réseau d'actine en une carte d'interactions contractiles à l'intérieur d'une grille de nœuds 2D, chaque nœud représentant un groupe de pixels. Nous avons supposé que les filaments d'actine observés en microscopie à fluorescence, apparaissent plus brillants lorsqu'ils sont plus épais, nous avons donc supposé que les nœuds correspondant aux pixels ayant une densité d'actine plus élevée étaient liés par des interactions plus rigides. Cela crée un système d'interactions hétérogènes représentant l'organisation spatiale du réseau d'actine contractile.

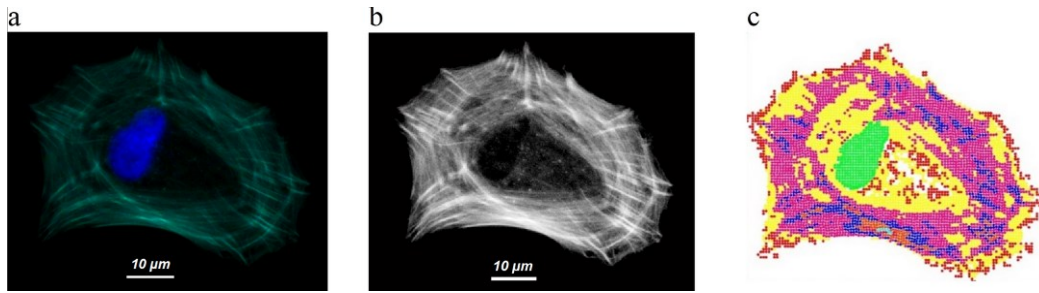


Figure 8 : Image du cytosquelette d'une cellule adhérente cultivée *in vitro* et son avatar numérique résultant de la reconstruction du cytosquelette comme une structure mécanique réticulée et précontrainte. a) superposition d'actine en vert et noyau (DAPI) en bleu b) Image du réseau d'actine après traitement de raffinement. c) Les pixels ont été transformés en nœuds étiquetés à l'aide d'un script MatlabTM personnalisé. Les nœuds interagissent mécaniquement entre eux en fonction de leurs étiquettes respectives. [Manifacier2016]

La contractilité de ce système d'interaction est ensuite adaptée par dynamique inverse pour correspondre aux niveaux de force réellement exercés par la cellule sur les adhésions focales. La Figure 9 présente l'algorithme de notre méthode. Il identifie la valeur du paramètre « a » qui relie la rigidité des interactions mécaniques du modèle représentant les filaments d'actine à la densité d'actine observée expérimentalement en termes de niveaux de gris. Les forces sur les adhésions focales ont été estimées, comme précédemment, à partir du niveau de déflexion des microplots sur lesquels adhère la cellule. A l'issue de la simulation nous obtenons une structure contractile qui possède la même architecture réticulée du cytosquelette et qui exerce sur le substrat le même niveau de traction. Ceci nous permet d'établir une cartographie valide des forces intracellulaires (Figure 10). Le modèle cellulaire étant un système en réseau d'interactions mécaniques 1D, le retour à l'image de la cellule, espace continu 2D, nous oblige à introduire le concept de *Tension linéaire croisée*, T_{cl} pour *Cross-linear Tension*, qui n'est autre qu'une densité linéique de force, un ratio entre l'amplitude de la force de tension qui transite à travers un segment fictif perpendiculaire et la longueur de ce segment. En définitive T_{cl} indique la tension équivalente qui transite à travers un segment perpendiculaire de $1 \mu\text{m}$.

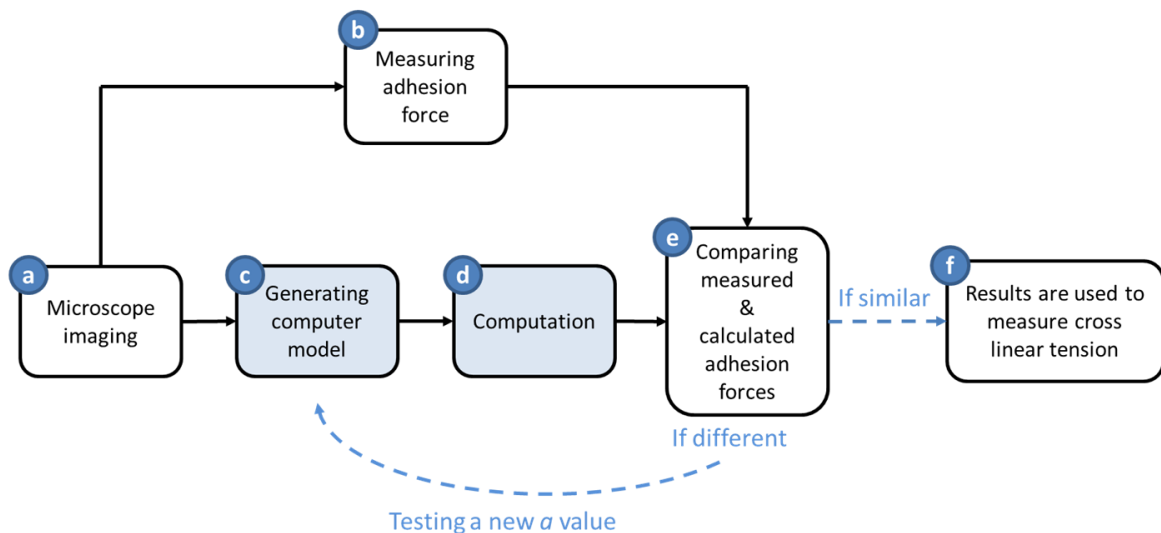


Figure 9. Diagramme de processus de la méthode. a) Imager au microscope le réseau d'actine et des microplots. b) Mesurer des forces d'adhérence par la déviation des microplots. c) Générer le modèle numérique en transformant les pixels de l'image en nœuds mécaniques et en connectant ces nœuds par des interactions mécaniques de traction dont la rigidité est proportionnelle à la quantité locale d'actine observée sur l'image avec a comme le coefficient de proportionnalité. d) Exécuter le modèle pour calculer les forces de tension intracellulaire et les forces d'adhésion. e) Comparer la somme totale des amplitudes de force de traction estimée par le modèle à celle mesurée expérimentalement. Si elles diffèrent, le modèle est réexécuté (figure 1 B) avec une valeur a adaptée. f) Les valeurs de tension linéaire croisée servent ensuite à cartographier la tension intracellulaire.

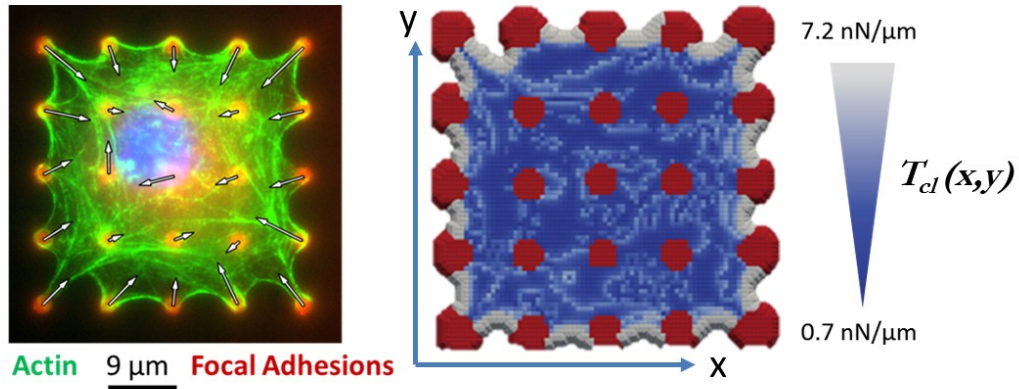


Figure 10 : À gauche) Cellule adhérente imagée par fluorescence : actine en vert, noyau en bleu, adhérences focales (vinculine et sommet des microplots) en rouge, forces d'adhésion représentées par des vecteurs blancs. À droite) Vue du modèle : les adhérences sont marquées en rouge, l'actine en tension forte en gris clair et l'actine en tension faible en bleu. Les valeurs de tension linéaire croisée $T_{cl}(x, y)$ cartographie la tension intracellulaire.

Nous interprétons ensuite mécaniquement l'image originelle du réseau de filaments d'actine à partir de la cartographie de forces intracellulaires calculées par le modèle. Une fois que l'état mécanique de la cellule est connu, il est possible d'identifier les régions de fortes et basses tensions (Figure 11).

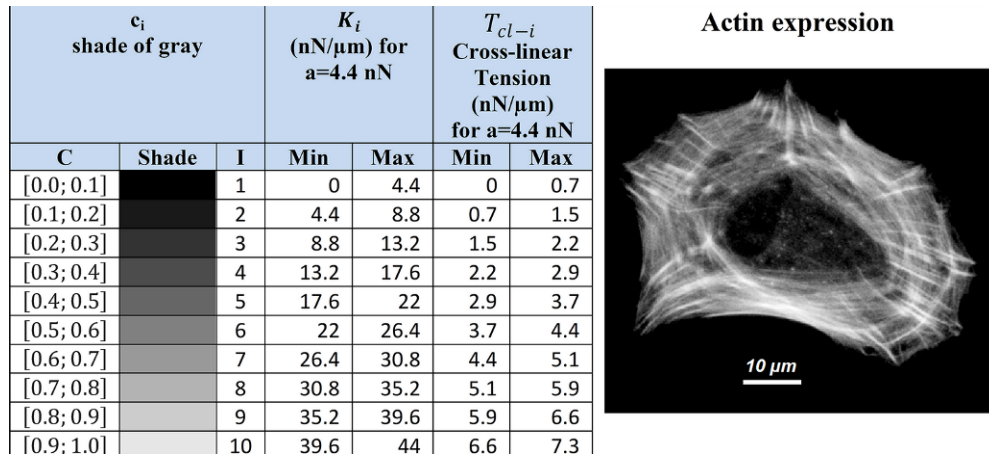


Figure 11 : Resultat de la simulation de dynamique inverse et correspondances entre niveaux de gris locaux (c) du cytosquelette, la rigidité des fibres du cytosquelette (K) et leur et le niveau de force de tension (T_{cl}). [Manificier2016]

Pour quantifier les forces intracellulaires locales nous avons développé une méthode graphique permettant de sélectionner une portion de la cellule (Figure 12).

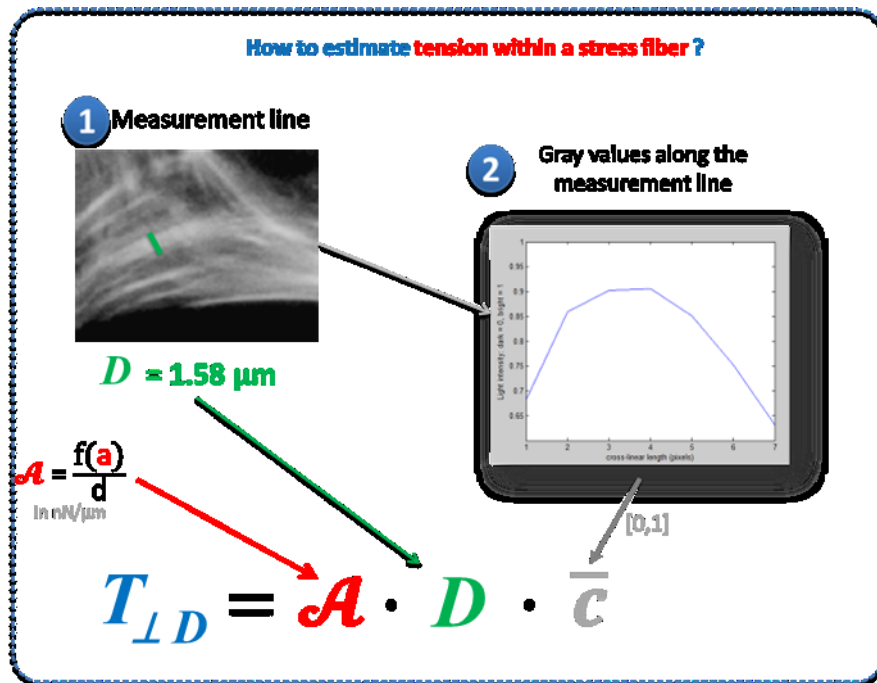


Figure 12 : Méthode d'estimation de la tension intracellulaire T_{LD} transitant par une fibre de stress du cytosquelette à partir du diamètre de la fibre D , de son niveau de gris moyen \bar{c} , et du facteur $A = f(a)/d$; a étant déterminé par dynamique inverse et d étant la distance entre les nœuds du maillage.

Grâce à cette méthode, il est possible d'estimer toute la tension mécanique que génère la cellule dans une direction donnée (Figure 13). Il est aussi possible d'estimer la tension générée à travers n'importe quelle fibre de stress prise de manière isolée, ou à travers un faisceau de fibres ou encore à travers une région plus large de la cellule (Figure 14).

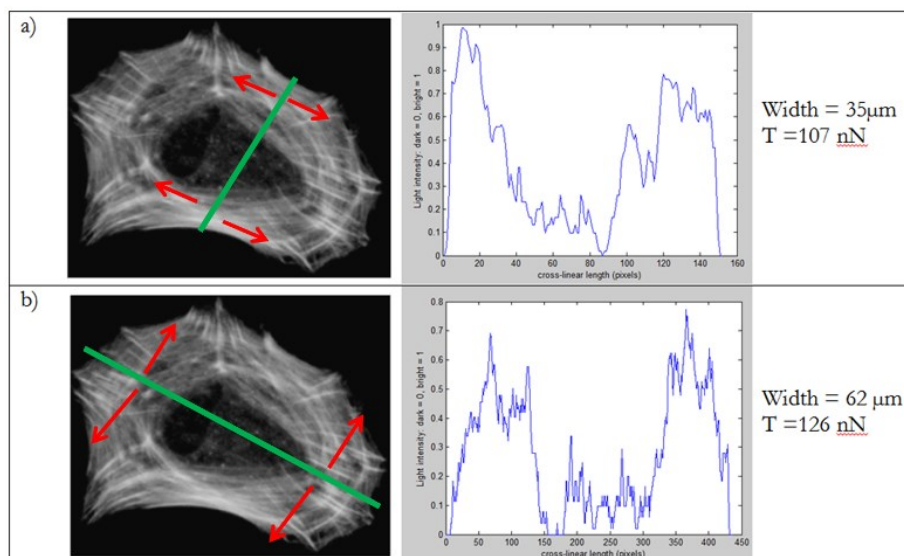


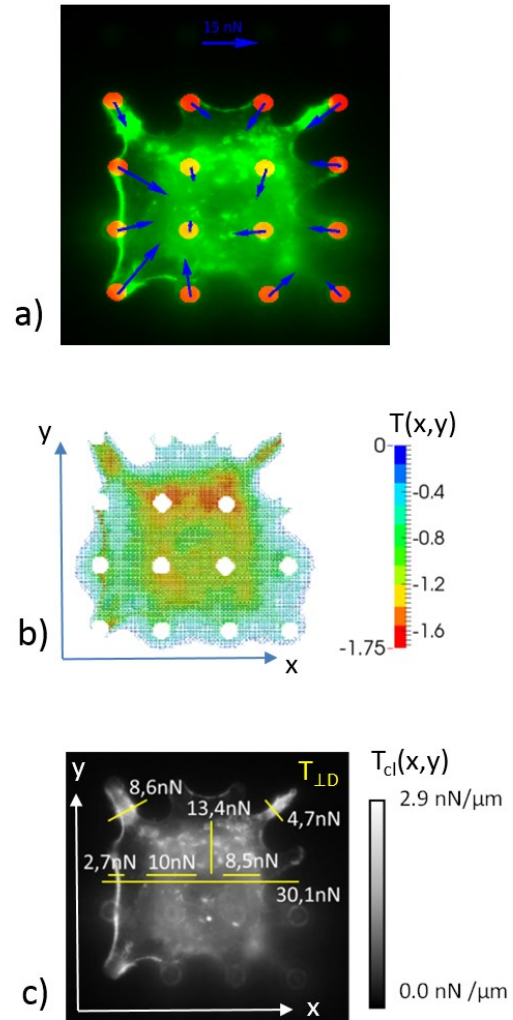
Figure 13 : Tension mécanique au sein de fibres du cytosquelette et à travers toute la cellule. [Manificier2016]

Figure 14 : Forces intracellulaires calculées à l'aide du modèle.

a) Image de l'actine au sein d'une cellule cultivée in vitro sur un substrat très dur ($\sim 2,5 \mu\text{m}$ de diamètre $\sim 7 \mu\text{m}$ de hauteur, rigidité en flexion $41 \text{ nN} / \mu\text{m}$). Les vecteurs bleus représentent les forces de traction au niveau des adhésions.

b) Forces d'interaction de traction $T(x, y)$ dans le modèle. Ces valeurs de force du modèle équivalent, lorsque nous passons à l'espace 2D de l'image de la cellule, à des $T_{cl\text{-moyen}} = 1,24 \text{ nN} / \mu\text{m}$ et $T_{cl\text{-max}} = 2,92 \text{ nN} / \mu\text{m}$.

c) Tension intracellulaire $T_{\perp D}$ estimée dans différentes parties d'une cellule observée à l'aide du logiciel ImageJ pour mesurer les valeurs de gris. [Manificier2016]



Toutes ces quantifications de forces mécaniques intracellulaires sont cruciales pour la compréhension des mécanismes de mécanotransduction cellulaire. Par exemple cette approche nous a permis d'étudier la contribution mécanique d'autres composants du cytosquelette, tels que les microtubules. Nos résultats indiquent que le ratio entre la compression intracellulaire, supportée par les microtubules et la compression extra cellulaire, supportée par le substrat est inversement proportionnel au niveau de tension intracellulaire. **Ce qui montre que les microtubules jouent un rôle mécanique moindre au sein de cellules hyper-tendues [Manificier2016].**

Comment la rigidité en flexion des microplots affecte-t-elle la tension dans les cellules ?

Pour obtenir un index global et exprimer la tension globale générée par la cellule nous avons introduit la grandeur $T_{intracell}$ qui a la dimension d'une force en Newton et se calcule comme :

$$T_{intracell} = T_{cl\text{-max}} \cdot \bar{c} \cdot \sqrt{A}$$

Où A est l'aire de la cellule adhérente imagée en 2D et \bar{c} son niveau de gris global moyen.

Les cellules ont été classées en 4 groupes selon la rigidité du substrat sur lequel elles adhéraient. La tension intracellulaire augmente avec la rigidité du substrat (Fig. 15). La force de traction moyenne de chaque groupe montre une corrélation positive avec la rigidité du substrat ($R^2 = 0,90$) (Figure 15a). Les valeurs de T_{cl} , moyennes ($T_{cl\text{-mean}}$) et maximales ($T_{cl\text{-max}}$) et $T_{intracell}$ dans chaque groupe suivent la même tendance. Alors que $T_{intracell}$ est une évaluation de la tension à travers la cellule entière, $T_{cl\text{-mean}}$ et $T_{cl\text{-max}}$ sont des évaluations de la distribution locale de la tension. En comparant les valeurs moyennes

de $T_{cl-mean}$, T_{cl-max} de chaque groupe, nous constatons que la valeur de T_{cl-max} est environ deux fois plus élevée que $T_{cl-mean}$ (Fig 15). L'écart entre $T_{cl-mean}$ et T_{cl-max} peut indiquer une forte hétérogénéité dans la distribution de la tension intracellulaire. Notre analyse n'indique pas si les cellules très étalées tirent plus ou moins sur les microplots, car les forces de traction ne sont pas corrélées avec la surface d'étalement cellulaire ($R^2 = 0,16$). Les calculs de la tension intracellulaire, et des tensions linéaires croisées moyennes ou maximales montrent également qu'il n'y a pas de corrélation avec l'aire cellulaire. Nous constatons que l'aire cellulaire ne semble pas influencer la contractilité cellulaire [Manificier2019].

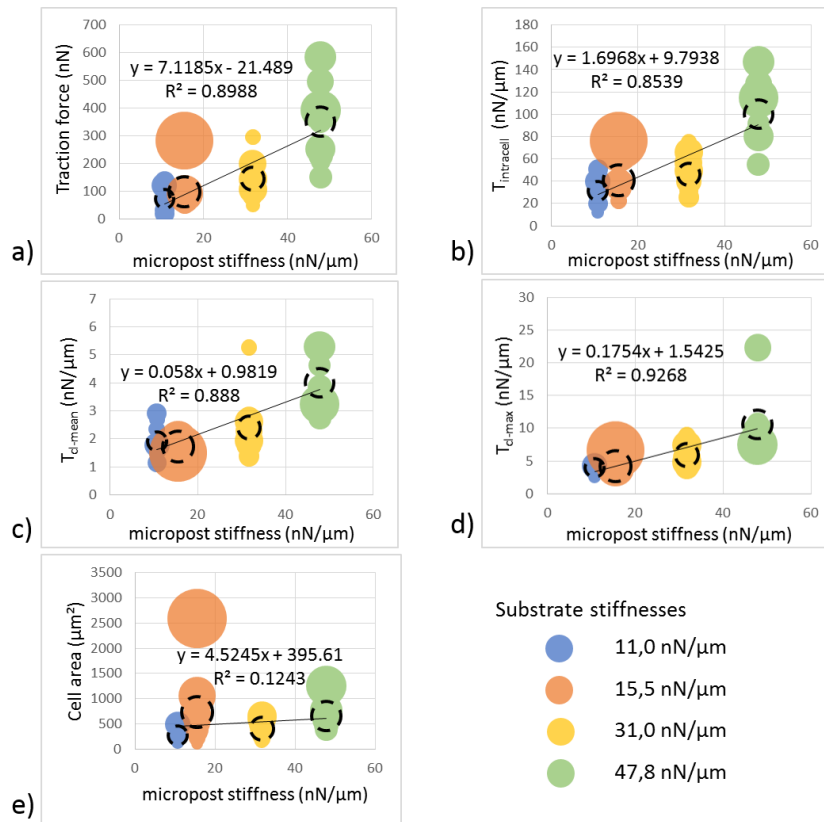


Figure 15 : a) Force d'adhérence totale (nN) par rapport à la rigidité du substrat (nN/μm). b) T_{cl-max} , c) $T_{cl-mean}$ et d) $T_{intracell}$ vs rigidité du substrat. e) Surface cellulaire vs rigidité du substrat. [Manificier2019]

Cette étude a mis en évidence que la cellule augmente globalement et localement sa tension intracellulaire sur des substrats rigides. Or, si l'on considère la cellule comme une structure de tensegrité précontrainte, cette augmentation de tension intracellulaire résulte en une augmentation de la rigidité cellulaire. **En définitive, par cette augmentation de tension intracellulaire, la cellule régule sa propre rigidité pour se conformer ou tendre vers la rigidité du substrat ou de son environnement. Dans mes travaux de thèse j'avais déjà suggéré cette tendance à l'aide de la première version du modèle cellulaire. Ici nous apportons une preuve in silico supplémentaire qui s'appuie sur des mesures expérimentales précises de forces de traction focales.**

Un environnement plus rigide est aussi un environnement moins déformable. En augmentant sa rigidité, la cellule pourrait ainsi réguler son seuil de mécanosensibilité en prévision de stimuli mécaniques externes de plus faible déformation mais de plus haute fréquence. Ce mécanisme de régulation cellulaire pourrait aussi s'entendre inversement dans un environnement plus mou.

2.3.3. Comment les cellules franchissent-elles les obstacles topographiques ?

Les cellules cancéreuses sont souvent utilisées *in vitro* comme des modèles de cellules à l'activité et à la viabilité accrues, qui si elles sont capables de comportements remarquables et singuliers, parviennent à nous renseigner malgré tout sur des mécanismes profonds des cellules saines.

Les cellules cancéreuses sont un modèle *in vitro* des plus pertinents lorsqu'il s'agit d'étudier les processus d'adhésion et de déformation en fonction de la topographie de l'environnement. En effet, les cellules cancéreuses sont connues pour avoir un fort potentiel de migration et d'invasion en franchissant des passages très étroits à travers les parois tissulaires. Cette capacité à pénétrer les tissus tient à première vue à leur déformabilité accrue (Figure 16).

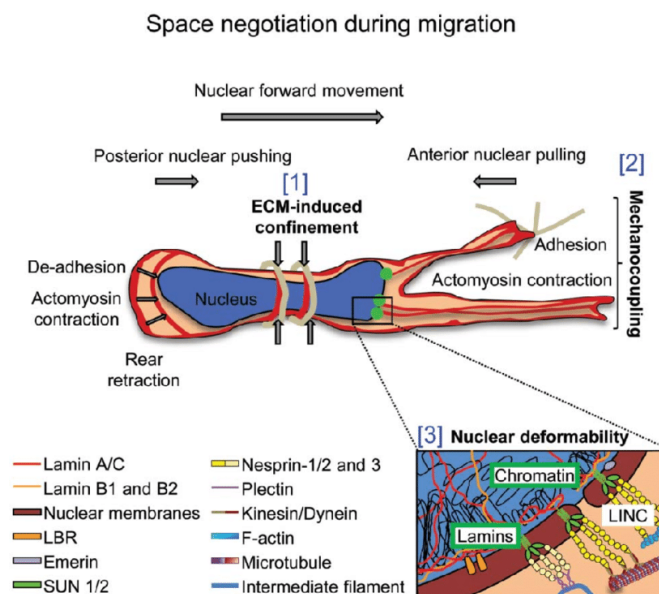


Figure 16 : Déformabilité nucléaire accrue pour la migration des cellules cancéreuses à travers les espaces de la matrice extracellulaire [Vortmeyer2015]

En particulier, les cellules cancéreuses sont capables de déformer leur noyau, leur organe le plus grand et le plus rigide, pour passer des constriction étroites. Les mécanismes sous-jacents de la déformabilité des cellules cancéreuses restent encore inconnus. Si leur noyau est plus souple, nous ne savons pas s'il est poussé ou tiré (ou les deux) lors du passage des cellules cancéreuses à travers un confinement. De plus la déformabilité des cellules cancéreuses peut aussi impliquer une motricité plus importante du fait d'un cytosquelette exerçant de plus grandes forces de traction.

Identifier les mécanismes de cette déformabilité peut contribuer à la mise au point de traitements thérapeutiques inhibant ces mécanismes et limitant l'invasion des cellules cancéreuses. L'utilisation du modèle cellulaire que j'ai développé est ici tout indiquée pour comprendre la mécanique de déformabilité du noyau des cellules cancéreuses.

Cette étude a été menée en collaborant avec l'équipe de biologistes de Karine Anselme, de l'IS2M, à Mulhouse. Pour le protocole *in vitro*, les biologistes ont utilisé une topographie en micro-piliers cubiques en acide poly-L-lactique facilement ajustable, imitant les constriction *in vivo* (Figure 17).

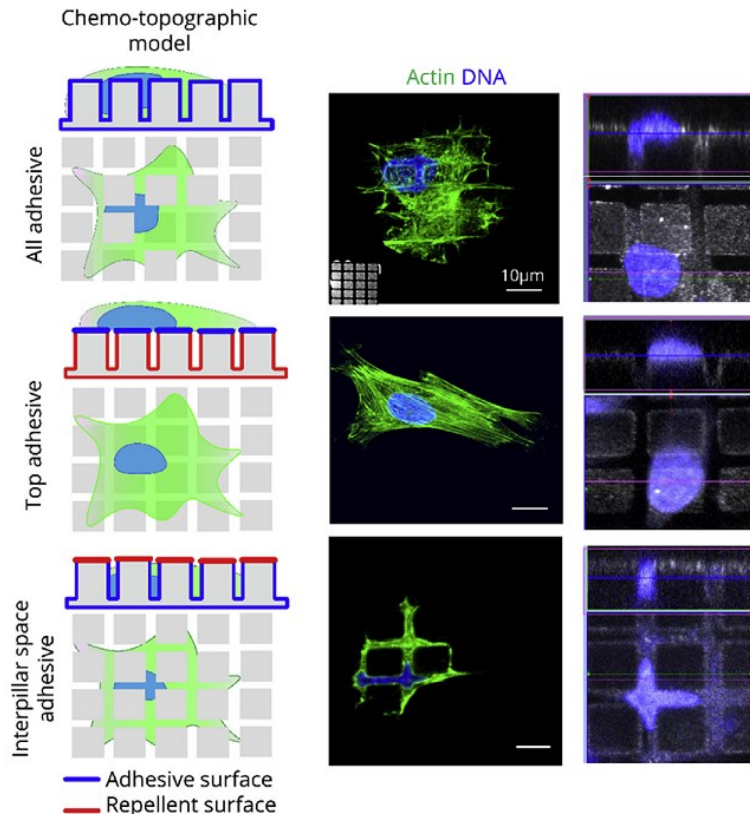
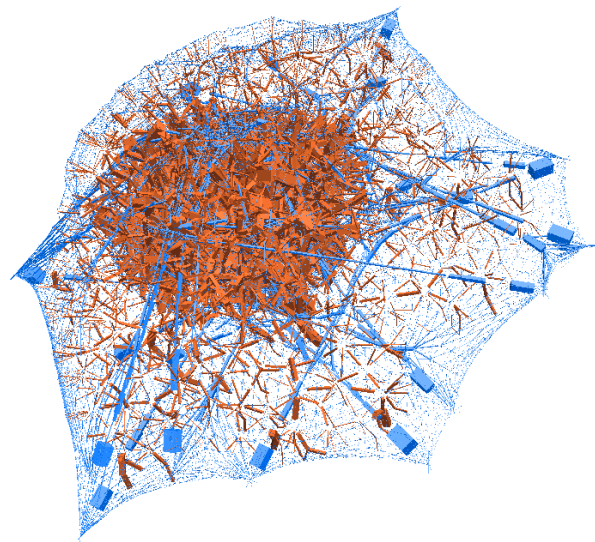


Figure 17 : Effet combiné de la chimie et de la topographie d'un substrat en micro-piliers de $3/10\mu\text{m}$ (espace/hauteur) sur la déformation nucléaire. À gauche : schémas des modifications de chimie de surface des micro-piliers (bleu : revêtement PnBA adhésif pour les cellules, rouge : revêtement PDMA répulsif). Au milieu : cellules fixées colorées pour l'actine (vert) et l'ADN (bleu). À droite : images des noyaux en vues de dessus et latérale (bleu) [Wakhloo2020]

Pour développer le protocole in silico, j'ai recruté Maxime Vassaux en tant que chercheur post-doctorant. Nous avons ensemble développé une nouvelle version du modèle mécanobiologique de la cellule. Cette nouvelle version du modèle (Figure 18) considère toujours une description géométrique et mécanique des composants intracellulaires : membrane cellulaire, adhésions focales, réseaux de filaments du cytosquelette, fibres de stress, microtubules, membrane nucléaire et le nucléosquelette. La véritable nouveauté de cette version est l'automatisation de la génération randomisée du cytosquelette évitant un arrangement spatial trivial. Cette version du modèle, la plus complète, a été également utilisée dans le chapitre suivant qui traite de la curvotaxie cellulaire.

Figure 18 : Réseau de force intracellulaire dans le modèle cellulaire in silico. Les segments bleu et rouge représentent respectivement les forces de traction et de compression. La largeur du segment est proportionnelle à l'amplitude de la force.



En modifiant chimiquement l'adhésivité des micro-piliers (Figure 17), les biologistes ont observé différents profils de déformabilité du noyau. Ainsi le noyau pénétrait plus profondément l'espace interstitiel lorsque seules les parois latérales et du fond étaient adhérentes comparativement aux autres conditions d'adhésion (toute paroi adhérente ou seulement les parois du dessus). **Cela semble indiquer que les forces de traction profondes du cytosquelette sont prépondérantes face aux forces de compression exercées par le cortex d'actine dans la déformation du noyau. Les résultats du modèle cellulaire in silico confirment ces résultats (Figure 18).** De plus, les biologistes ont observé in vitro que la contractilité de l'actomyosine, la vimentine et les connexions nucléo-cytosquelettiques jouent un rôle essentiel dans la déformation nucléaire. **Les résultats in silico montrent également qu'une connexion entre cytosquelette et nucléosquelette est nécessaire à la déformation du noyau.** Le modèle a ainsi permis de soulever une hypothèse mécanique qui explique un comportement cellulaire observé in vitro. **Ceci permet d'affirmer que le mécanisme de déformation du noyau est basé sur les forces de traction intracellulaires du cytosquelette [Wakhloo2020].** Ce mécanisme est présenté Figure 19. Une plus large analyse montre que la déformabilité des cellules cancéreuses provient d'un noyau plus souple, d'un couplage LINC-cytosquelette, et d'une dynamique d'adhésion plus importante. Ces résultats indiquent que les méthodes employées in vitro et in silico sont des outils extrêmement polyvalents et complémentaires pour comprendre comment les forces s'exercent dans les systèmes biologiques.

Ces résultats indiquent aussi que de futurs traitements médicamenteux pourraient cibler et détruire les connexions cytosquelette-nucléosquelette pour réduire le potentiel d'invasion des cellules cancéreuses.

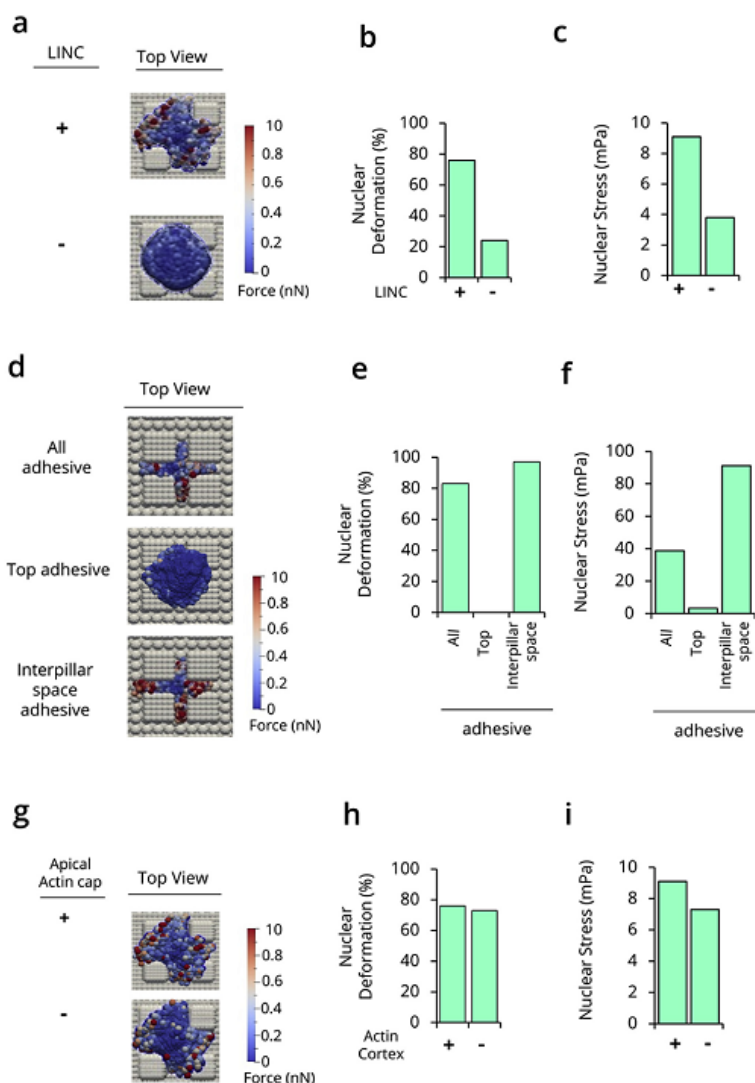


Figure 18 : Gauche) Déformation du noyau du modèle en fin de simulation d'adhésion entre les micro-piliers. Au milieu) niveaux de déformation relevés expérimentalement. A droite) niveaux de contrainte du noyau. Avec ou sans LINC (a, b, c) en fonction des conditions d'adhésion à la surface des micro-piliers (d, e, f) et avec ou sans le réseau d'actine périnucléaire apical (g, h, i). [Wakhloo2020]

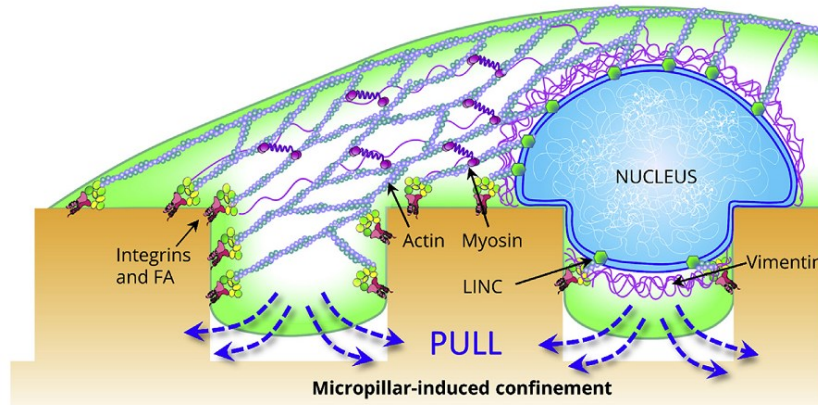


Figure 19 : Mécanisme proposé pour expliquer la déformation du noyau de cellules cancéreuses à travers des interstices de l'environnement. La force de traction de l'actomyosine, couplée aux adhérences focales et aux complexes LINC, entraîne la déformation du noyau pour pénétrer l'interstice entre les micro-piliers. Dans ce système, la vimentine contribue également à la déformation nucléaire. [Wakhloo2020]

2.3.4. Comment la convexité du substrat influence-t-il l'état mécanique des cellules ?

Les cellules sont sensibles aux propriétés mécaniques et à la topographie du substrat sur lequel elles adhèrent, comme nous l'avons vu précédemment. Les cellules sont également sensibles à un autre aspect de la topographie du substrat que nous n'avons pas encore évoqué et qui est sa convexité ou sa concavité. Des expériences récentes suggèrent ce phénomène, les cellules préférant les zones concaves et évitant les zones convexes. Cependant, aucun mécanisme n'a été établi pour l'expliquer. Ce travail a été possible grâce à la sélection par l'ANR de notre projet collaboratif Sinus Surf que je décrirai plus en détail dans le chapitre 4.3.1. En utilisant la nouvelle version du modèle cellulaire in silico (Figure 20) nous avons étudié l'état mécanique des cellules adhérentes sur des hémisphères concaves et convexes. Le modèle intègre explicitement de l'actine, des microtubules, des réseaux de filaments intermédiaires, des fibres de stress contractiles, un cortex d'actomyosine contractile mêlé à la membrane cytoplasmique, un cytosol visqueux et un noyau viscoplastique (Fig. 21.a). Chaque structure cellulaire interne est modélisée comme un assemblage de particules interagissant par contact ou par ressorts. La paramétrie du modèle a été largement vérifiée et validée par des tests d'indentation sur des cellules souches mésenchymateuses [Vassaux2017].

Les simulations d'adhésion cellulaire sur les hémisphères concaves ou convexes suivent une procédure standardisée. Dans leur configuration initiale, les cellules simulées présentent une forme sphérique (Figure 21.b). Le modèle adhère à la surface du substrat tout en s'étalant jusqu'à couvrir une surface donnée d'environ $1000\mu\text{m}^2$ et établir un nombre défini de 30 adhésions focales réparties à la périphérie suivant toujours la même distribution quel que soit le site de l'adhésion cellulaire, qu'il soit concave ou convexe (Figure 21.c). Les fibres de stress apparaissent alors entre les adhésions focales et leur contraction met en tension le modèle cellulaire.

Le modèle cellulaire nous a permis d'analyser l'évolution du comportement mécanique de la cellule adhérent à un substrat rigide dont nous faisons varier le rayon de courbure. Le modèle cellulaire permet de désactiver un ou plusieurs composants du cytosquelette. Ceci nous a permis de différencier et quantifier la contribution de chacun de ces composants sur la réponse globale de la cellule. Nous avons observé l'influence de la convexité du substrat sur la forme de la cellule, le niveau de tension intracellulaire et le niveau de déformation du noyau. Plus le substrat est convexe, plus les fibres de stress et la membrane cellulaire sont tendues, plus le cytosol et les microtubules sont comprimés, ce qui conduit à une cellule plus rigide. En outre, plus le substrat est concave, plus le noyau est arrondi (Figure 22). **Cette étude a apporté des éléments nouveaux dans la compréhension du lien existant entre le noyau et le substrat, qui permet à la cellule de ressentir son environnement à une plus grande échelle que la perception locale apportée par ses points focaux d'adhésion [Vassaux2017].**

adhSC

DOI [10.5281/zenodo.1187087](https://doi.org/10.5281/zenodo.1187087)

A mechanical model of a single adherent Mesenchymal Stem Cell based on the tensegrity theory. The cell, its constituents (nucleus, cytoskeleton, cytosol, and membrane) are described as particles interacting by means of contact, cable or spring. Adhesion is performed in two steps (phases):

1. the cell is generated in an elliptical configuration and spread onto the substrate
2. the cell is left in place for a sufficiently long to stabilise

Calibration and checking against experiments has been featured in the following publication:

Maxime Vassaux and Jean-Louis Milan. *Stem cell mechanical behaviour modelling: substrate's curvature influence during adhesion*. Biomechanics and modeling in mechanobiology, 16 (2017): 1295-1308.

In case of using the model, please cite the above publication.

The model is built and simulated using the **LMGC90** software written in Python. Additional scripts are provided to manage the workflow.

Execution of the model

Beforehand, LMG90 must be installed on the machine following these [instructions](#).

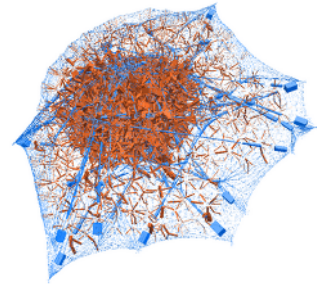


Figure 20 : Modèle cellulaire en open access via la plateforme de gestion de versions GitHub suivant les liens <https://doi.org/10.5281/zenodo.1187087> et <https://github.com/mvassaux/adhSC> [Adhsc18].

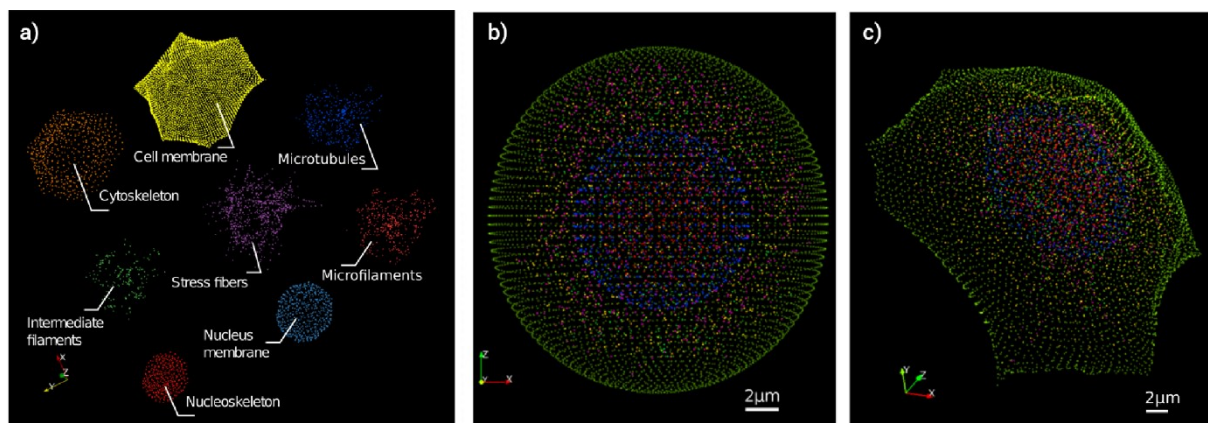
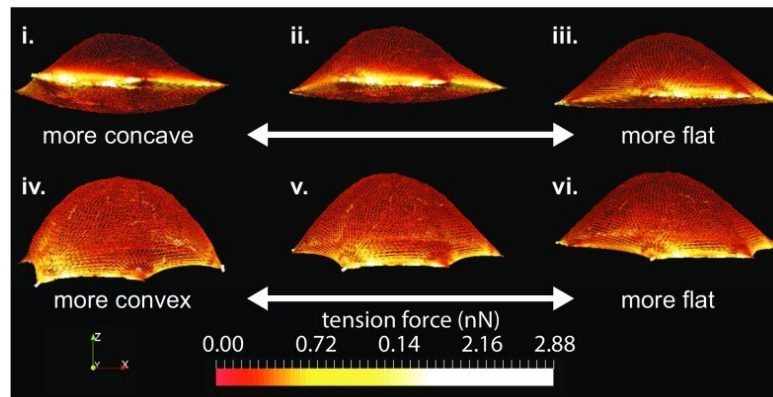


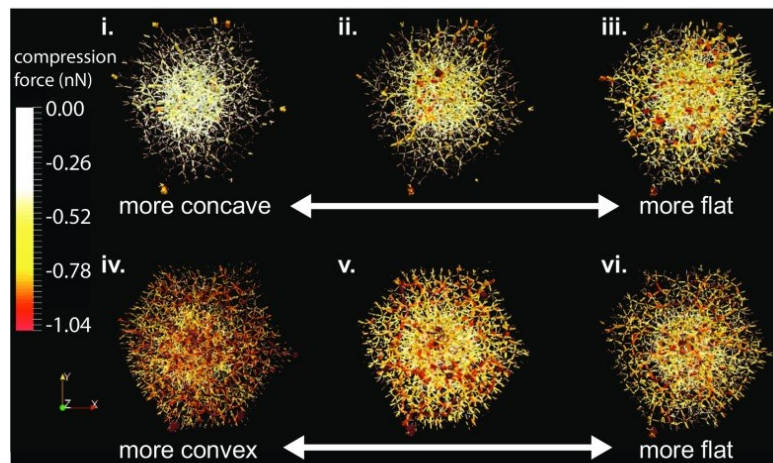
Figure 21 : Structure détaillée de notre modèle de cellule *in silico*-mécanique. Les particules interagissent de trois manières : contact répulsif, câble ou ressort. (a) Le modèle englobe un large éventail de structures intracellulaires, pour plus de détails sur le type d'interaction utilisé pour chaque structure et pourquoi voir [Vassaux17]. (b) Initialement, avant l'adhésion, la cellule est générée sous une forme sphérique, avec tous ses constituants détendus. (c) Après l'adhésion, ici sur un substrat convexe (n'apparaissant pas), la cellule retrouve sa configuration étirée, avec les filaments et les fibres de contrainte créant une tension, et les microtubules et le noyau supportant des charges de compression, assurant la stabilité structurelle de la cellule. [Vassaux2017].

De plus, ces niveaux de déformation mécaniques du noyau en fonction de la convexité du substrat doivent être interprétés du point de vue de la réorganisation des territoires chromosomiques qui peuvent favoriser l'expression de certains gènes en les mettant à proximité des sites de réplifications [Martin2012, Cho2017]. En ce sens les résultats obtenus à l'aide du modèle pourraient être d'une importance significative en ce qui concerne la division et la différenciation des cellules souches

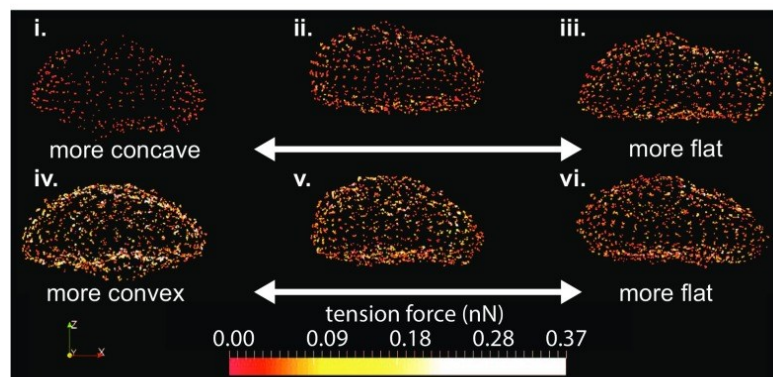
mésenchymateuses. En effet, les cellules souches sont extrêmement sensibles à tout stimulus et en particulier aux tous premiers stimuli mécaniques qui apparaissent au cours de l'adhésion. **Choisir des substrats à cavités concaves peut permettre de conserver les cellules souches en minimisant les facteurs de différenciation.**



(a)



(b)



(c)

Figure 22 : Influence de la courbure du substrat sur le réseau de forces (en nN) dans le modèle cellulaire. Les topographies concaves sont situées au sommet, avec un rayon de courbure absolu croissant de gauche à droite : (i) 75 μm , (ii) 200 μm et (iii) 500 μm . Les topographies convexes sont situées en bas, avec un rayon de courbure absolu croissant de gauche à droite : (iv) 75 μm , (v) 200 μm et (vi) 500 μm . Les taches colorées représentent une interaction entre deux particules de la structure décrite : a) la membrane cellulaire, b) le cytosquelette et c) la membrane nucléaire. La force de tension va des valeurs négatives en rouge associées aux contraintes de compression aux valeurs positives en jaune associées aux contraintes de tension. [Vassaux2017]

2.3.5. Comment la topographie est-elle un signal pour la migration cellulaire ?

La migration cellulaire est un exemple de la capacité des cellules à interagir de manière dynamique avec leur environnement. Optimisée au fil de l'évolution [Bleuven2016 ; Brooks2011 ; Titus2017 ; Fritz-Laylin2017] la migration cellulaire est un processus complexe qui suppose à la fois la mise en œuvre de la motricité de la cellule et sa capacité à explorer et ressentir son environnement.

Comprendre les différentes stratégies migratoires que peuvent mettre en place les cellules notamment en fonction de la topographie de surface du substrat peut être utile pour guider le déplacement des cellules ou au contraire bloquer l'invasion de cellules malignes, en jouant simplement sur cette topographie. L'idée a été ici de continuer les travaux sur l'influence de la convexité du substrat en considérant désormais le gradient de courbure du substrat comme stimulus au processus dynamique de migration.

En collaborant dans le cadre du projet ANR Sinus Surf avec le groupe de biologistes de Karine Anselme de l'IS2M à Mulhouse nous avons démontré ici une nouvelle capacité des cellules à migrer en fonction de la topographie. Nous avons observé *in vitro* que les variations de courbure du substrat sont capables d'initier la migration cellulaire et constituent des repères spatiaux et des guides physiques pour les cellules en cours de migration. Nous avons nommé « curvotaxie », ce nouveau mécanisme de guidage cellulaire en se basant sur le terme « taxie » qui définit en biologie le mouvement dirigé d'un organisme en réponse à un stimulus. La curvotaxie permet aux cellules de répondre aux gradients de courbure à l'échelle cellulaire, qui sont une caractéristique omniprésente des biotopes cellulaires.

Pour pouvoir observer ce phénomène, nous avons développé des surfaces sinusoïdales ultra-lisses présentant des modulations de courbure dans toutes les directions et étudié le comportement des cellules déposées dans ces paysages aux topographies variées (Figure 23). Nous avons observé que les cellules migrent en contournant les régions convexes et en empruntant les vallées du substrat qui représentent des régions concaves (Figure 24). En fin de migration les cellules ont tendance à se stabiliser dans les régions concaves.

La sensibilité cellulaire à la topographie est par exemple très marquée chez les cellules souches mésenchymateuses, les fibroblastes et les cellules épithéliales alors qu'elle est quasiment absente chez les macrophages (Figure 25.a). Les biologistes ont également observé que la topographie guide la formation tissulaire. Pour observer ce phénomène, ils ont analysé la synthèse d'épithélium. Si les cellules épithéliales parviennent à synthétiser un épithélium qui finit par recouvrir complètement le substrat sinusoïdal indépendamment de la topographie, le front de formation de l'épithélium suit les vallées du substrat en évitant les zones convexes (Figure 25. c & d).

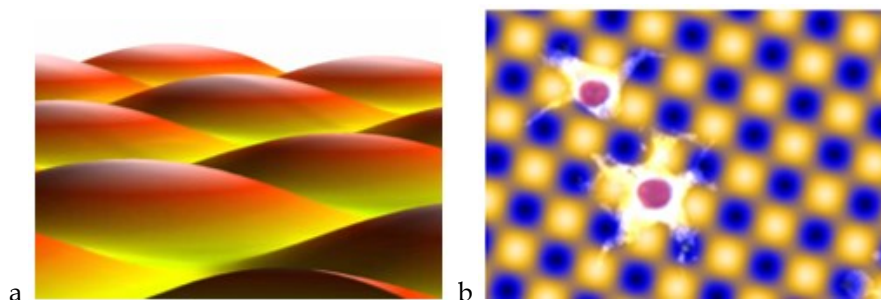


Figure 23 : a) Substrat sinusoïdaux fabriqués en PDMS à partir de moule en titane anodisés par l'entreprise suisse MICROPAT, Pierre-François Chauvoy ; Topographie mesurée par Maxence Bigerelle, LAMIH. b) observations *in vitro* de cellules cultivées sur ce substrat à topographie sinusoïdale.

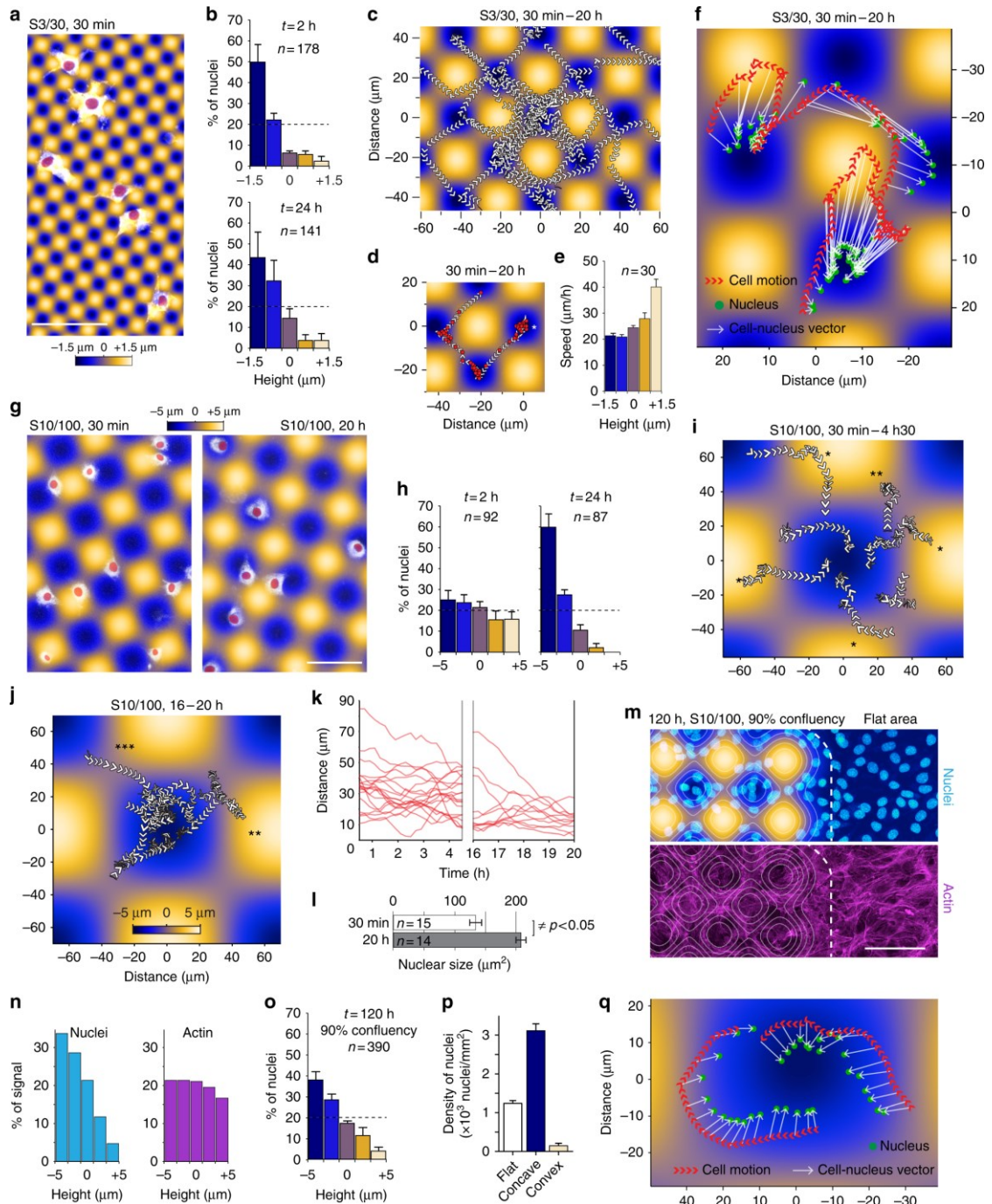


Figure 24 : La curvotaxie permet aux cellules adhérentes d'éviter les collines convexes lors de leur migration. a, b, g, h Cellules marquées avec un tracker cellulaire adhérent sur les surfaces S3 / 30 (amplitude (μm) / période (μm)) (a) ou S10 / 100 (g) et la distribution de leurs noyaux selon la topographie de la surface aux points temporels indiqués (b et h). Les noyaux sont surlignés en rouge. c Suivi des noyaux sur une surface S3 / 30. Les pointes de flèches indiquent la direction du mouvement. d Suivi d'un seul noyau sur la même période. Les positions sont surlignées en rouge. e Vitesse moyenne des noyaux en fonction de la hauteur de surface. f, q Suivi des noyaux barycentres des cellules se déplaçant sur des substrats sinusoïdaux. i, j Suivi des cellules aux stades précoces (30 min - 4 h 30 min) ou tardifs (16-20 h) de l'interaction avec la surface (* événement d'esquive, ** événement d'arrêt, *** migration à travers les cols). k Distance entre les noyaux et les minima de surface au fil du temps, aux stades précoce ou tardif de l'interaction. l Taille du noyau pour des cellules adhérentes sur S10 / 100 aux moments indiqués. m - p Cellules colorées pour l'ADN et l'actine sur une surface S10 / 100 (m) et la distribution en hauteur des intensités de signal correspondantes (n), des positions des noyaux (o) et de la densité des noyaux sur les courbures plates, concaves ou convexes (p). Les barres d'erreur en b, h et o représentent l'erreur standard de la moyenne de trois expériences indépendantes. Les barres d'erreur en e et i représentent l'écart type de la moyenne. Le nombre total de cellules est indiqué pour chaque condition. Barres d'échelle : 100 μm . [Pieuchot2018]

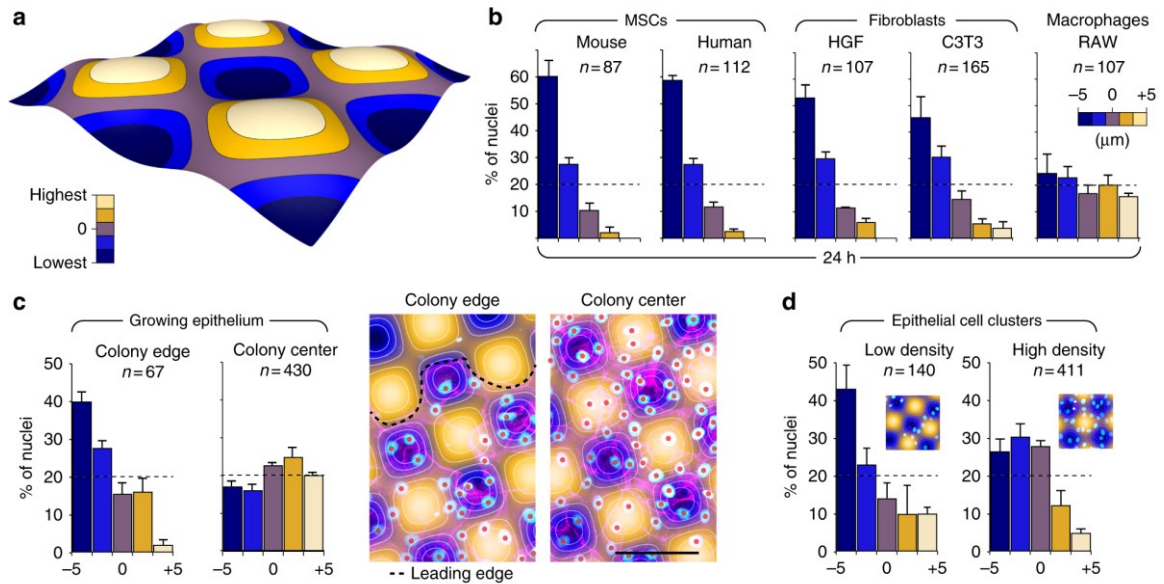


Figure 25 : Influence de la topographie sinusoidale sur l'adhésion cellulaire pour différents types cellulaire. Les cellules adhérentes se positionnent dans les zones concaves des paysages de collines et de vallées à l'échelle cellulaire. a Les surfaces ont été segmentées en cinq zones délimitées par des courbes de niveau. b Distribution spatiale de différents types de cellules évaluée 24 h après l'inoculation de surface sur des surfaces S10 / 100. c, d Distribution spatiale des cellules MDCK dans un épithélium (c) ou formant de petits amas (d). Pour l'épithélium, le bord est comparé au centre de la colonie. Le nombre total de cellules est indiqué pour chaque condition. Barre d'échelle : 100 μm [Pieuchot2018].

La topographie influence donc les comportements isolés et collectifs des cellules. Ce phénomène n'est pas la conséquence de la gravité et se produit même lorsque le substrat est retourné (Figure 26.i). Il est intéressant de noter que l'influence de la topographie sur le guidage cellulaire est en compétition avec la fonctionnalisation de la surface. En effet plus la concentration en protéines d'adhésion est importante à la surface du substrat, moins les cellules sont affectées par la topographie. Les biologistes ont même identifié un seuil en concentration en protéines d'adhésion qui annule complètement l'effet de la topographie (Figure 26.j).

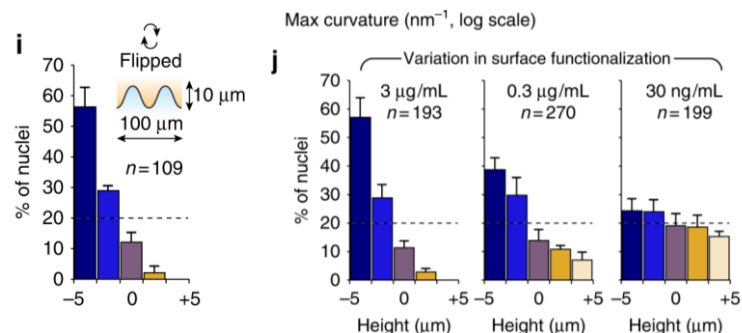


Figure 26 : Influence de la topographie sinusoidale sur l'adhésion cellulaire. i Réponse cellulaire à 24 h lorsque la surface a été retournée 2 h après l'adhésion cellulaire. j Réponse cellulaire sur des surfaces fonctionnalisées avec des concentrations décroissantes de fibronectine. Les barres d'erreur représentent l'erreur standard du nombre moyen de cellules observé dans trois expériences indépendantes. Le nombre total de cellules est indiqué pour chaque condition. [Pieuchot2018].

Pour expliquer le phénomène de curvotaxie cellulaire, nous avons proposé l'hypothèse selon laquelle la cellule se met à migrer en suivant le mouvement de son noyau qui tend à se déplacer vers les zones concaves. Le noyau est en effet, plaqué contre le substrat par la pression générée par le cortex d'actine et les fibres de stress apicales. Plaqué ainsi contre le substrat, le noyau ressent sa topographie. Les reliefs convexes du substrat constituent alors pour le noyau des zones de fortes contraintes et d'équilibre instable tandis que les concaves amènent à des états relaxés et des équilibres beaucoup plus stables. Le noyau tend ainsi à se déplacer pour se positionner dans la cellule en vis-à-vis d'une zone concave du substrat. (Figure 27). Si la cellule cherche ensuite à recentrer son noyau, elle peut, soit, le repositionner de manière active en le tirant ou le poussant, ce qui demande une certaine énergie ou au contraire, migrer dans la même direction que le noyau et atteindre ainsi des zones concaves de moindre énergie mécanique (Figure 27e). Le noyau jouerait donc un rôle de senseur topologique, et son décentrage serait un signal pour initier la migration et la guider.

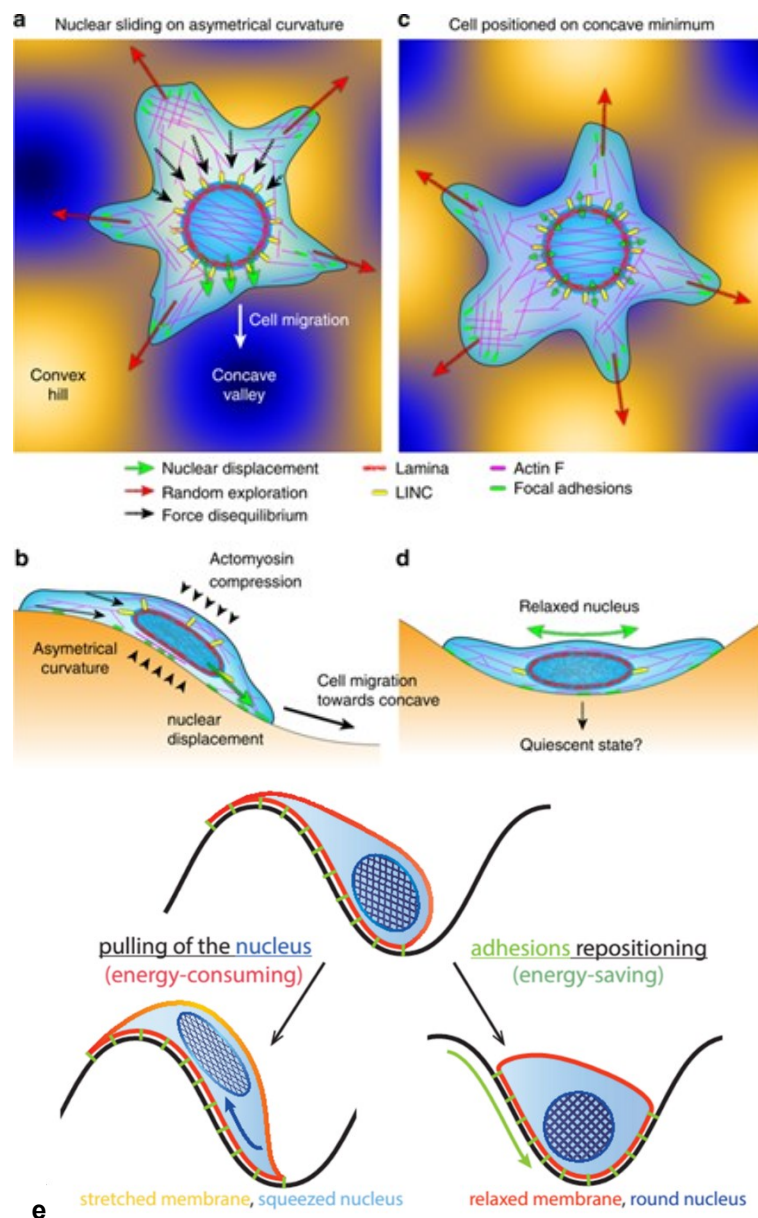


Figure 27 : Hypothèse de migration cellulaire guidée par courbure. a, c L'adhésion sur une courbure asymétrique (a) déclenche un glissement nucléaire vers le concave, modifiant la marche aléatoire de la cellule et conduisant au positionnement de la cellule sur la vallée concave (c). b, d Vues latérales montrant la compression d'actomyosine du noyau et sa relaxation sur courbure concave. e) La migration guidée par le mouvement du noyau. Comparaison du coût en énergie de 2 mécanismes possibles pour recentrer le noyau : en tirant le noyau ou bien en déplaçant tout le corps cellulaire

Pour tester cette hypothèse, nous avons utilisé la dernière version du modèle cellulaire détaillé dans les 2 chapitres précédents. Nous avons d'abord simulé une simple adhésion cellulaire sur ces substrats sinusoïdaux, sans considérer de migration pour estimer le décentrage éventuel du noyau. Nous montrons qu'en fin d'adhésion la topographie sinusoïdale du substrat induit un gradient de pression à l'intérieur de la cellule qui déclenche le mouvement interne du noyau en direction des zones concaves (Figure 28). Ce résultat indique que le noyau par sa mobilité interne est un mécanosenseur de la topographie.

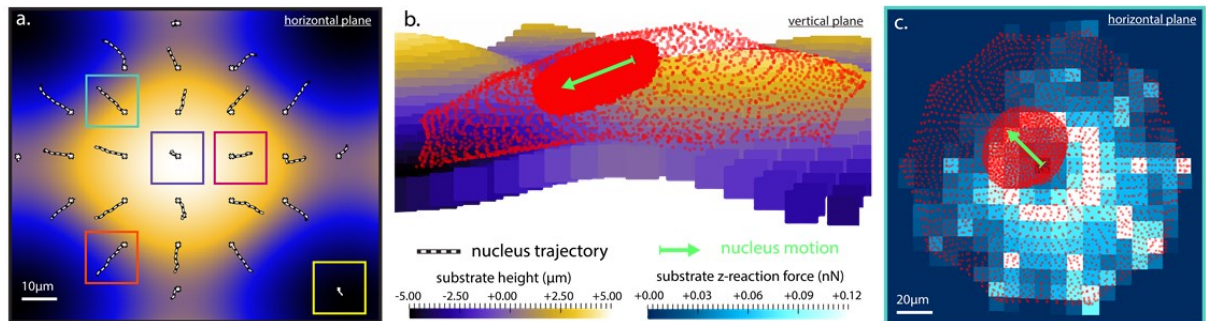


Figure 28 : Déplacements du noyau jusqu'à l'équilibre, au sein du modèle cellulaire en fonction de la localisation de son adhésion sur la surface sinus (a). Mouvement du noyau dans le modèle cellulaire adhérant sur un pic de la surface (b) Mouvement du noyau dans une direction opposée aux zones de forces de traction maximales sur le substrat. [Vassaux2019].

Nous avons ensuite modifié le modèle cellulaire pour rendre possible la migration en fonction du décentrage du noyau calculé en fin d'adhésion [Vassaux2019]. Lorsqu'une cellule migre, elle modifie sa morphologie et ses propriétés mécaniques à la fois à l'avant et à l'arrière. Simultanément surviennent la protrusion d'un lamellipode à l'avant avec la formation de nouvelles adhésions focales et la rétraction cellulaire à l'arrière de la cellule avec le désassemblage d'adhésions focales. Ces transformations périphériques s'accompagnent d'une réorganisation du cytosquelette avec une polymérisation accrue des filaments d'actomyosine à l'avant qui connectent les nouvelles adhésions focales et leur dépolymérisation à l'arrière.

Les simulations que nous avons réalisées reproduisent de manière simplifiée ces transformations qui se produisent au sein de la cellule. Nous avons simulé, proportionnellement au décentrage interne du noyau et dans la même direction que celui-ci, la protrusion du lamellipode et l'avancée des adhésions focales, à l'avant du modèle, et le recul des adhésions focales à l'arrière du modèle. A chaque itération de la simulation de migration, le modèle cellulaire se déplace dans sa globalité en suivant exactement le déplacement interne du noyau calculé à l'itération précédente. La simulation de migration s'arrête lorsque le noyau n'a plus de mouvement relatif par rapport au barycentre de la cellule ; c'est alors que la cellule est supposée s'être stabilisée.

Les résultats des simulations de migration cellulaire indiquent que le modèle se déplace sur les surfaces sinusoïdales jusqu'à se stabiliser dans une région concave, où il atteint une énergie contractile plus basse (Figure 29). **Nos résultats in silico suggèrent que la migration cellulaire guidée par le mouvement interne du noyau, permet à la cellule d'atteindre des zones de moindre énergie contractile.**

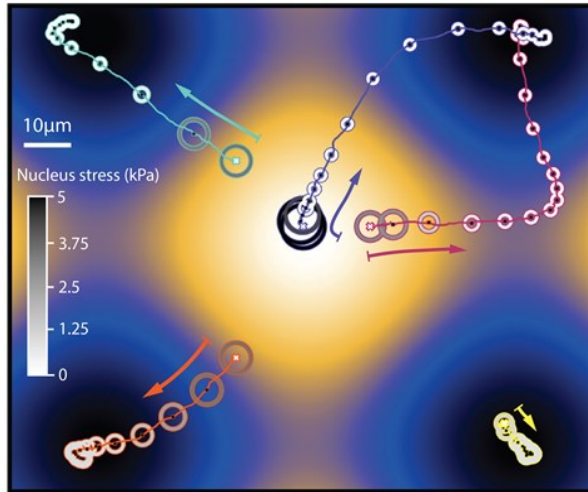


Figure 29 : Simulation de la migration cellulaire guidée par le décentrage du noyau induit par la courbure du substrat. Le modèle cellulaire s'arrête de migrer lorsque le noyau se stabilise, les deux au centre de la région concave. [Vassaux2019]

Pour étudier comment la curvotaxie influence la migration cellulaire de grande distance, nous avons imposé au modèle une migration forcée suivant une direction diagonale sur le substrat sinusoïdal tout en laissant libres les déplacements latéraux. Les simulations montrent que le modèle se déplace en créneaux en évitant les zones convexes et en privilégiant les zones concaves. Le modèle parcourt un chemin plus long mais de moindre énergie (Figure 30). Ces résultats *in silico* rejoignent les observations *in vitro* réalisées en dynamique à partir de films qui suivent les déplacements cellulaires.

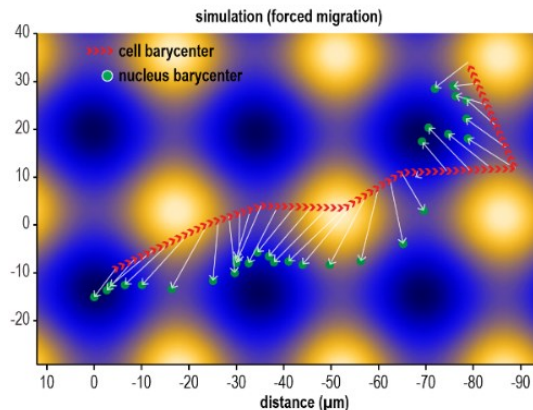


Figure 30 : Simulation de la migration cellulaire à l'aide du modèle cellulaire. Suivi de la position du noyau lorsque le modèle cellulaire migre dans une direction diagonale imposée. Le décentrage du noyau indique là également les zones de basses pressions. Ce mécanisme pourrait indiquer à la cellule le chemin le plus facile à parcourir.

Notre étude *in silico* & *in vitro* nous permet de proposer un mécanisme simple expliquant comment la mécanique intracellulaire permet aux cellules de réagir à la courbure du substrat, d'induire une polarisation cellulaire et de guider, par la topographie, la migration des cellules qui est normalement beaucoup plus aléatoire [Vassaux2019].

Nous avons ensuite utilisé le modèle de migration cellulaire pour étudier l'influence de la longueur d'onde et de l'amplitude des surfaces sinusoïdales sur la curvotaxie. La migration a été simulée sur trois sinusoïdes, avec un rapport constant d'amplitude et de longueur d'onde : 3/30μm, 10/100μm, 30/300 μm (Figure 31). Dans toutes les conditions, le modèle cellulaire était placé toujours dans une pente de la surface, là où la courbure est nulle mais le son gradient est maximal. La migration a été observée jusqu'à la stabilisation des cellules. Les simulations montrent que la topographie a un effet plus important sur la migration lorsque le rayon de courbure est proche du diamètre de la cellule. Pour des

rayons de courbure plus petits ou plus grands, les cellules présentaient des trajectoires moins directes et courbes avec des changements brusques de direction pour atteindre les zones concaves (Figure 32). Cette influence se mesure également sur les vitesses de migration qui sont plus élevées sur les surfaces de rayon de courbure proche du diamètre de la cellule.

La longueur d'onde a aussi une influence. Les simulations montrent que la curvotaxie à petite ou grande longueurs d'onde semble limitée. Les grandes sinusoides sont des surfaces presque planes qui n'offrent presque aucune zone de relaxation. Le modèle cellulaire ne peut pas détecter une longueur d'onde plus grande que son propre diamètre de propagation. Il ne peut pas non plus détecter une longueur d'onde plus petite que le diamètre de son noyau. En d'autres termes, dans ce mécanisme de migration cellulaire induit par la courbure et le mouvement intracellulaire du noyau, le diamètre du noyau et le diamètre de la cellule constituent le minimum et le maximum de l'échelle spatiale de la curvotaxie de la cellule ; la curvotaxie cellulaire est alors liée à ses dimensions intrinsèques.

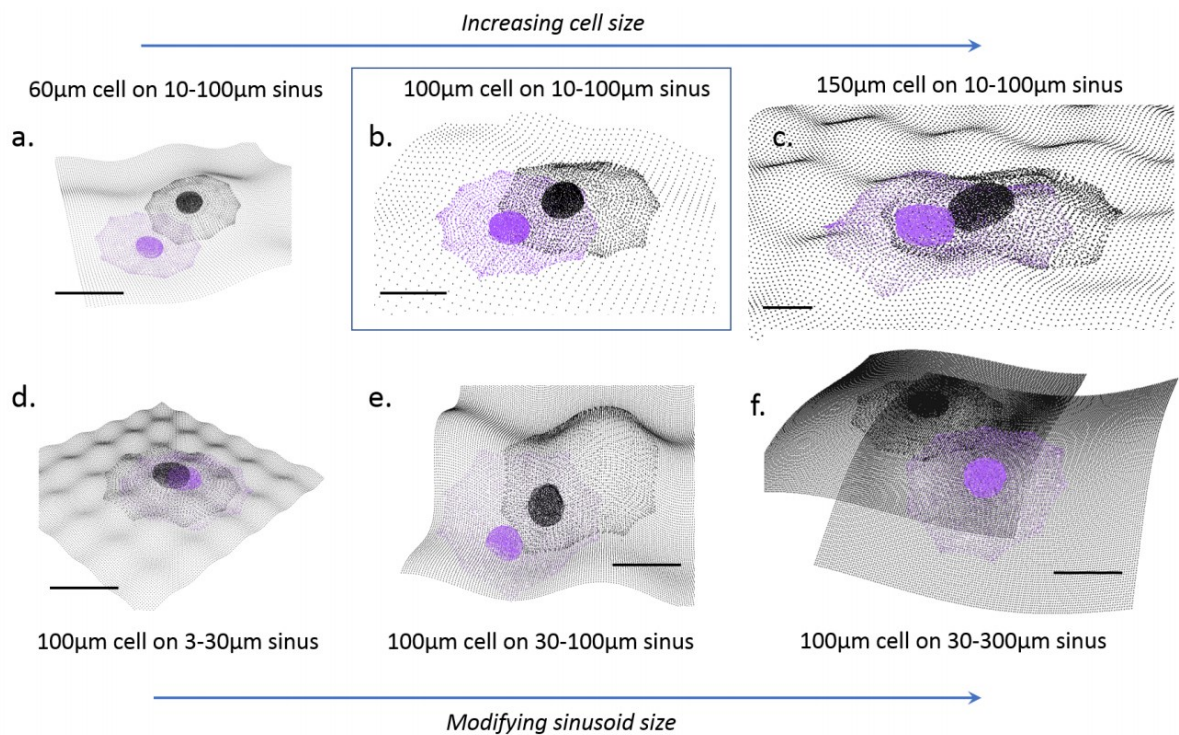


Figure 31 : Influence des dimensions des surfaces sinusoidales par rapport à la taille de la cellule. Début (noir) et fin (violet) de la simulation de migration du modèle cellulaire sur les surfaces sinusoidales. Cellule avec un diamètre de (a) $60\mu\text{m}$, (b) $100\mu\text{m}$ et (c) $150\mu\text{m}$ migrant sur une sinusoidale d'amplitude $10\mu\text{m}$ et de $100\mu\text{m}$ de longueur d'onde. Cellule de $100\mu\text{m}$ migrant sur les surfaces (d) $3-30\mu\text{m}$, (e) $30-100\mu\text{m}$ et (f) $30-300\mu\text{m}$. (b) a été choisi comme référence. Les barres d'échelle indiquent $40\mu\text{m}$. [Vassaux2019]

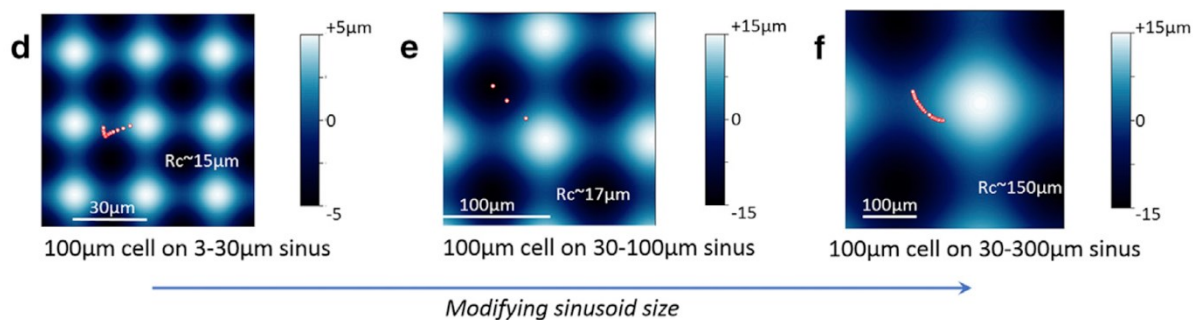


Figure 32 : Trajectoires de migration d'une cellule de $100\mu\text{m}$ de diamètre sur les surfaces (a) $3-30\mu\text{m}$, (b) $30-100\mu\text{m}$ et (c) $30-300\mu\text{m}$. La dynamique des cellules est initiée sur la partie plate de la courbure (au centre de chaque carte). Les points des trajectoires correspondent à des instants et des intervalles de temps identiques, un grand écart entre deux points voisins indique une grande vitesse de migration [Vassaux2019]

Pour vérifier l'influence des dimensions du sinus sur le comportement cellulaire, nous avons conduit de nouvelles expérimentations de culture cellulaire in vitro en modulant les amplitudes et de longueurs d'onde des substrats sinus. Les résultats expérimentaux 1) montrent comme le prédisaient les simulations in silico que 1) une augmentation de l'amplitude du sinus accentue le phénomène de curvotaxie cellulaire 2) qu'une longueur d'onde du sinus équivalente au diamètre cellulaire (~30-100) est favorable à la curvotaxie alors que des longueurs d'onde beaucoup plus importantes diminuent fortement le phénomène (Figure 33).

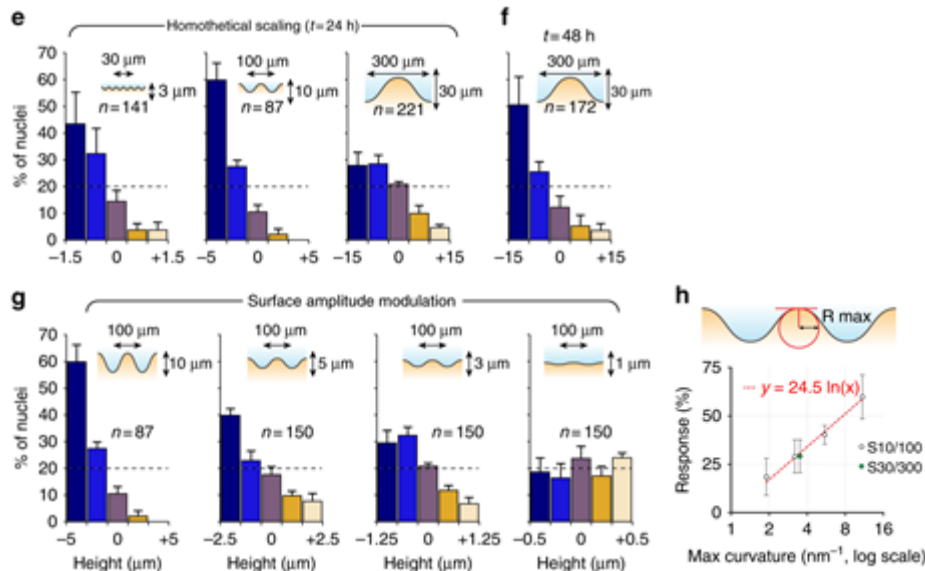


Figure 33 : Influence de la topographie sinusoidale sur l'adhésion cellulaire pour différents types cellulaire. Les cellules adhérentes se positionnent dans les zones concaves des paysages de pics et de vallées à l'échelle cellulaire. e - g Distribution de surface des mMSC sur des surfaces pour différents coefficients d'homothétie (e, f) et sur des surfaces d'amplitude décroissante (g). h) Une relation logarithmique reliant le pourcentage des cellules localisées dans les régions concaves, au rayon de courbure maximal de la surface. Les barres d'erreur représentent l'erreur standard du nombre moyen de cellules observé dans trois expériences indépendantes. Le nombre total de cellules est indiqué pour chaque condition. [Pieuchot2018]

Le noyau de la cellule apparaît comme un capteur de topographie idéal. Comprimé par le cortex d'actine contractile, le noyau est propulsé vers les zones de plus faible pression à l'intérieur de la cellule. Notre modèle in silico permet d'analyser et de quantifier les niveaux de forces intracellulaires tout au long de sa migration (Figure 34). En considérant une cellule de 100μm de diamètre migrant sur une surface sinusoidale 10/100μm d'amplitude et de longueur d'onde, nous observons une relaxation mécanique progressive à mesure que la cellule migre d'un emplacement convexe vers un concave.

La cellule pourrait ainsi utiliser son noyau pour trouver des emplacements de faible énergie mécanique mais aussi plus stables et abrités. Les emplacements concaves de dimensions proches de celles de la cellule fournissent ces deux caractéristiques. En comparaison, les emplacements convexes sont très instables, de petites fluctuations dans les cellules et les noyaux centrés sur la topographie pourraient conduire à de grands mouvements internes d'organites, qui peuvent endommager la cellule pendant la mitose.

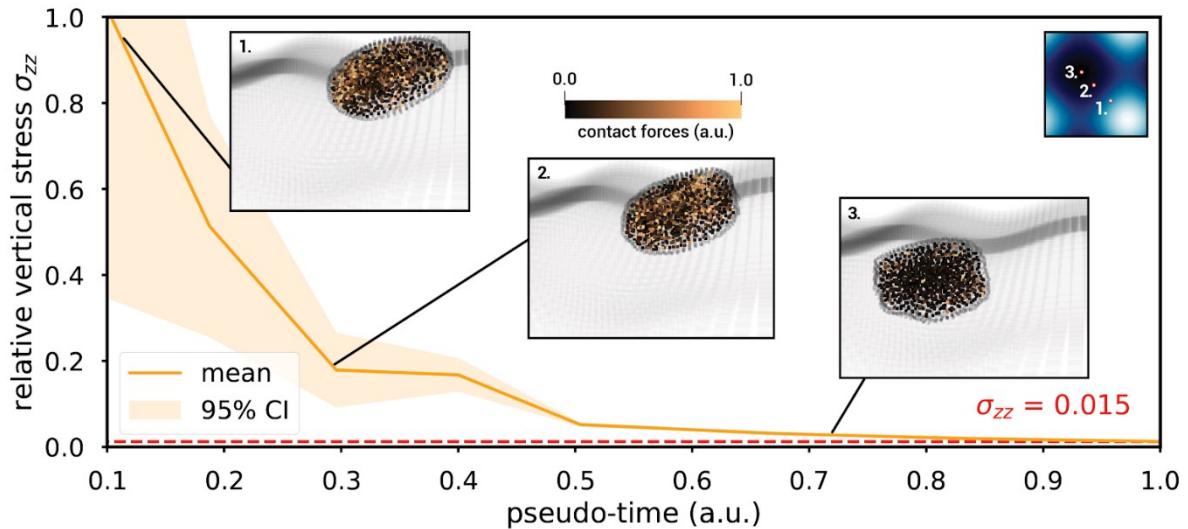


Figure 34 : La contrainte mécanique verticale au sein du noyau diminue au cours de la simulation de la migration par curvotaxie. Cellule de $100\mu\text{m}$ de diamètre sur une sinusoïde de $30/100\mu\text{m}$. Des images instantanées de la forme du noyau et des forces de contact internes de compression entre les particules qui constituent le nucléoplasme, sont ajoutées pour trois positions du modèle cellulaire au cours de la migration. La contrainte verticale dans le noyau diminue de 80% entre le début et la fin de la migration lorsque la cellule se stabilise dans le concave le plus proche. Les instantanés illustrent la relaxation simultanée par la forme du noyau, qui peu à peu s'arrondit, et par la diminution significative des forces de compression au sein du nucléoplasme. [Vassaux2020]

Pour caractériser les déterminants de la curvotaxie cellulaire, nous avons lancé des simulations en diminuant fortement la tension corticale ou la rigidité du noyau. Dans les deux cas, le modèle perd la capacité de détecter la courbure du substrat en migrant plus lentement et en se stabilisant loin de la zone de plus grande concavité. Ainsi, la curvotaxie cellulaire nécessite un certain niveau d'intégrité structurale et mécanique du cytosquelette et du noyau. Pour vérifier cette hypothèse, des expérimentations in vitro ont été menées en inhibant la polymérisation de l'actine ou de la lamina nucléaire. Les résultats in vitro sont en accord avec les prédictions in silico (Fig. 35).

Notre étude révèle ainsi que la curvotaxie repose sur une interaction dynamique entre le noyau et le cytosquelette.

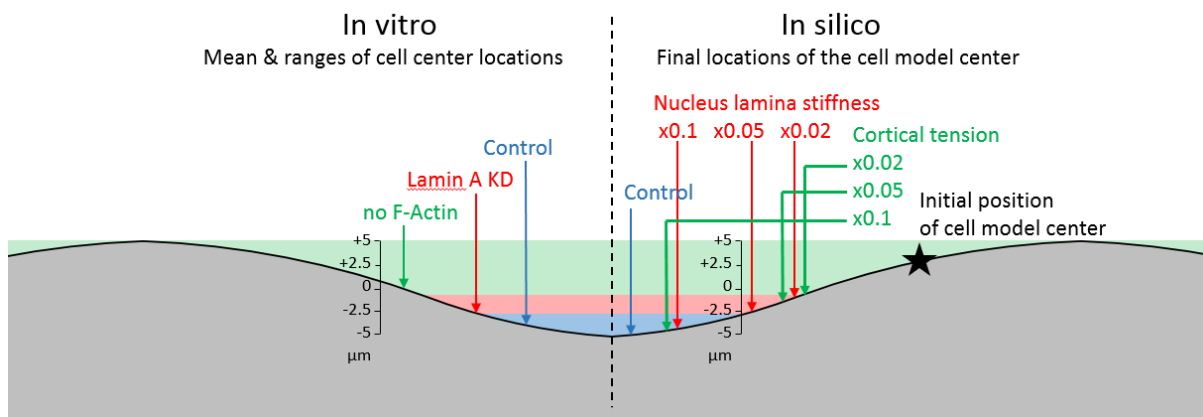


Figure 35 : Résultats in silico et in vitro sur la position finale des cellules avec des propriétés altérées du cytosquelette. En gris, le substrat sinusoïdal. Les bandes de couleurs représentent la localisation des cellules in vitro, dans des conditions de contrôle (bleu), avec un noyau de faible rigidité (lamine A knockdown) (rouge) et sans cytosquelette contractile (pas de F-actine) (vert). Pour chaque condition in vitro, une flèche indique sur le côté gauche la position moyenne des cellules sur la surface sinusoïdale. Sur le côté droit, des flèches verticales indiquent la position finale du modèle cellulaire à la fin de la migration dans des conditions de contrôle ou avec des propriétés mécaniques cellulaires modifiées reproduisant les tests in vitro. [Vassaux2020]

2.3.5.1. Discussion

Jusqu'ici, la relation entre la migration cellulaire et les caractéristiques mécanique et géométrique de son environnement était à peine compris. Il n'était pas possible d'expliquer mécaniquement comment la migration cellulaire est systématiquement influencée par la courbure du substrat. Jusqu'à maintenant, la seule théorie proposée était basée sur une dynamique de la polymérisation de l'actine et de l'assemblage des adhésions focales capables éventuellement de ressentir la courbure. Winkler et al. (2019) ont en effet montré que le confinement modifie la symétrie de la polymérisation de l'actine dans le cytosquelette, et favorise donc une direction particulière de l'extension du lamellipode [Winkler2019]. Des éléments de preuve dans les épithéliums montrent une corrélation entre l'organisation de l'actine et la topographie, le flux d'actine en cours de polymérisation évitant les parties du cytosquelette exposées à des courbures convexes [Chen2019].

En complément de cette première théorie, nous apportons ici la théorie de curvotaxie qui est une deuxième explication de l'influence de la topographie du substrat sur la migration cellulaire. Nous avons montré que la topographie convexe déplace le noyau et que ce déplacement est un signal pour la cellule l'appelant à migrer dans la même direction vers des zones concaves de plus faible énergie. Cette théorie a été testé de manière approfondie par des expériences *in silico* et *in vitro* couplées. Notre modèle de cellule *in silico* a servi de cadre pour déchiffrer le mécanisme de curvotaxie. Cette nucléo-sensibilité topographique pourrait être un mécanisme permettant aux cellules de trouver de manière optimale des microenvironnements de plus grande stabilité et relaxation mécaniques, propices notamment à la mitose. Ces résultats pourraient éclairer la conception de substrats utilisés en génie tissulaire pour favoriser l'invasion et la prolifération cellulaires.

2.4. Modélisations in silico de formation tissulaire

2.4.1. Régénération osseuse stimulée mécaniquement au sein de matrices poreuses

A l'issue de ma thèse, l'expérience de mon Post-doctorat à Barcelone a été décisive car elle a donné à mon approche de modélisation cellulaire une perspective méso et macroscopique. Durant 15 mois j'ai travaillé dans l'équipe « Biomechanics and Mechanobiology » de Damien Lacroix, au sein de l'Institut de Bio Ingénierie de Catalogne (IBEC) à Barcelone, dirigée à l'époque par Josep Planell. La mission du post-doctorat s'inscrivait dans un projet plus large d'ingénierie tissulaire financé sur 3 ans, porté par un consortium de biologistes, numériciens, et vétérinaires. Le projet visait le développement de matrices poreuses en PLAG5, matériau bioactif composé d'acide poly lactique et de verre phospho-calcique [Navarro2006], pour la régénération osseuse analysées par des moyens in silico, in vitro et in vivo.

En application clinique, ces matrices poreuses à 95% sont colonisées par les cellules qui adhèrent aux parois des pores et synthétisent de la matrice extracellulaire. Les parois des pores servent alors de tuteur à la formation tissulaire. Pour initier la synthèse osseuse, les cellules doivent être stimulées notamment par l'environnement mécanique. La capacité de ces matrices poreuses à conduire une stimulation mécanique a été analysé in vitro à l'aide d'un bioréacteur à perfusion développé au sein du laboratoire et in vivo, à l'aide d'une chambre de compression implantée dans des tibias de chiens.

Pour déterminer le mode optimal de compression en termes d'amplitude et de fréquence, il est nécessaire de relier ces paramètres avec le niveau local de stimulation. Cependant les expériences in vitro et in vivo ne peuvent donner qu'une information indirecte du niveau local de stimulation mécanique ressenti par les cellules. Seule une approche numérique peut permettre d'obtenir ces informations. Elle permet également de réduire l'échantillonnage in vitro et in vivo.

J'étais chargé de cette caractérisation in silico. J'ai reconstruit numériquement en 3D les matrices poreuses imagées par Micro CT et par le synchrotron ESRF de Grenoble. En différenciant le verre phosphocalcique du PLA par une analyse des niveaux de gris et en assignant les propriétés matériau correspondantes, j'ai ainsi obtenu un modèle aux éléments finis de la matrice PLAG5.

Dans un premier temps, j'ai mené des simulations d'écoulement fluide à travers ces matrices pour estimer le régime de perfusion in vitro idéal pour 1) la colonisation cellulaire forcée par perfusion cyclique (12-24h) et 2) la stimulation mécanique par cisaillement fluide des cellules adhérant aux parois de la matrice poreuse. Ces simulations ont été réalisées sous FLUENT. Le modèle indique que le mode de perfusion fluide avec une vitesse fluide de $100 \mu\text{m/s}$ en entrée génère un mode de sollicitation optimal au sein de la matrice. En effet, celui-ci produit une contrainte de cisaillement fluide autour de 2mPa , seuil connu pour stimuler les cellules souches à se différencier en ostéoblastes et à synthétiser la matrice extra-cellulaire ostéoïde [Milan2009] (Figure 36).

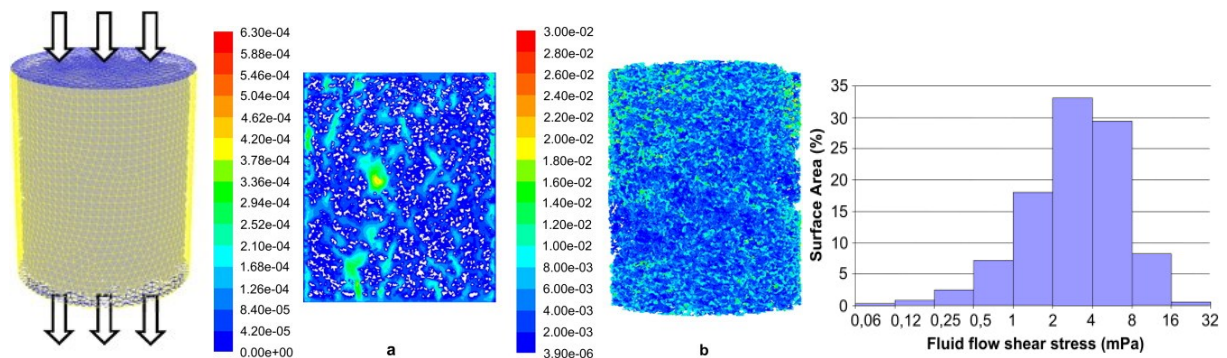


Figure 36 : Simulation de perfusion fluide de la matrice avec une vitesse de $100 \mu\text{m/s}$ en entrée. (a) Distribution des valeurs de vitesse fluide (m/s) en coupe axiale. (b) Distribution des valeurs de contrainte de cisaillement (Pa) induite par l'écoulement de fluide sur la surface de la matrice poreuse. (c) Proportions de la surface des parois des pores soumises à des gammes de contraintes de cisaillement induites par l'écoulement du fluide de perfusion. [Milan2009]

Dans un deuxième temps, pour simuler les premiers jours d'implantation de la matrice poreuse de PLAG5 in vivo au sein de la chambre de compression à induction osseuse, j'ai considéré que les cellules adhéraient aux parois des pores de la matrice tout en baignant dans un environnement sanguin fluide. Lorsque la matrice est comprimée de manière cyclique, la déformation de la matrice s'accompagne de flux de fluide à travers les pores de la matrice. Ainsi, les cellules adhérentes sont soumises aux déformations solides de la matrice et aux contraintes de cisaillement fluide.

En utilisant le modèle aux éléments finis de la matrice PLAG5 et le modèle qui représente le fluide dans les pores de la matrice, j'ai calculé les stimuli ressentis par les cellules adhérentes lorsqu'un chargement cyclique est appliqué sur la matrice. Les résultats du modèle indiquent que des cycles de compression d'une amplitude de 5% à une fréquence de 0,1 Hz constituent un chargement idéal car ils génèrent localement des déformations solides de 100-10000 μ strains sur 50% de la surface de la matrice (Figure 37) et des contraintes de cisaillement fluide de 0,2-2mPa sur 70% de la matrice [Milan2009] (Figure 39), connues pour stimuler la formation d'os [Cartmell2003].

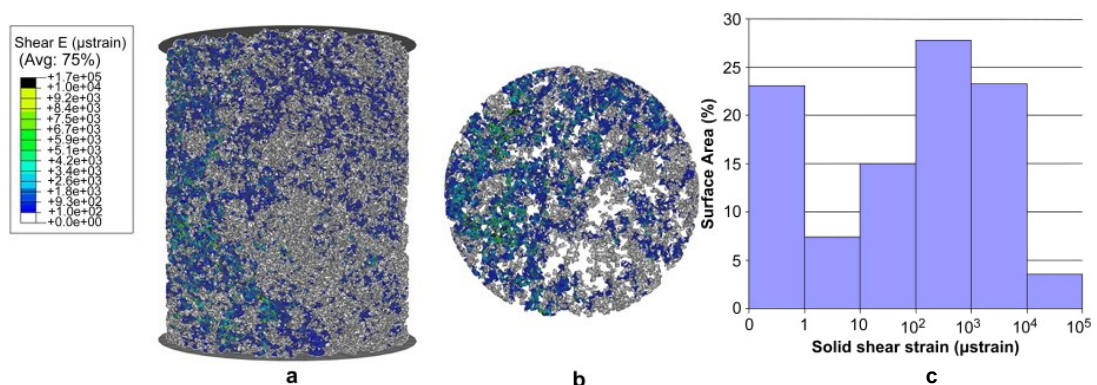


Figure 37 : Distribution spatiale (a & b) et pourcentage (c) de l'aire des parois internes de la matrice soumises à des déformations solides de [100 ;10,000] μ strains générées par une compression globale de 5%. [Milan2009]

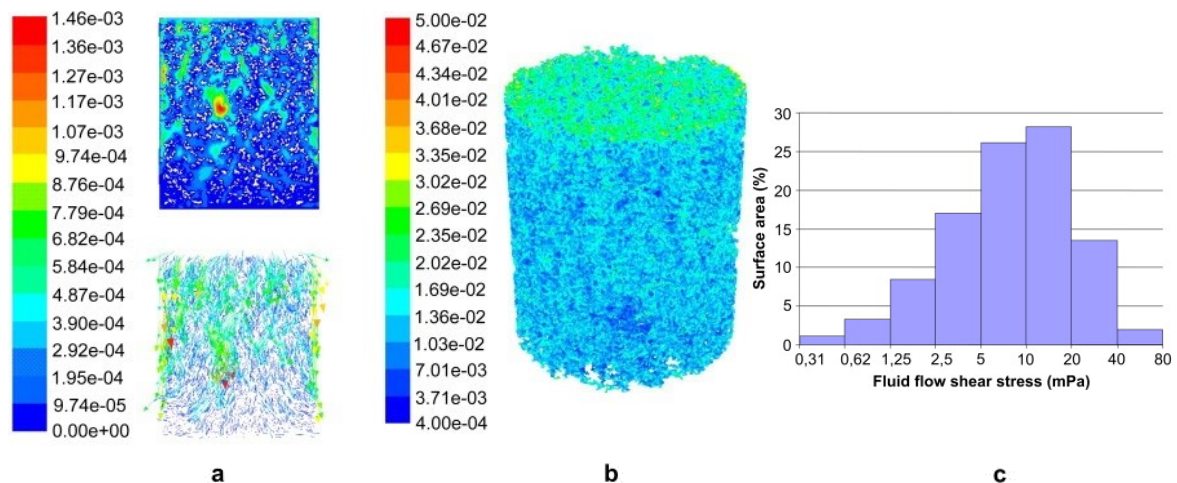


Figure 38. Simulation d'écoulement fluide induit par une compression de 5% à un taux de déformation de $0.05s^{-1}$ avec un confinement fluide latéral. (a) Champ de vitesse représenté par contours et vecteurs. (b) Distribution des contraintes de cisaillement générées sur les surfaces internes par le flux fluide (Pa). (c) Pourcentages de la surface interne soumise à des plages de cisaillement fluide. [Milan2009]

Dans un troisième temps, j'ai développé un modèle numérique de formation tissulaire au sein de la matrice poreuse implantée in vivo pour identifier le régime de compression cyclique optimal. J'ai intégré à ma modélisation les algorithmes itératifs de mécano-régulation proposés par Damien Lacroix et Patrick Prendergast (Figure 39) [Prendergast1997]. Le modèle que j'ai développé était ainsi capable de prédire le phénotype du tissu néoformé en fonction du niveau de sollicitation locale engendrée par la compression cyclique.

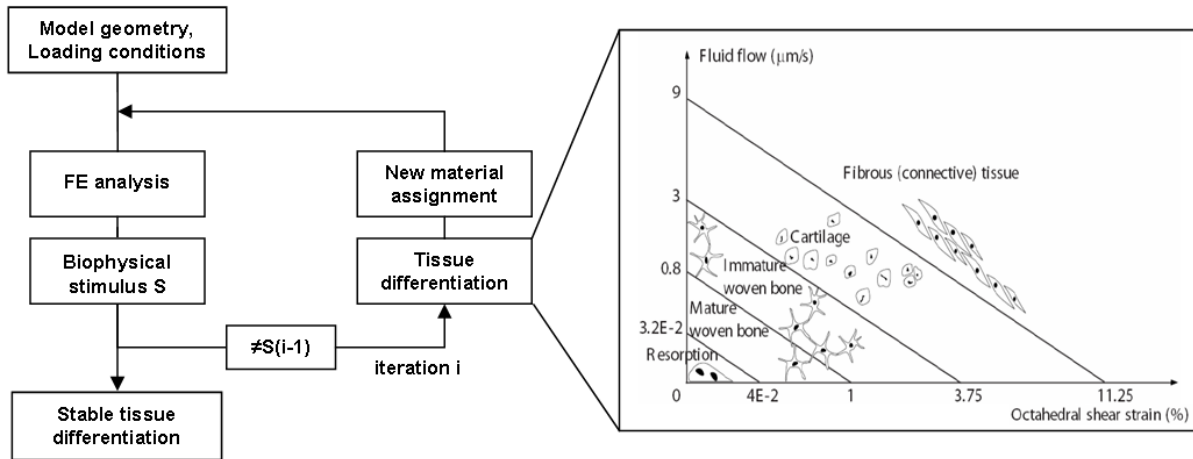


Figure 39 : Algorithme de mécano-régulation. Procédure itérative et diagramme de différenciation tissulaire suivant les seuils de stimulation mécanique [Prendergast1997].

Dans les simulations, le matériau biologique qui se forme au sein des pores de la matrice est modélisé comme un matériau poroélastique homogénéisé. La stimulation locale potentiellement ressentie par les cellules est calculée sur la base de la déformation locale et de la vitesse du flux fluide interstitiel (Figure 40). En fonction de la stimulation, les cellules souches se différenciaient en fibroblastes, en chondrocytes ou en ostéoblastes ou mourraient par apoptose. De leur différenciation découlait le phénotype tissulaire.

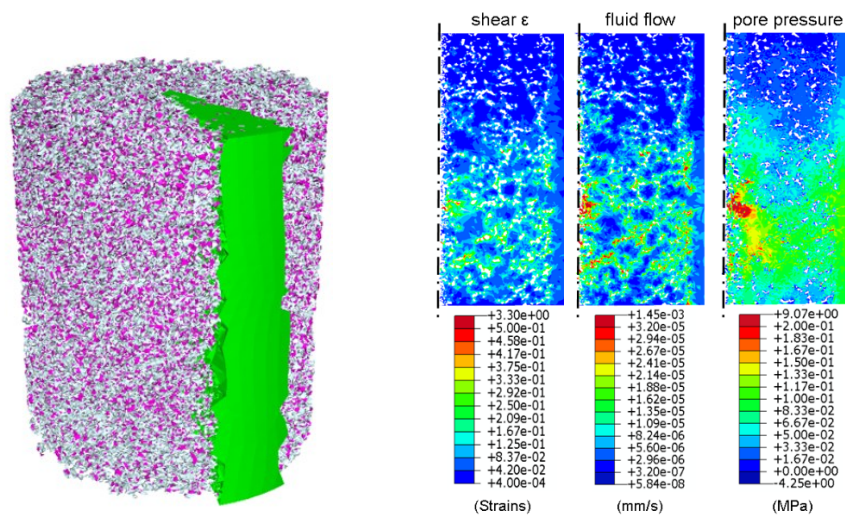


Figure 40 : A gauche, modèle mécano-biologique avec un matériau biologique réduit, pour des contraintes numériques, à une portion d'un angle de 20°. A droite, distribution de la contrainte de cisaillement, de la vitesse d'écoulement du fluide et de la pression interstitielle dans une section transversale du matériau biologique au milieu. [Milan2010]

En reproduisant les conditions in vivo de compression cyclique, le modèle montre la formation et la différenciation du tissu de granulation en os mature pour un chargement optimal de 0,5% de compression à 0,5Hz (Figure 41). Le modèle montre également que le tissu formé dépend de l'historique de chargement et que l'utilisation de matrices non uniformes peut conduire à la formation d'un tissu hétérogène composé par exemple d'os mature et de tissu fibreux [Milan2010].

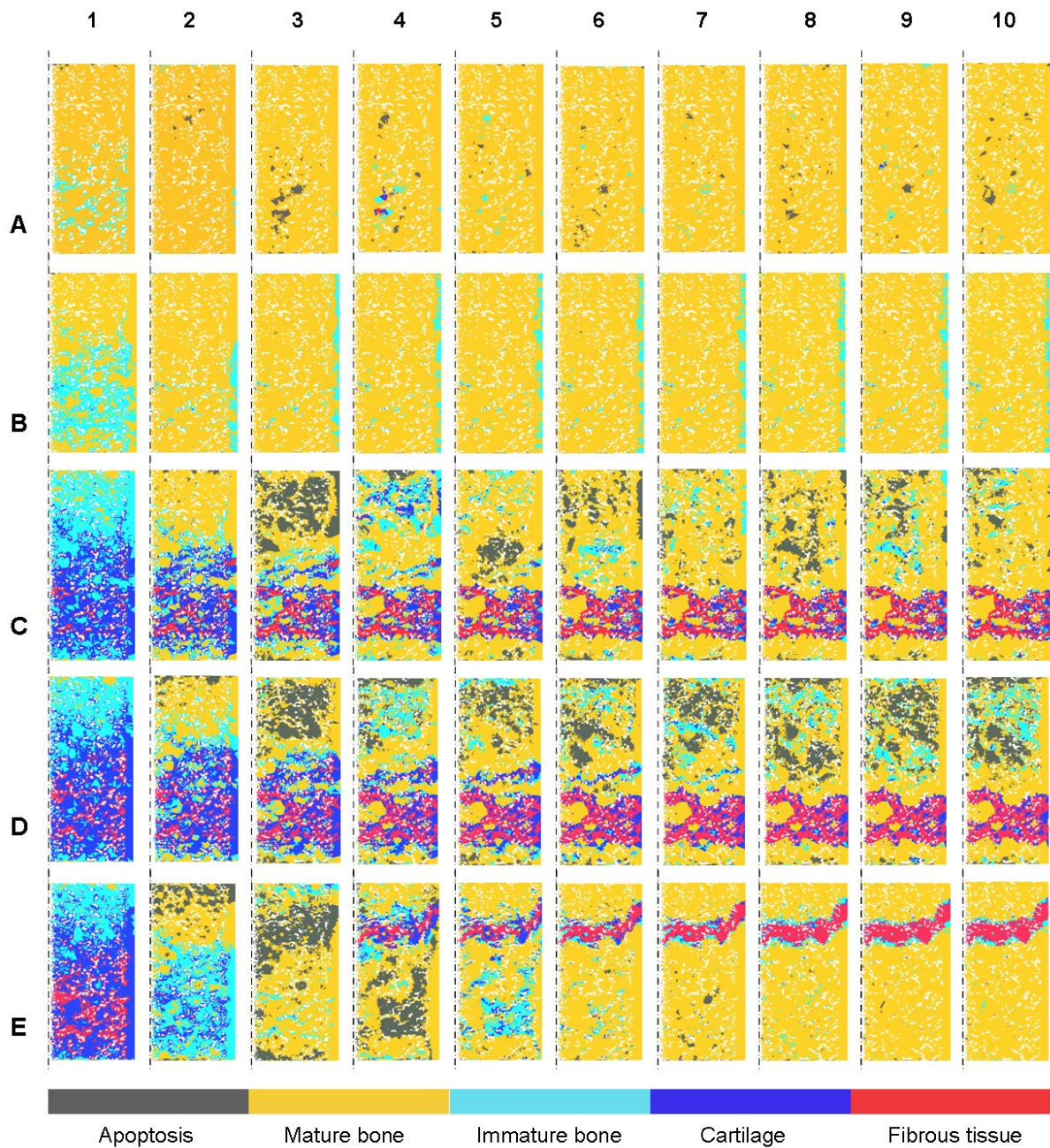


Figure 41 : Simulation de différenciation tissulaire sur 10 itérations pour les cas de chargement : A) 0,5 % de compression à un taux de déformation de 0,0025 s⁻¹ ; B) 1 % à 0,005 s⁻¹ ; C) 5 % à 0,025 s⁻¹ ; D) 5 % à 0,005 s⁻¹ ; E) Rampe de force de 1 à 70 N à des taux de 0,5 à 35 N.s⁻¹. Coupes transversales médianes du matériau biologique ; les pointillés représentent l'axe central de la matrice poreuse. [Milan2010]

En conclusion de cette étude, les tests in vitro ont vérifié en partie les résultats in silico concernant les conditions de perfusion optimales. Les expérimentations in vivo n'ont pas débouché malheureusement sur des résultats réellement exploitables et publiables du fait de problèmes d'infection liés en partie à une trop grande complexité du dispositif expérimental. Ce dispositif possédait un vérin externe qui comprimant le tissu dans la chambre de régénération osseuse. La jonction externe/interne n'offrait pas une barrière suffisante aux infections. Le peu de résultats obtenus furent néanmoins prometteurs.

Grace à ce post-doctorat j'ai intégré à mon profil de biomécanicien cellulaire une vision tissulaire, que j'ai toujours gardée depuis. Après mon recrutement en tant que maître de conférences, j'ai ainsi mené des recherches sur la modélisation numérique du remodelage osseux dans des cas de vieillissement normal ou ostéoporotique, **en co-encadrant la thèse de Claudia Chan Yone**. Ces simulations ont permis d'estimer les bénéfices de certaines médications sur la densification de la microarchitecture osseuse et sur la diminution du risque fracturaire [**ChanYone2011 ; ChanYone2012 ; Milan2019**].

Récemment j'ai utilisé ce modèle pour simuler et prédire la reformation tissulaire au sein d'un gap fracturaire diaphysaire important sur un tibia humain sous stimulation mécanique. Au sein du gap osseux, est implanté un biomatériau composite, constitué d'un tube cylindrique poreux en acide polylactique recouvert d'une membrane en hydrogel. L'objectif est d'identifier le niveau de stimulation mécanique qu'il faudrait pratiquer durant la phase de réhabilitation et de rééducation. A l'issue des simulations numériques il apparaît qu'un chargement cyclique avec un taux de déformation de 0.1mm/s offre une stimulation optimale et aboutit à une large reformation d'os mature viable mécaniquement (Figure 42) [**Milan2020**].

Le chapitre qui suit expose une large évolution de ce modèle formation tissulaire par une agrégation et une confrontation des modèles développés d'une part par Rik Huiskes, Patrick Prendergast, Damien Lacroix et Andriy Andreykiv, et d'autre part par Pascal Swider et Kjeld Soballe, ou encore par Pedro Moreo, José Manuel García-Aznar, et Manuel Doblaré. Cela a abouti à un modèle enrichi capable de simuler la cicatrisation osseuse autour d'une vis orthopédique, induite par des traitements de surface tels que l'anodisation.

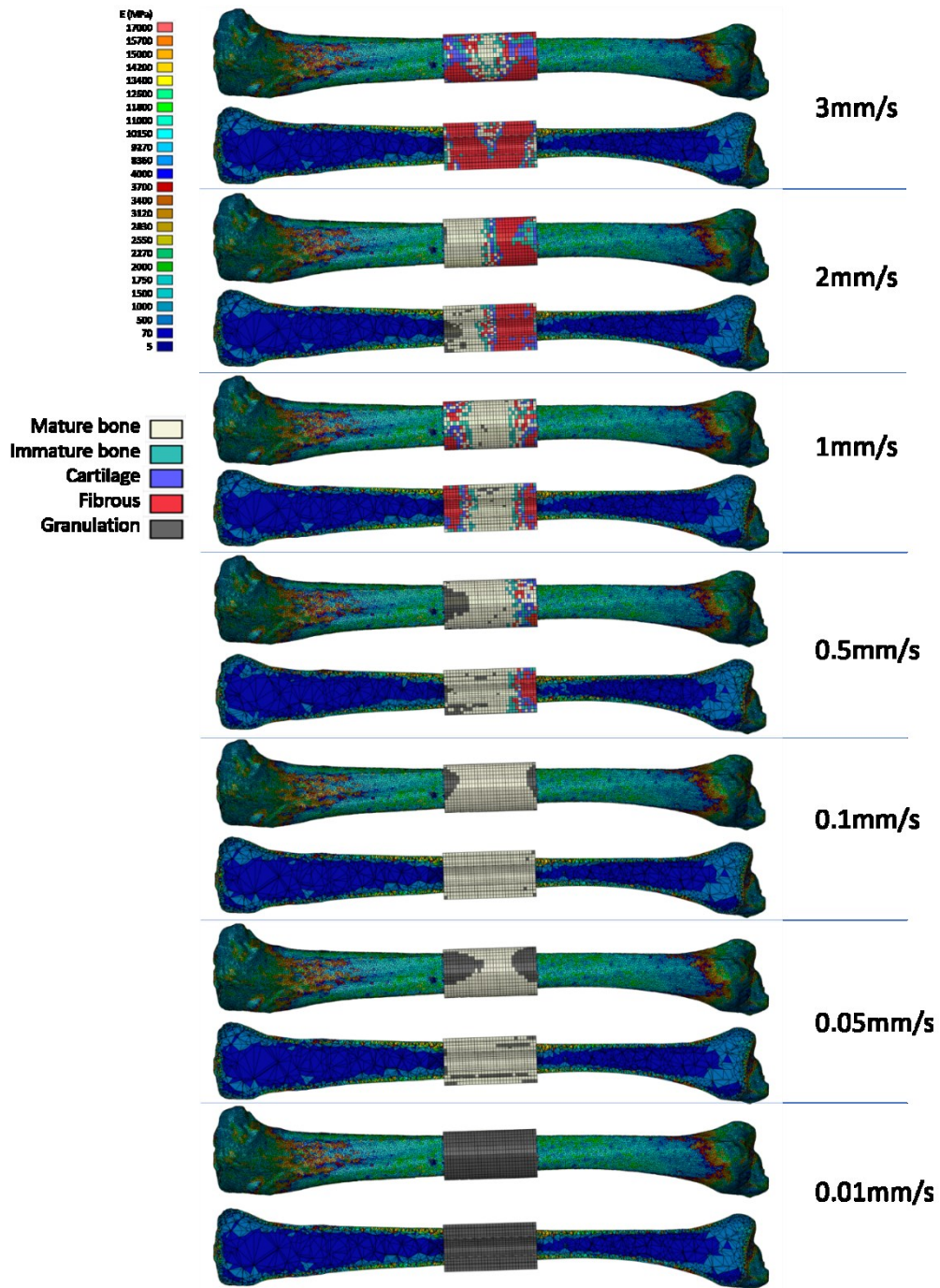


Figure 42 : Distribution des phénotypes tissulaires formés au sein de la matrice poreuse en acide poly lactique à la fin de la simulation en fonction de la vitesse de compression. Pour chaque cas de chargement, l'os tibial et le biomatériau sont présentés dans le plan sagittal à la fois en vue latérale et en coupe.

2.4.2. Influence du traitement de surface d'un implant sur l'ostéointégration

Cette étude constitue le travail de thèse de Nicolas Rousseau que je co-encadre avec son directeur de thèse, Patrick Chabrand. L'objectif est d'optimiser l'ostéointégration de vis orthopédiques, de vis d'ostéosynthèse ou d'implants dentaires par une modification du design du filet combiné à un traitement électro-chimique augmentant la rugosité de la surface de l'implant et son hydrophilie. Ma contribution est ici de l'accompagner dans le développement d'un modèle numérique suffisamment complexe pour être le plus réaliste possible des mécanismes en jeu tout en limitant le nombre de paramètres indéterminés.

2.4.2.1. Etat de l'art en modélisation de la régénération osseuse

Au cours des dernières décennies, de nombreux modèles numériques ont été développés pour tenter de décrire les mécanismes complexes de la régénération osseuse impliquant un apport en cellules souches qui se différencient en ostéoblastes pour synthétiser une matrice osseuse viable [Ambard2006 ; Amor et al ; 2011 ; Moreo2009 ; Prendergast1997 ; Lacroix2002 ; Andreykiv2008]. Parmi les modèles existants, aucun n'a étudié l'impact d'un traitement de surface d'un implant sur la régénération péri-implantaire. Pour ce faire nous avons développé un modèle basé sur les travaux d'Amor et al. 2011 qui utilisent le modèle de prolifération et de différenciation proposé par Andreykiv et al. 2008, lui-même basé sur le critère de différenciation proposé par Prendergast et al. 1997.

A l'aide de notre modèle, nous cherchons à optimiser d'une part la géométrie du filet de la vis et d'autre part le traitement de surface pour améliorer son ostéointégration. A l'issue des simulations, une étude in vivo sur brebis sera prochainement menée pour analyser le réel potentiel d'ostéointégration de la vis optimisée in silico. Je présente dans la suite les simulations de l'impact du traitement de surface.

2.4.2.2. Description du modèle d'ostéogénèse 2D

2.4.2.2.1. Environnement mécanique poroélastique

Le tissu osseux est considéré ici comme un matériau biphasique, constitué d'une matrice solide au sein de laquelle évolue un fluide interstitiel et ce quel que soit son niveau de maturité en cours de régénération. Il est modélisé par la théorie de la poroélasticité en le considérant comme un milieu continu élastique et isotrope. De plus, dans le cadre de notre étude, nous considérerons le milieu poreux comme saturé et ses différents constituants incompressibles. Ainsi, la relation entre la contrainte totale σ au sein du milieu, la déformation de la matrice solide ε et la pression du fluide interstitiel p_f est définie par l'équation suivante :

$$\bar{\sigma} = \frac{\nu E}{(1 - 2\nu)(1 + \nu)} \cdot \text{Tr}(\bar{\varepsilon}) \cdot \bar{I} + \frac{E}{1 + \nu} \bar{\varepsilon} - p_f \cdot \bar{I} \quad (17)$$

Avec E le module d'Young du milieu considéré et ν son coefficient de Poisson.

De plus, la vitesse du fluide interstitielle v_f est reliée à la déformation du milieu solide par l'équation de conservation et au gradient de sa pression par la loi de Darcy :

$$\left(\frac{\phi}{\kappa_f} \right) \frac{\partial p_f}{\partial t} - \nabla \cdot \left(\frac{K}{\mu_f} \nabla p_f \right) = \frac{\partial}{\partial t} \text{Tr}(\varepsilon) \quad (18)$$

et

$$v_f = - \frac{K}{\mu_f} \nabla p_f \quad (19)$$

avec ϕ la porosité de la phase solide, κ_f le module de compressibilité du fluide, K la perméabilité du solide et μ_f la viscosité dynamique du fluide considéré.

Concernant les propriétés mécaniques du milieu poroélastique, nous considérons que le milieu dans lequel la régénération osseuse se produira est constitué à l'état initial de tissu de granulation qui

sera remplacé au fur et à mesure par de l'os tissé et de l'os lamellaire en fonction des contraintes mécaniques locales. Les variables φ , E et ν du milieu dépendront du tissu néoformé. Nous caractériserons ces propriétés mécaniques par la théorie des mélanges.

2.4.2.2.2. Modèle biologique de formation osseuse

Le domaine biologique du modèle est décrit par l'évolution spatio-temporelle de cinq variables :

- La concentration des cellules souches mésenchymateuses (MSCs) c_m ;
- La concentration des ostéoblastes c_{ob} ;
- La densité du milieu en os tissé m_w ; w pour « woven bone » ;
- La densité du milieu en os lamellaire m_l ; avec m_{tot} la masse totale
- La concentration de facteurs de croissance ostéogéniques g ;

Ces variables vérifient les équations aux dérivées partielles de diffusion-réaction ci-dessous.

$$\begin{aligned} \frac{\partial c_m}{\partial t} &= \nabla \cdot \left[\underbrace{D_{c_m} \nabla c_m}_{\text{diffusion}} - \underbrace{C_{c_m} c_m \nabla m}_{\text{haptotaxis}} - \underbrace{\chi_{c_m} c_m \nabla g}_{\text{chimiotaxis}} \right] + \underbrace{P_{c_m} (1 - \alpha c_{tot}) c_m}_{\text{prolifération}} - \underbrace{F_{c_{ob}} (1 - \alpha c_{ob}) c_m}_{\text{différenciation}} \\ \frac{\partial c_{ob}}{\partial t} &= \underbrace{P_{c_{ob}} (1 - \alpha c_{tot}) c_{ob}}_{\text{prolifération}} + \underbrace{F_{c_{ob}} (1 - \alpha c_{ob}) c_m}_{\text{différenciation}} - \underbrace{d_{c_{ob}} c_{ob}}_{\text{apoptose}} \\ \frac{\partial m_w}{\partial t} &= \underbrace{Q_w (1 - \kappa m_{tot}) c_{ob}}_{\text{sécrétion}} - \underbrace{Q_l m_w m_l (1 - \kappa m_l)}_{\text{remodelage}} \\ \frac{\partial m_l}{\partial t} &= \underbrace{Q_l m_w m_l (1 - \kappa m_l)}_{\text{remodelage}} \\ \frac{\partial g}{\partial t} &= \nabla \cdot \left[\underbrace{D_g \nabla g}_{\text{diffusion}} \right] + \underbrace{E_g c_{ob}}_{\text{production}} - \underbrace{d_g g}_{\text{dégradation}} \end{aligned}$$

Les modes de migration principaux des cellules souches mésenchymateuses se font par diffusion [Gruler1984], haptotaxie [Lind1996] et chimiotaxie [Carter1965]. Ces migrations sont respectivement actionnées par les fonctions de diffusion D_{c_m} , d'haptotaxie C_{c_m} et de chimiotaxie χ_{c_m} (Tableau 1).

Processus	Fonction
Diffusion des MSCs	$D_{c_m} = \frac{D_h}{K_h^2 + m_{tot}} m_{tot}$
Haptotaxie des MSCs	$C_{c_m} = \frac{C_k}{(K_k + m_{tot})^2}$
Chimiotaxie des MSCs	$\chi_{c_m} = \frac{C_{ch}}{K_{ch}^2 + g^2} g$
Prolifération des MSCs	$P_{c_{m0}} = (1.2 - 0.7S)(1 - \kappa m_{tot})$
Différenciation des MSCs	$F_{c_{ob}} = F_{c_{ob0}} S \frac{g}{\beta_{ob} + g} + \frac{\alpha_{ob} g}{\beta_{ob} + g}$
Prolifération des ostéoblastes	$P_{c_{ob}} = (0.5 + 0.25S)(1 - \kappa m_{tot})$
Production des facteurs de croissance	$E_g = \frac{G_g}{(H_g + m)^2}$
Sécrétion d'os tissé	$Q_w = \frac{\alpha_w g}{\beta_w + g}$
Remodelage en os lamellaire	$Q_l = Q_{l_0} S$

Tableau 1 : Fonctions du modèle biologique

Bien que les ostéoblastes soient capables de migrer vers et sur la surface d'un implant [Jones1977], cette migration reste limitée par rapport à la migration des MSCs, dans la mesure où les ostéoblastes restent attachés à la matrice extracellulaire qu'ils sécrètent [Davies2003]. Ainsi, la migration des ostéoblastes dans ce modèle est négligée par rapport à celle des MSCs. Les MSCs et les ostéoblastes prolifèrent respectivement par les fonctions P_{cm} et P_{cob} , dépendant toutes les deux de la densité massique totale de la matrice extracellulaire osseuse m_{tot} . Les MSCs se différencient selon la fonction F_{cm} et l'apoptose des ostéoblastes est considérée par une relation linéaire, représentée par une constante d_{cb} . Les ostéoblastes sécrètent une ébauche d'os tissé à la vitesse Q_w , qui est remodelé par la suite en os lamellaire, à une vitesse dépendant de la fonction Q_l . Enfin, les facteurs de croissances diffusent avec une constante de diffusion D_g . Ils sont sécrétés à un taux E_g et se dégradent par une fonction linéaire de coefficient d_g . Les valeurs de ces paramètres ont été définies par rapport à la littérature (Tableau 2)

Paramètre	Valeur	Unité	Définition
D_h	0,0126	$\text{mm}^2.\text{jour}^{-1}$	Coefficient de diffusion des MSCs
K_h	0,025	g.ml^{-1}	Constante de densité de matrice extracellulaire liée à la diffusion des MSCs
C_k	0,00306	$\text{mm}^2.\text{jour}^{-1}.\text{(g.ml}^{-1}\text{)}$	Coefficient de migration des MSCs par haptotaxie
K_k	0,05	g.ml^{-1}	Constante de densité de matrice extracellulaire reliée à l'haptotaxie des MSCs
C_{ch}	0,027	$\text{mm}^2.\text{jour}^{-1}.\text{(ng.ml}^{-1}\text{)}$	Coefficient de migration des MSCs par chimiotaxie
K_{ch}	0,05	g.ml^{-1}	Constante de densité de matrice extracellulaire reliée à la chimiotaxie des MSCs
α_{ob}	10	jour^{-1}	Taux de différenciation des MSCs
F_{cob_0}	0,15	jour^{-1}	Taux de différenciation des MSCs induit par stimulation mécanique
β_{ob}	100	ng.ml^{-1}	Constante de concentration reliée à la différenciation des MSCs
d_{cob}	0,1	jour^{-1}	Taux d'apoptose des ostéoblastes
α	10^{-6}	$\text{(cellules.ml}^{-1}\text{)}^{-1}$	Constante réciproque de concentration cellulaire maximale
κ	10	$\text{(g.ml}^{-1}\text{)}^{-1}$	Constante réciproque de densité maximale de matrice extracellulaire
D_g	0,045	$\text{mm}^2.\text{jour}^{-1}$	Coefficient de diffusion des facteurs de croissance
G_g	0,5	$\text{ng.ml}^{-1}.\text{(cellules.ml}^{-1}\text{)}^{-1}.\text{jour}^{-1}$	Coefficient de sécrétion des facteurs de croissance
H_g	100	ng.ml^{-1}	Constante reliée à la sécrétion de facteurs de croissance
d_g	100	jour^{-1}	Taux de dégradation des facteurs de croissance
α_w	$2,5 \times 10^{-4}$	g.jour^{-1}	Coefficient de sécrétion d'os tissé
β_w	10	ng.ml^{-1}	Constante de densité reliée à la sécrétion d'os tissé
Q_{l_0}	$0,5 \times 10^{-6}$	$\text{mm}^3.\text{(g.jour)}^{-1}$	Coefficient de remodelage en os lamellaire induit par stimulation mécanique

Tableau 2 : Définition des paramètres. Les valeurs sont issues de la littérature [Gruler1984 ; Joyce1990 ; Coffey1990 ; Olsen1995 ; Friedl1998 ; Vander1998 ; Bailón-Plaza2001 ; Andreykiv2008 ; Amor2011]

2.4.2.2.3. Géométrie du modèle et implémentation numérique

La simulation numérique a été réalisée sous COMSOL Multiphysics 5.3. Il est considéré dans cette simulation un implant de type vis, présentant un filet trapézoïdal et implanté dans un os préalablement alésé au site d'implantation. Tenant compte des symétries du problème et afin de permettre des temps de calculs raisonnables, un seul filet et une seule chambre de régénération ont été modélisés (Figure 43).

Les propriétés matériaux sont indiquées dans le Tableau 3. La zone 4 correspond à de l'os qui a été endommagé par le perçage effectué par le chirurgien ; elle est composée à 50% d'os lamellaire.

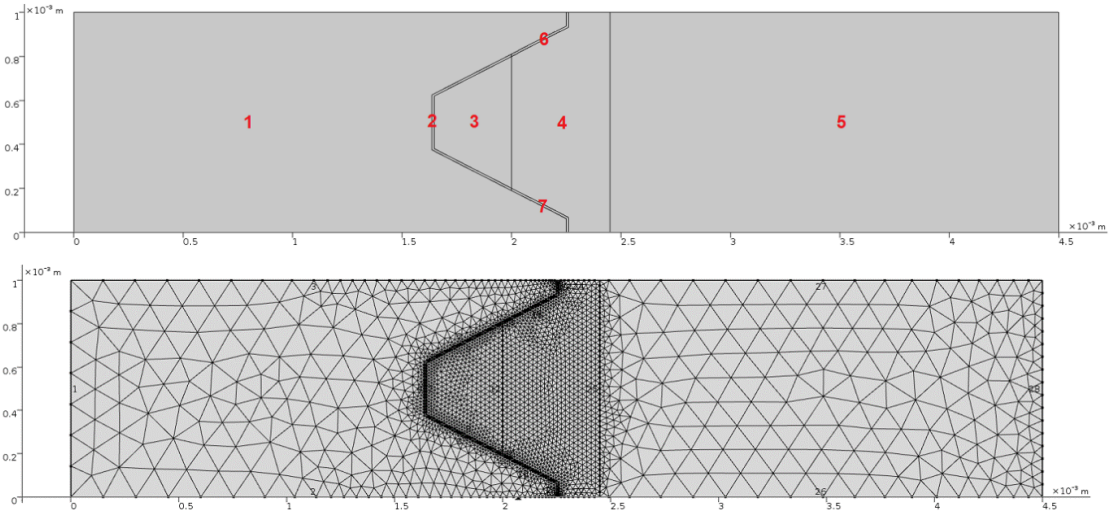


Figure 43 : Géométrie du modèle. 1) corps de la vis. 2, 7 et 8) surface de l'implant, simulant la présence d'un traitement de surface/d'une rugosité. 3) chambre de régénération de l'implant. 4) os endommagé par l'insertion de l'implant. 5) os environnant. Les zones 3 et 4 sont soumises à la régénération tissulaire. Le maillage est composé de 5000 éléments (qualités moy et min = 0,87 et 0,53).

Matériaux	Module d'Young (MPa)	Coefficient de Poisson	Perméabilité ($m^4N^{-1}s^{-1}$)	Porosité (%)
Tissu granulaire	0.2	0,167	1.10^{-14}	0,8
Os tissé	1 000	0,167	1.10^{-13}	0,8
Os lamellaire	20 000	0,3	1.10^{-17}	0,04

Tableau 3 – Propriétés mécaniques des tissus impliqués dans l'ostéogénèse [Andreykiv2008]

2.4.2.2.4. Conditions initiales et conditions aux limites

A l'état initial, la chambre de guérison est considérée comme remplie d'un tissu granulaire, tandis que l'os sain est constitué d'os lamellaire. Un déplacement très faible de $5\mu m$ est appliqué à l'os sain en limite du modèle sur une durée de 2 secondes, pour simuler un effort de compression cyclique modéré. Au même endroit, une condition de Dirichlet est appliquée telle que la pression du fluide interstitiel p_f soit nulle.

L'implant en titane étant considéré comme infiniment rigide, l'interface entre l'implant et la chambre de guérison ainsi que celle entre l'implant et l'os endommagé est considéré fixe. Des conditions de symétrie sont appliquées aux limites haute et basse du modèle, de façon à modéliser la répétition des filets de la vis. Concernant les conditions aux limites liées à l'activité biologique, des conditions de Dirichlet sont appliquées pour les concentrations en MSCs et en facteurs de croissance à la limite entre l'os sain et l'os endommagée, telles que $c_{m0} = 10^5$ cellules.ml⁻¹ et $g_0 = 10$ ng.ml⁻¹. Ces conditions de Dirichlet sont respectivement maintenues pendant 4 et 10 jours [Amor2011] et la prolifération cellulaire pendant 7 jours [Schmitt2015].

Pour modéliser l'effet d'un traitement de surface, à l'interface entre l'implant et l'os, la prolifération, différenciation et apoptose cellulaire, ainsi que la formation d'os tissé la production de

facteurs de croissances ont été modulés par des coefficients de pondération issus de données expérimentales in vitro [Lincks1998] (Tableau 4). De plus, de manière à modéliser l'impact du traitement de surface sur l'adsorption initiale des protéines contenues dans le sang, une condition de Dirichlet est appliquée pour les facteurs de croissance à cette même interface et maintenue pendant 10 jours, tel que $g_{0i}=2 \mu\text{g.ml}^{-1}$ (Figure 2.11c). Cette dernière valeur a été choisie de manière à rester dans les ordres de grandeur en termes de concentrations de protéines adsorbées sur des surfaces en titane [Sela2007]

Fonction du modèle	Coefficient de pondération
Taux de prolifération cellulaire (P_{cm}, P_{cob})	0,8
Taux de différenciation des ostéoblastes (F_{cob})	2
Taux d'apoptose des ostéoblastes (d_{cob})	0,5
Sécrétion d'os tissé (Q_w)	1,2
Production de facteurs de croissance (E_g)	2

Tableau 4 : Coefficients de pondération pour modéliser le traitement de surface de l'implant. [Lincks1998]

2.4.2.3. Résultats et Discussion

Nous avons observé un remplissage rapide de la chambre de guérison du filet de la vis en facteur de croissance ainsi qu'en MSCs se différenciant en ostéoblastes (Figure 44). De la semaine 1 à la semaine 4, les cellules continuent de migrer de l'os sain vers la surface de l'implant au sein de la chambre de guérison. La concentration cellulaire diminue lentement par la suite jusqu'à la fin de la simulation. Au cours de cette simulation, il est également observé la progression d'un front d'os tissé de l'os sain vers la surface de l'implant. Cet os tissé est rapidement remplacé par de l'os lamellaire au fur et à mesure de sa progression. Ces résultats sont en accord avec les observations in vivo de reformation osseuse péri-implantaire rapportées par Abrahamsson et al. 2004 [Abrahamsson2004]. Du point de vue quantitatif, les proportions d'os lamellaire relevées lors de la simulation concordent avec les observations expérimentales. Cependant, la simulation prédit une formation d'os tissé qui est plus lente que celle observée expérimentalement avec un pic au bout de seulement 2 semaines.

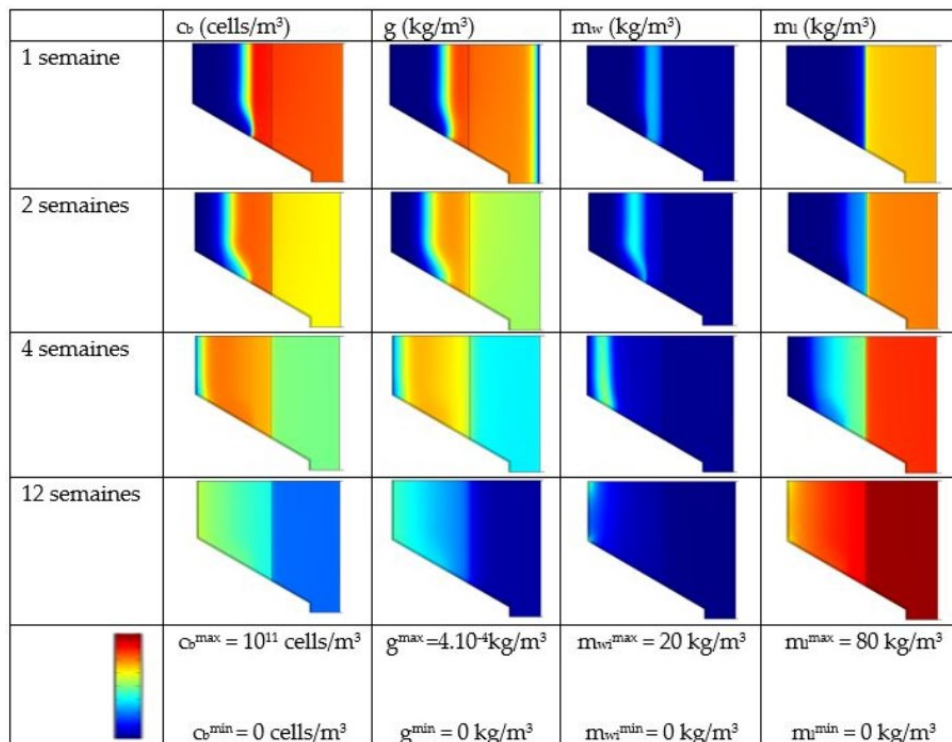


Figure 44 : Evolution de la concentration en ostéoblastes, en facteurs de croissance, en os tissé et en os lamellaire au fil des semaines qui suivent l'implantation. Implant non traité

Le traitement de surface de l'implant, comme il est représenté dans le modèle, a un impact important sur les motifs de comportement cellulaire et tissulaire simulés (Figure 45). En effet, le dépôt d'ostéoblastes et de facteurs de croissance en semaine 2 sont à l'origine de signes marqués d'ostéoconduction, au travers de la formation d'os tissé à partir de la surface de l'implant vers l'os sain. Ceci est observable en semaine 4. Une analyse plus précise des courbes résultats indique une diminution des facteurs de croissance à partir de la semaine 4. De plus, elle indique qu'un pic de formation d'os tissé est simulé en semaine 4, ce qui est 3 fois supérieur à la valeur de d'os tissé pour un implant non-traité à la même période. De même, la proportion d'os lamellaire à cette période est 2,5 fois inférieure à celle observée pour l'implant non-traité.

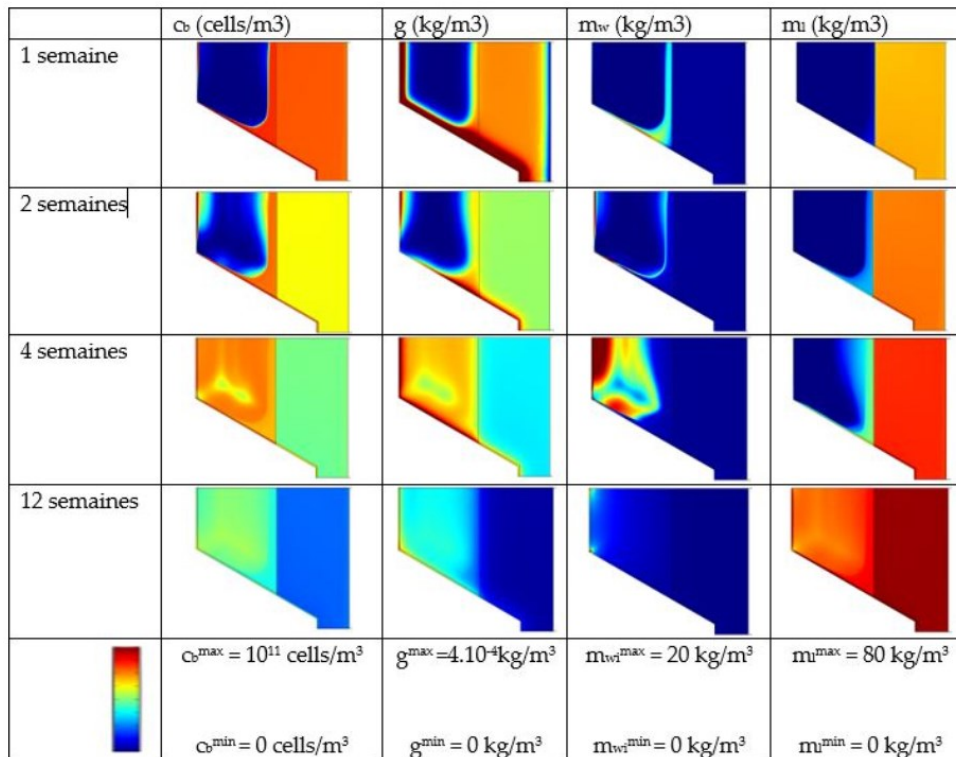


Figure 45 : Evolution de la concentration en ostéoblastes, en facteurs de croissance, en os tissé et en os lamellaire au fil des semaines qui suivent l'implantation d'un implant possédant un traitement de surface.

Les simulations montrent ici que le traitement de surface n'entraîne pas un remplissage plus rapide de la chambre en os lamellaire, mais plus un guidage de cette formation en suivant la surface de l'implant selon un phénomène d'ostéoconduction.

Par ailleurs, notre modèle met en évidence l'ostéoconduction et la formation d'une couche de tissu osseux à la surface de l'implant. Plusieurs observations similaires ont été faites in vivo, décrivant une "coque" osseuse autour de surfaces rugueuses et poreuses [Perrin2002].

Le modèle actuel est en meilleure corrélation avec les résultats expérimentaux que les autres modèles qui utilisent pourtant les mêmes données expérimentales. En outre, il met en évidence l'importance des facteurs biochimiques dans l'ostéointégration précoce des implants, qui ne peuvent être expliqués uniquement en termes de mécanique.

Une étude animale qui a été menée en collaboration avec l'Ecole Vétérinaire de Nantes est sur le point d'être terminée révélera l'impact réel du traitement de surface électrochimique de la surface de l'implant sur la régénération osseuse péri-implantaire, aux différents temps caractéristiques qui ont été simulés. Le modèle pourra être validé ou corrigé si besoin en fonction des résultats expérimentaux.

2.5. Modélisation biomécanique ostéo-articulaire macroscopique : exemple de la main

Ce travail a été initié il y a 5 ans dans le cadre d'une action incitative de l'ISM aidant les projets inter-équipes innovants. Laurent Vigouroux et Benjamin Goislard de Monsabert de l'équipe P3M développent un modèle musculosquelettique de la main de dynamique inverse. Grâce à ce modèle, ils sont capables d'estimer les forces musculaires et articulaires qui s'exercent au cours d'une tâche de préhension réalisée par un sujet et captée expérimentalement par analyse du mouvement et par électromyographie. Cette approche présente l'intérêt évident de fournir des estimations biomécaniques in situ, sujet-spécifiques. Malgré ses avantages, ce modèle a comme limite de ne pas reproduire la structure anatomique de la main du sujet, notamment la géométrie des segments osseux et des surfaces articulaires. Il ne peut pas estimer les pressions intra-articulaires associées à la préhension, ce qui limite son utilisation pour comprendre le facteur mécanique de l'arthrose des doigts de la main et du poignet.

Pour dépasser cette limite, nous avons proposé d'appliquer à la main ce qui a déjà été fait pour le genou, à savoir, combiner à l'approche musculosquelettique une approche par éléments finis qui s'appuie sur une reconstruction 3D des structures osseuses et cartilagineuse de la main. Dans cette modélisation hybride, les forces musculaires sont estimés par le modèle musculosquelettique à partir des mesures expérimentales de cinématique et de dynamique. Les forces musculaires sont ensuite utilisées comme conditions aux limites du modèle éléments-finis qui calcule les pressions articulaires associée à la préhension.

Ce projet s'est déroulé dans le cadre de plusieurs stages de M2 et de la thèse de Barthélémy Faudot qui a été soutenue en avril 2021 et que j'ai co-encadrée. Barthélémy Faudot est parvenu à développer par une approche hybride, un jumeau numérique de la main, sujet-spécifique, qui reproduit la préhension du sujet en termes de posture et de force mécanique et qui estime les pressions articulaires associée à la préhension en reproduisant de manière fidèle les structures ostéoarticulaires de la main du sujet. Ce jumeau numérique a été utilisé pour analyser le facteur mécanique de l'arthrose (Figure 46).

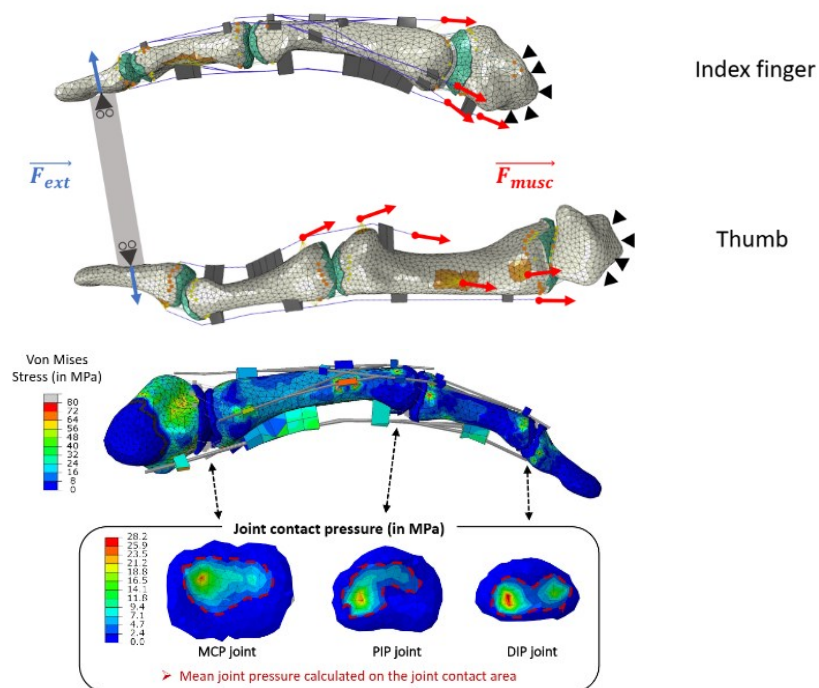


Figure 46 : Modèle hybride de la main. Estimation des pressions de contact par la simulation sujet-spécifique de la préhension pinch grip [Faudot2020]

Barthélémy Faudot a ainsi montré que l'arthrose de l'articulation TMC pouce pouvait s'expliquer par des niveaux de contraintes mécaniques les plus importants [Faudot2020].

Il a montré également que l'arthrose distale des doigts peut s'expliquer par des niveaux de contraintes là-aussi très importants mais seulement pour certains sujets privilégiant une certaine posture délétère de préhension pinch-grip, dans laquelle l'index est en extension (Fig. 47).

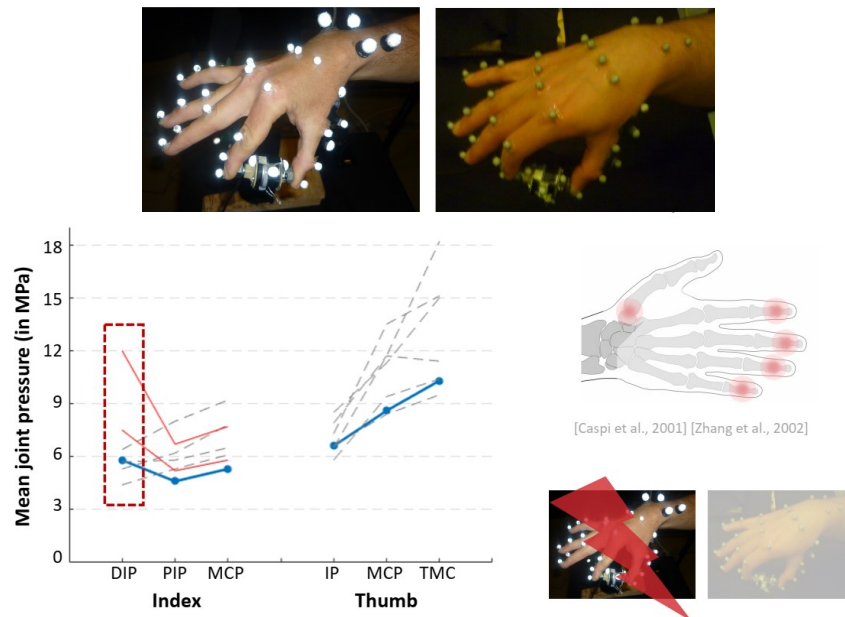


Figure 47 : 2 types de posture apparaissent chez les participants dans la tâche de préhension pinch grip avec une flexion ou au contraire une extension de l'index. Si une surcontrainte est constatée au niveau de l'articulation TMC à la base du pouce, pour tous les participants, des surcontraintes sont estimées dans l'articulation distale de l'index pour la posture de l'index en extension.

De plus ce jumeau numérique de main a permis de simuler la conséquence première de l'arthrose qui est un amincissement du cartilage articulaire et une diminution des propriétés viscoélastiques du cartilage. Ces simulations indiquent une augmentation des contraintes articulaires avec le grade d'arthrose. Le jumeau numérique a permis de quantifier la diminution des forces musculaires nécessaire pour revenir à des contraintes articulaires physiologiquement acceptables. Ce dernier point reproduit vraisemblablement la boucle d'adaptation de la préhension chez les personnes arthrosiques qui montrent une force de préhension maximale plus faible que chez les patients sains. Les signaux de surcontraintes articulaires amènent par une boucle reflexe et sans forcément impliquer la douleur une diminution de la force de préhension.

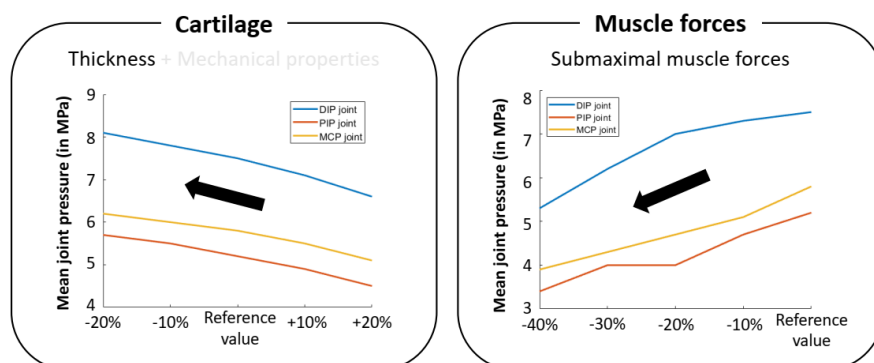


Figure 48 : Simulations des conséquences de l'arthrose. Les contraintes articulaires augmentent avec l'amincissement du cartilage articulaire qui est un effet direct de l'arthrose. En réponse pour réduire ces contraintes, le patient peut adapter sa stratégie musculaire et diminuer les contractions musculaires

Ce jumeau numérique de main a aussi permis d'analyser la performance biomécanique d'un implant soumis à des chargements musculaires physiologiques. Le jumeau numérique de main a ainsi permis de valider par l'expérience in silico, l'approche radiale de l'arthrodèse des os du poignet, en montrant qu'elle était mécaniquement équivalente à l'approche dorsale, qui est largement pratiquée mais qui présente certains inconvénients. En effet, l'approche dorsale perturbe le système tendineux et le réseau vasculaire qui se trouvent tous deux au niveau de la partie dorsale de la main. De plus, des complications sont possibles avec notamment des conflits entre la plaque et le radius lors de mouvements d'hyperextension du poignet [Kendall2005 ; Shindle2007 ; Skie2007].

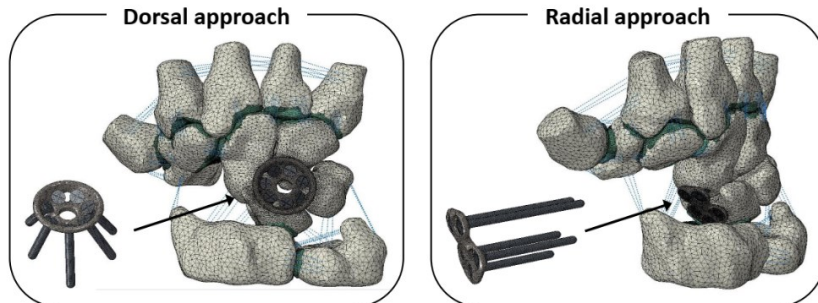


Figure 49 : Approche dorsale et radiale de l'arthrodèse quatre os du poignet

Barthélémy Faudot a simulé deux tâches de préhension pour caractériser biomécaniquement les deux approches chirurgicales (Figure 50). Sous chargement mécanique, la plaque radiale montre des contraintes équivalentes voire inférieures à la plaque dorsale. Elle est ainsi mécaniquement aussi efficace que la plaque dorsale. L'assemblage chirurgical radial, en cours de développement, présente donc une alternative prometteuse à la plaque dorsale actuellement implantée chez les patients.

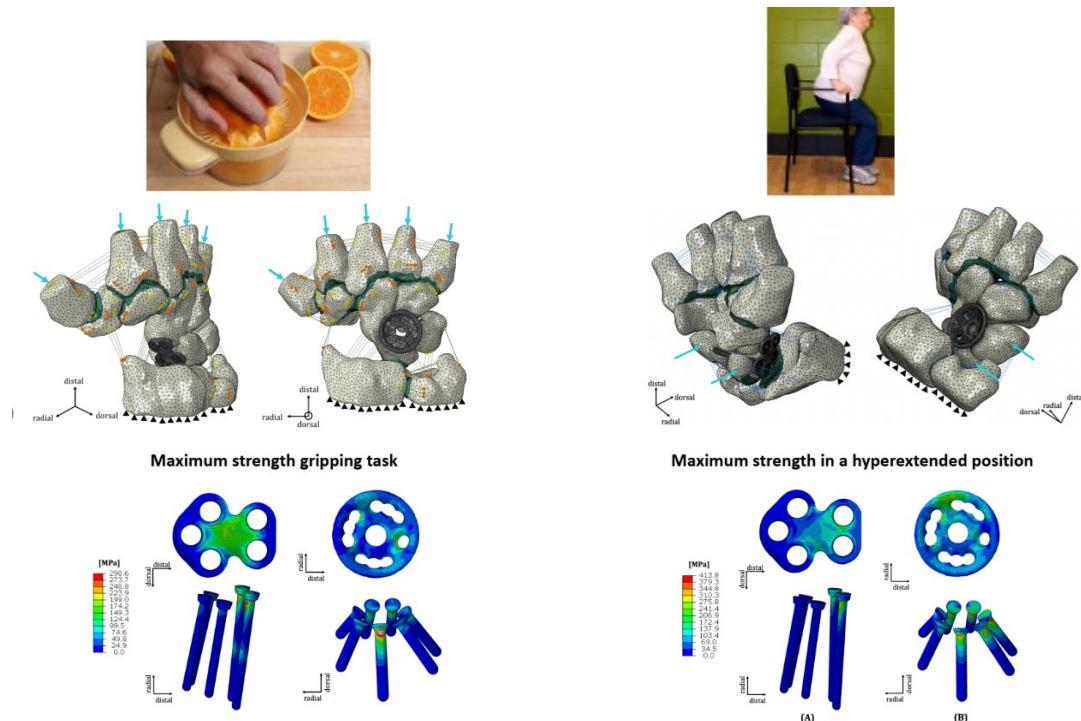


Figure 50 : Cas de chargement de force maximale de grip et de poussée maximale. Contraintes au sein de des plaques radiale et dorsale et des vis d'ostéosynthèse

Le jumeau numérique de main présente ainsi de nombreuses perspectives dans la prise en charge du patient, dans la prédiction et la prévention des risques d'arthrose et dans les cas où l'arthrose est déclarée, son traitement et la réhabilitation fonctionnelle de la main.

2.6. Conclusions

Je suis parvenu à construire en une décennie une approche *in silico* en mécanobiologie cellulaire qui réussit à interagir de manière étroite avec les observations *in vitro* et *in vivo* et propose de nouvelles hypothèses dans la compréhension de la mécanique cellulaire.

Mes recherches comptabilisent des publications scientifiques et s'appuient sur des encadrements de doctorants et post-doctorants.

Mon travail s'appuie également sur des collaborations nationales et internationales avec des chercheurs reconnus et mes travaux participent à ceux de la communauté scientifique.

Ma thèse a lancé ma carrière de chercheur sur l'étude du comportement mécanique de la cellule en interaction avec son environnement. Durant mon post-doctorat j'ai développé des modèles de différenciation cellulaire à l'échelle tissulaire. C'est à cette échelle que se réalisent par exemple la cicatrisation après un traumatisme et l'ostéointégration d'un implant. Cette échelle est de fait plus concrète et plus proche de la finalité de mon travail qui est le bénéfice du patient.

L'ingénierie tissulaire qui s'envisage à l'échelle mésoscopique et macroscopique repose cependant sur des processus locaux à l'échelle de la cellule. En retour, l'activité d'une cellule est en partie guidée par son environnement et par le reste de la population cellulaire. Ainsi les processus locaux dépendent eux-mêmes de la réponse aux échelles supérieures : le comportement local de la cellule doit aussi s'entendre aux échelles méso et macro.

La recherche que je développe depuis plusieurs années en ingénierie tissulaire est multi-échelle. Mes recherches sur la formation tissulaire m'ont permis de construire ma connaissance et mon expertise aux échelles méso et macroscopiques. Mon travail sur l'adhésion et la migration cellulaires interagit avec mon travail sur les tissus.

Comme beaucoup de chercheurs dans ce domaine, je voudrais concevoir un modèle résolument multi-échelle capable de relier dans la même simulation la cellule au tissu et le tissu à l'organe. Cela est tout à fait possible mais implique de simplifier la complexité de l'objet que j'observe.

Ce qui est certain est que je développe des approches cellulaires locales et des approches tissulaires méso et macroscopiques en lien avec la biomécanique du corps humain et que ma connaissance et mon expertise font le lien entre ces échelles. Lorsque je modélise un objet à une échelle donnée je n'ignore pas ce qui se passe dans une autre échelle.

La même logique et la même intuition guident le développement de mon approche *in silico* en parallèle de l'*in vitro* et l'*in vivo*.

Le projet de recherche que je propose entend pousser plus loin la confrontation de ces différentes échelles, micro, méso, macro, *in vivo*, *in vitro* et *in silico* pour répondre à la question : Comment améliorer le design de substrats 3D pour l'ingénierie tissulaire ? En basant ce design sur des résultats de simulation *in silico* de comportements cellulaires.

3. HDR le Projet

Dans les pages qui suivent je présente mes perspectives de recherche en modélisation mécanobiologique des processus cellulaires. Je les ai structurées en différents sous-projets, résultat d'une réflexion personnelle qui se nourrit des interactions avec mes partenaires scientifiques.

Ces projets sont exploratoires et risqués mais aussi ambitieux et tentent de proposer une rupture dans la démarche scientifique. Ces projets sont également structurants en termes de ressources humaines et visent à constituer une équipe autour des questions abordées. Mon projet de recherche a ainsi vocation à impliquer des doctorants et des post-doctorants dans des analyses *in silico* à la pointe de l'état de l'art en mécanobiologie cellulaire.

3.1. Décrypter in silico les mécanismes dynamiques de curvotaxie

Mon modèle cellulaire actuel explique déjà la curvotaxis par les mouvements internes du noyau comme mécanosenseur. Je souhaite y intégrer une meilleure représentation du lamellipode, de la dynamique de l'actine et des points focaux, qui sont les mécanismes responsables de l'adhésion et la migration, et qui jouent également un rôle important dans le guidage par la topographie et potentiellement dans la curvotaxie.

L'idée est d'abord de construire un avatar cellulaire in-silico capable de simuler de manière réaliste la cinétique de migration qui résulte d'une réorganisation et d'une mise en action mécanique du cytosquelette de la cellule qui sont toutes deux dynamiques. Il s'agira ensuite de déterminer si la curvotaxie résulte de la compétition ou de la coopération entre ces différents mécanismes intracellulaires.

3.1.1. Etat de l'art

La plupart des modèles simulant la migration cellulaire considèrent la cellule comme un milieu continu et reproduisent la dynamique du cytosquelette par des équations de réaction-diffusion. Parmi ceux-ci, les modèles par champ de phase parviennent à décrire l'étalement et la migration cellulaires basés sur la formation d'un lamellipode contractile à l'avant de la cellule (voir Figure 13). Ces modèles résolvent le mouvement cellulaire comme un problème de frontière mobile qui représente la membrane cellulaire. L'intérieur de la cellule est représenté par un gel actif qui est capable de se polymériser ou de se dépolymériser et de se contracter, ce qui génère des flux d'actine à travers la cellule. La modélisation par champ de phase consiste essentiellement à résoudre 2 équations différentielles partielles. La première pilote l'évolution du champ scalaire représentant la phase cellulaire dans l'environnement. La seconde pilote, via une formulation de réaction-diffusion, l'évolution du champ vectoriel décrivant la dynamique de l'actine en termes de concentration, diffusion, (dé)polymérisation, orientation et degré d'ordonnement parallèle des filaments d'actine et de contraction de la myosine.

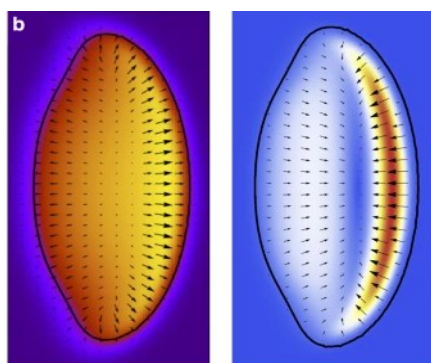


Figure 13 : Modèle par champ de phase de la migration cellulaire. Distribution de l'actine (à gauche) et force de traction exercée sur le substrat (à droite) par une cellule migrante. Les flèches indiquent l'orientation de l'actine interne et des forces de traction. Le rouge (bleu) correspond aux valeurs max (min) du champ de phase et de la force de traction, respectivement. [Löber2014].

Les modèles de champ de phase ont révélé que le confinement, la courbure du substrat et la topographie modulent les flux et l'organisation de l'actine et peuvent induire des changements dans la polarisation et la direction de migration de la cellule en fonction des contraintes imposées par la topographie (Figure14) [Tjhung2015 ; Winkler2019 ; Marzban2019].

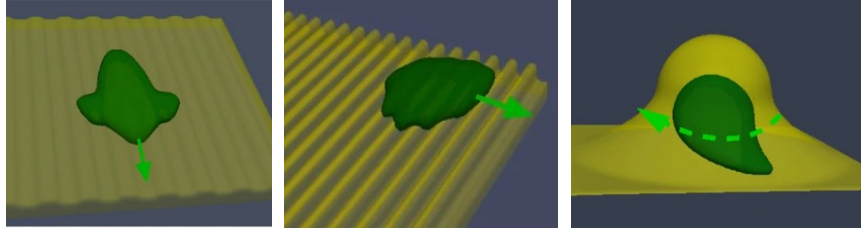


Figure 14 : Modélisation par champ de phase du guidage cellulaire par la topographie. Le modèle cellulaire migre le long ou perpendiculairement aux canaux en fonction de leur longueur d'onde c) Le modèle cellulaire migre en évitant les zones convexes de la courbe gaussienne. [Winkler 2es 019]

Ces modèles montrent, en accord avec les observations *in vitro*, que la protrusion du lamellipode, la dynamique des points focaux d'adhésion et la dynamique de l'actine sont des mécanismes dont la polarisation est affectée fortement par la topographie de surface. Néanmoins, ces modèles ne décrivent pas l'architecture réelle du cytosquelette ni l'interaction entre le noyau et le cytosquelette qui est un des mécanismes de la curvotaxie. Notre modèle cellulaire actuel le fait, même s'il représente le lamellipode et les adhésions focales comme des structures très basiques.

3.1.2. Modéliser les mécanismes dynamiques de migration

Le modèle cellulaire actuel sera amélioré en introduisant toutes les sous-structures cellulaires impliquées dans l'étalement et la migration cellulaire : protrusion lamellipodiale ; dynamique des adhésions focales ; polymérisation de l'actine à l'avant et dépolymérisation à l'arrière ; contraction de l'actomyosine et flux d'actine induit de l'arrière vers l'avant ; réorganisation des microtubules qui sont impliqués dans la polarisation cellulaire (Figure 15). Cela permettra d'améliorer la modélisation de la curvotaxie qui peut résulter de mécanismes combinés.

Nous simulerons la protrusion lamellipodiale comme un ensemble de particules émises à la périphérie de la cellule. Pour représenter le réseau d'actine du lamellipode, ces particules seront interconnectées par des lois d'interaction élastiques de type poutre précontrainte capables alternativement de résister à la compression pour pousser la membrane cellulaire et de se contracter pour tracter la cellule vers l'avant en tirant sur les nouvelles adhésions focales que ces particules seront capables d'établir à la surface du substrat.

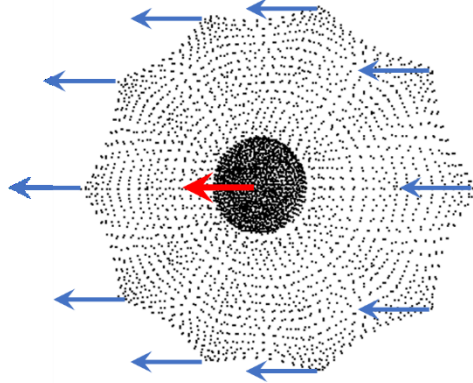
Nous reproduirons la dynamique de l'actine pendant la migration cellulaire en introduisant des lois d'interaction adaptatives dans le modèle. La polymérisation et la dépolymérisation de l'actine seront contrôlées en augmentant et en diminuant respectivement la densité et la connectivité (ou réticulation) du réseau d'actine. La contraction de l'actomyosine sera activée en introduisant une valeur de précontrainte dans les lois d'interaction de l'actine.

Nous contrôlerons la dynamique des adhésions focales individuellement via une loi évolutive du contact adhésif avec le substrat depuis la création du complexe d'adhésion, sa maturation en une adhésion stable et enfin son détachement.

Ces lois d'interaction évolutives seront codées dans LMGC90 de manière à ce qu'elles évoluent directement en cours de calcul de la migration cellulaire. Cela permettra d'optimiser le calcul et de gagner du temps de simulation.

Current Cell Model

Cell motion guided only by internal motion of nucleus due to substrate curvature gradient



WP1 : Improvement of Cell migration Modelling

Modelling of Lamellipodium & actin dynamics that polarize due to gradient curvature by themselves and/or by nucleus motion

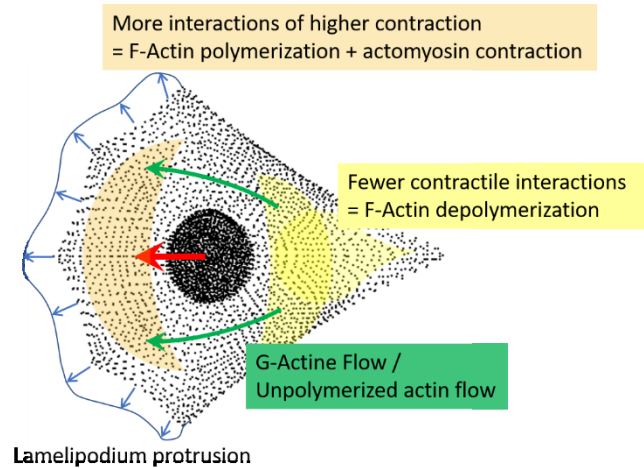


Figure 15 : Nous introduirons la dynamique de la protrusion lamellipodiale et de l'adhésion focale ainsi que la dynamique de l'actine et nous analyserons leur contribution à la polarisation cellulaire induite par la courbure.

Les lois d'interaction évolutives décrivant la dynamique de l'actine peuvent être pilotées dans le code LMGC90 par des équations de réaction-diffusion régissant la (dé)polymérisation de l'actine et le flux d'actine dans la cellule. Ici, nous pourrions également mettre en œuvre une approche multi-modèles. Le modèle par champ de phase, mentionné dans l'état de l'art, est complémentaire de notre modèle cellulaire. Notre modèle est plus réaliste de la structure du cytosquelette mais n'inclut pas jusqu'à présent la restructuration profonde du cytosquelette. Le modèle de champ de phase pourrait être utilisé pour calculer la dynamique de l'actine. Les informations sur l'organisation de l'actine pourraient alors être extraites et utilisées pour générer un cytosquelette plus précis dans notre modèle. Notre modèle calculerait l'état mécanique à partir de ces clichés instantanés de l'organisation intracellulaire de l'actine. Cette approche multi-modèles affinerait l'estimation des contraintes mécaniques dans les sous-structures cellulaires telles que le noyau et les adhésions focales.

3.1.3. Modéliser la polarisation cellulaire comme un effet de la curvotaxie

Nous allons implémenter le modèle cellulaire qui aura été développé pour étudier la polarisation des mécanismes de la migration cellulaire que nous avons décrits précédemment. La protrusion lamellipodiale, la polymérisation et la dépolymérisation de l'Actine, la dynamique des adhésions focales sont des mécanismes fortement polarisés pendant la migration cellulaire. D'une part, la polarisation de ces mécanismes en fonction de la topographie peut être une conséquence directe de la sensibilité de ces mécanismes à la topographie. Par exemple, la protrusion lamellipodiale pourrait être facilitée directement par une topographie concave ; la protrusion lamellipodiale pourrait être aussi facilitée par le flux interne d'actine causé par un gradient de pression intracellulaire dû à un gradient de courbure du substrat sous-jacent, avec une pression plus faible dans les zones concaves.

D'autre part, la polarisation des mécanismes de migration cellulaire sur des topographies particulières peut également résulter d'une signalisation intracellulaire induite par la topographie telle que le décentrage du noyau comme proposé dans le modèle actuel. Dans un tel cas, la polarisation de la protrusion du lamellipode et la dynamique de l'actine et des adhésions focales seraient pilotées indirectement par le mouvement interne du noyau en tant que mécanosenseur de la topographie.

Ces stratégies seront analysées et comparées en utilisant l'avatar cellulaire in silico. Les changements de polarisation de la cellule pendant la migration pourraient être modélisés comme des changements complets d'orientation de la machinerie intracellulaire. Ils pourraient également être modélisés comme une réorientation de l'ensemble de la cellule, la machinerie intracellulaire conservant son orientation initiale.

3.1.4. Implémentation de la cellule in silico dans le Projet ANR Aminocoat

Le modèle pourra ensuite être utilisé pour proposer et de tester des hypothèses plus pointues concernant l'influence du substrat sur la migration cellulaire comme notamment la compétition entre topographie et biochimie de surface au cours de l'étalement et la migration cellulaires. Cette question est celle du projet ANR Aminocoat qui a été financé pour 3 ans à partir de janvier 2021 et auquel je participe en tant que responsable de la tâche dédiée à la modélisation in silico. Le projet prévoit le financement du développement du modèle et son implémentation pour expliquer comment la biochimie de surface peut annuler l'influence de la topographie dans le guidage de l'étalement et de la migration cellulaire.

La topographie de surface des implants permet normalement de guider l'adhésion et la migration cellulaire. La création de rainures à la surface entraîne normalement un confinement des cellules au sein de ces rainures [Anselme2005]. On appelle ce phénomène le contact guidé. Un phénomène surprenant a été observé lorsque ces surfaces étaient recouvertes d'un coating riche en amines (poly allyamine). La fonctionnalisation à l'amine de substrats de silicium recouverts de titane géométriquement rainurés avec un polymère plasmatisé de poly allyamine a permis d'abroger le guidage du contact cellulaire le long des microsillons (Figure 11) [Moerke2017].

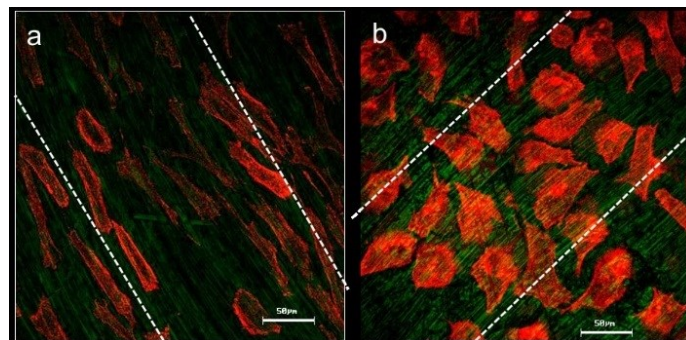


Figure 11 : Alignement des cellules MG-63 à 24 h sur du titane usiné non traité (Ti-M) (a) et Ti-M recouvert de revêtement polymère plasma poly allylamine (b). L'actine est colorée en rouge. La direction des rainures de la surface est indiquée par les pointillés. Sur le Ti-M non traité, les cellules sont allongées le long des rainures (a) mais pas sur la surface fonctionnalisée par plasma (b). Ici, en raison de la dominance de la poly allylamine, l'étalement des cellules n'est pas orienté. LSM 410, bar = 50 μ m.

Ce projet repose sur une collaboration avec J. Barbara Nebe, à Rostock et Matthias Schnabelrauch, à Jena, en Allemagne et Karine ANSELME, à Mulhouse. Ce projet a fait l'objet d'un dépôt en réponse à l'appel à projets franco-allemands 2020 auprès de l'ANR et de la DFG allemande.

Ce phénomène qui abolit l'effet de la topographie implique certainement une dynamique spécifique de formation de lamellipodes et d'adhérence focale (Figure 12). L'idée est ici de proposer une explication mécanobiologique à ce phénomène en utilisant le modèle cellulaire in silico pour calculer la mécanique cellulaire sur les différents revêtements et élucider le mécanisme de réponse cellulaire.

Dans le cadre du projet Aminocoat nous simulerons l'étalement et la migration cellulaire sur des substrats micro-rainurés en contrôlant la densité et la force des sites potentiels d'adhésions. Nous

testerons l'hypothèse qui soutient qu'une plus grande adsorption et une conformation plus efficace des protéines adhésives aux cellules sur des nanocouches organiques riches en amine permet aux cellules de s'étaler et de migrer en surmontant les obstacles topographiques. Les simulations pourraient indiquer le seuil de densité et de force du site d'adhésion à partir duquel la chimie surmonte la topographie.

Le modèle représentera la dynamique du lamellipode à la fois en condition de contrôle et sur des nano-couches organiques riches en amine. En combinaison avec l'observation in vitro, le modèle aidera à comprendre la dynamique du lamellipode. Ainsi les simulations d'étalement cellulaire pourront indiquer si les cellules peuvent surmonter la topographie grâce à une plus grande dynamique du lamellipode sur un revêtement amine.

Pour fournir des résultats cohérents, le modèle cellulaire sera étalonné pour obtenir une rigidité équivalente à celles des cellules MG-63 et hMSCs. Le modèle in silico sera calibré en ajustant les tests AFM que les collaborateurs du LiPhy (Grenoble) effectueront sur les cellules MG-63 et les hMSCs.

Le projet Aminocoat permettra le développement et du modèle cellulaire et son application directe. Ce projet aura comme bénéfice sur le modèle cellulaire, une meilleure représentation des mécanismes dynamiques de migration et de curvotaxie.

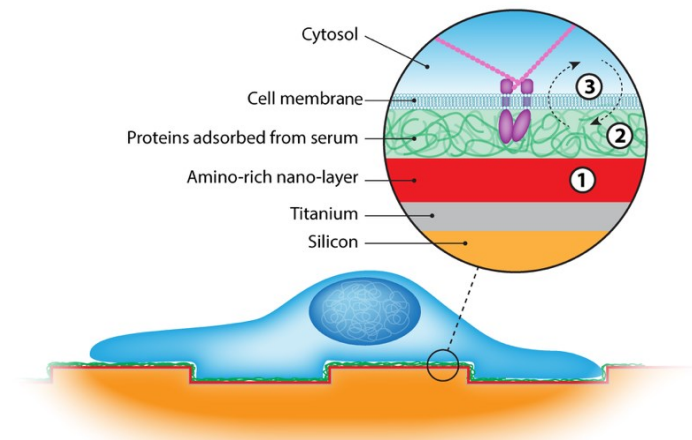


Figure 12 : La supériorité du revêtement amines par rapport à la topographie dans l'étalement cellulaire

3.2. Modéliser la migration cellulaire guidée par une topographie dynamique

3.2.1. Introduction du concept de topographie dynamique

La topographie du substrat influence toutes les grandes fonctions cellulaires qui s'établissent à l'interface avec le substrat. Du point de vue expérimental, il est par conséquent pertinent de considérer la topographie comme un facteur à moduler pour contrôler le comportement cellulaire.

Ainsi proposer des topographies de géométries variées permet d'observer des comportements cellulaires inédits et de discriminer des tendances cellulaires en termes de position, de morphologie, de polarisation ou de direction de migration. Par exemple en soumettant les cellules à des motifs topographiques dissymétriques et répétitifs, les cellules se polarisent et migrent dans une direction privilégiée (Figure 1). Ces observations réalisées par les chercheurs des groupes de Daniel Riveline et de Matthieu Piel ont ainsi permis de mettre en évidence ce phénomène qu'ils ont nommé « ratchetaxie » en s'inspirant du mécanisme à cliquet qui permet à une roue à rochet de tourner dans un seul sens [Caballero2015]. Néanmoins, ces substrats ne facilitent pas pour autant le processus de migration cellulaire. Les cellules choisissent simplement la direction qui impose le moins de déformations cellulaires et/ou qui implique de moindres dépenses énergétiques.

Ce type de travaux in vitro renseigne sur le comportement des cellules et leur capacité d'adaptation. Ces informations sont utiles pour apporter des améliorations possibles au design des futurs biomatériaux pour stimuler l'adhésion, la migration, la prolifération ou la différenciation selon la fonction recherchée.

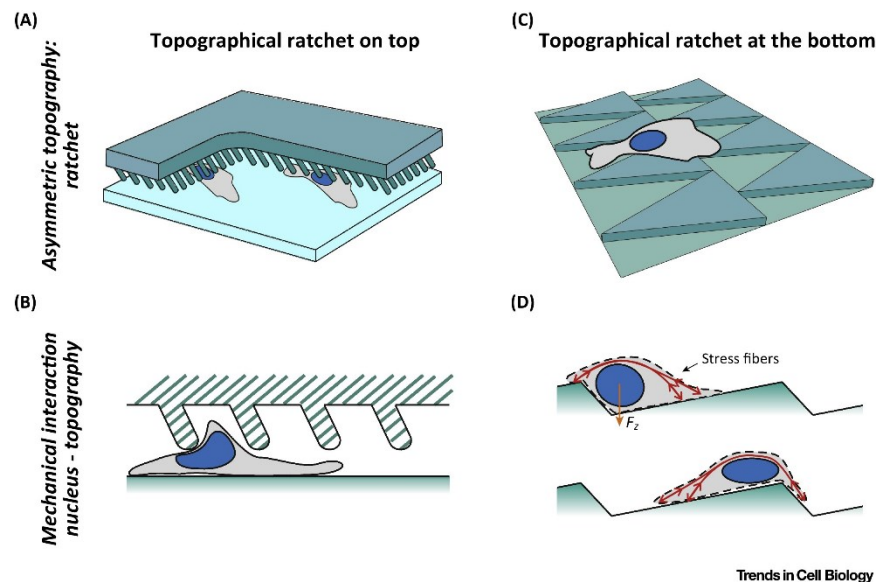


Figure 1 : Le noyau et son rôle indirect sur la polarisation directionnelle de la migration des cellules lorsqu'elles sont en présence de substrats asymétriques. (A) les cellules confinées sont amenées à se déplacer dans le sens des poils du substrat. (B) explication par l'interaction mécanique entre le noyau cellulaire et les micro-piliers inclinés. (C) Sur un substrat possédant des pentes asymétriques, les cellules progressent dans le sens de la moindre pente. (D) explication par la tension apicale générée par le cortex d'acto-myosine qui rend compliqué le mouvement ascendant du noyau et le franchissement de pente trop importante [Caballero2015].

Cependant toutes ces études in vitro qui analysent l'influence de la topographie sur le comportement cellulaire, et sur la migration cellulaire en particulier, reposent sur des topographies définies et figées. En effet, il est compliqué techniquement et expérimentalement d'envisager un substrat dynamique, possédant une surface mouvante. Malgré tout, il y a presque une antinomie à étudier la

migration cellulaire, processus hautement dynamique sur des supports figés, d'autant que l'environnement cellulaire in vivo est lui très évolutif et que rendre dynamiques les substrats utilisés in vitro pourraient favoriser la mobilité des cellules et diriger leur migration.

Développer des topographies évolutives serait une voie certaine dans l'amélioration du design des substrats pour la culture cellulaire. La culture des cellules souches, par exemple, pourrait s'envisager dans un environnement 3D, en contact avec un matériau, une surface, ou une matrice fibreuse qui aurait la capacité de faire varier sa topographie selon que l'on cherche la viabilité des cellules en leur proposant un état quiescent ou au contraire un état de stress qui va les pousser à migrer ou se différencier. Ces matériaux contrôlables pourraient changer leur conformation pour s'adapter au temps cellulaire et à la fonction cellulaire recherchée.

Des matrices poreuses à la topographie dynamique stimulant en continue la migration cellulaire favoriseraient l'invasion cellulaire qui est le point crucial en ingénierie tissulaire. En effet, tous les biomatériaux développés jusqu'à présent, montrent la colonisation cellulaire toujours insuffisante pour aboutir à une réelle formation tissulaire volumique. Développer des matrices poreuses à topographie dynamique est une proposition originale, favorisant une mobilité naturelle des cellules par migration et alternative aux méthodes mécaniques classiques comme la perfusion ou le pompage de cellules en suspension, méthodes qui peuvent endommager les cellules. Les substrats à topographie dynamique pourraient être aussi une alternative aux méthodes biochimiques employant des facteurs chimioattractants.

3.2.2. Etat de l'art des substrats dynamiques

Un nombre croissant d'études s'intéressent au développement de substrats dynamiques en proposant des solutions techniques multiphysiques innovantes. Si concevoir des substrats aux propriétés modulables reste un défi, certains groupes de scientifiques sont parvenus à fabriquer in vitro des ébauches de supports cellulaires de ce type pour recréer des scénarii in vivo.

Kloxin et al. ont, par exemple, développé un monomère photodégradable pour synthétiser des hydrogels qui se dégradent en réponse à la lumière [Kloxin2009]. Ils ont exploité cette technique physique pour créer une plate-forme de culture cellulaire 2D dont l'élasticité peut être réglée sur une large gamme de modules et modifiée ensuite en temps réel en exposant le substrat à la lumière [Kloxin2010]. Ils ont montré que des modifications locales de rigidité pouvaient influencer le processus de différenciation des fibroblastes en myofibroblastes, mais également qu'une modification de rigidité inverse pouvait dé-différencier les myofibroblastes. Leurs résultats indiquent cependant que la migration cellulaire n'est pas affectée par l'apparition dynamique d'un gradient de rigidité. Des développements futurs sont donc nécessaires pour utiliser cette technique afin de stimuler la migration.

Le groupe de Laura De Laporte de l'Université d'Aachen en Allemagne développe également un système pulsatoire photosensible à partir d'un hydrogel dont la rigidité augmente avec l'exposition à la lumière, et ce de manière réversible [Chandorkar2019]. Le système pulsatoire est actionné et contrôlé spatio-temporellement par le déclenchement cyclique de lumière infrarouge qui permet une réticulation transitoire de l'hydrogel thermosensible et une contraction localisée de celui-ci (Figure 2). Des forces mécaniques de l'ordre du nanoNewton s'exercent sur les cellules cultivées à la surface de l'hydrogel à des fréquences allant jusqu'à 10 Hz. En particulier, ces microdéformations agissent, selon l'amplitude, la durée et la fréquence d'activation, sur les processus de mécanotransduction en entraînant la translocation de facteurs de transcription reliés des protéines mécanosensibles. Cependant, là encore, l'actionnement du substrat ne permet pas de stimuler la migration cellulaire. Au contraire elle réduit la vitesse de migration cellulaire, en augmentant toutefois sa persistance à savoir, la longueur moyenne de déplacement suivant une même direction. Ce système a plutôt tendance à favoriser l'adhésion en stimulant la création d'adhésions focales [Chandorkar2019]. Si la technique est intéressante, des développements futurs sont ici aussi nécessaires pour l'utiliser dans le but de stimuler la migration cellulaire.

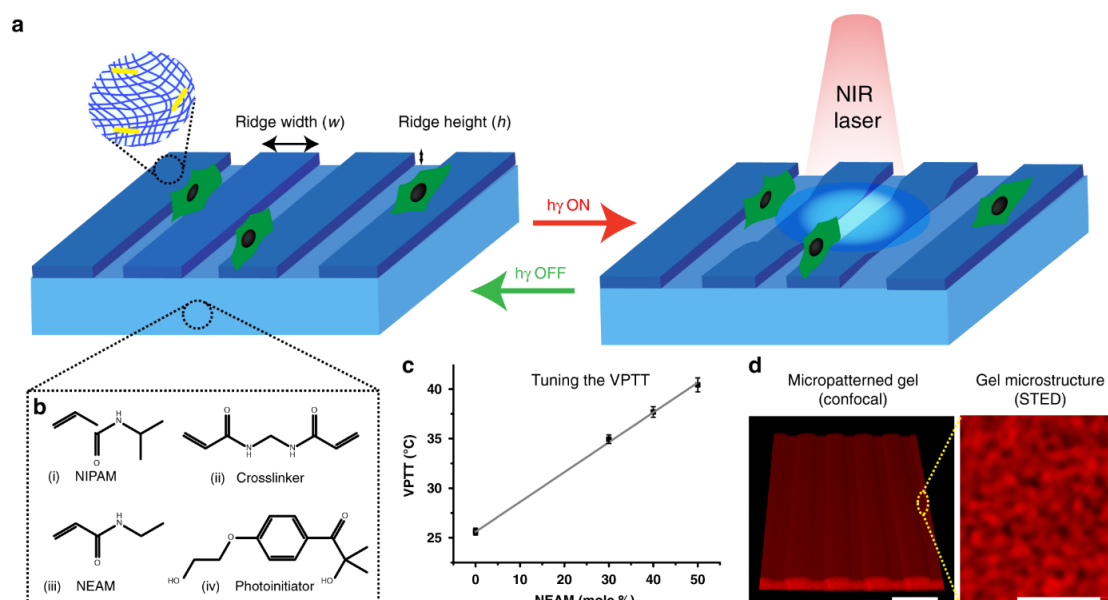


Figure 2 : a) Principe d'actionnement des hydrogels thermosensibles. Le gel contient des AuNR. Lorsqu'un laser brille sur le gel, les AuNR convertissent la lumière en chaleur et la température augmente localement dans le gel qui par suite s'affaisse. Un laser pulsé entraîne un battement de la surface du gel. b) Les films de gel sont préparés avec des monomères NIPAM et NEAM et des agents de réticulation et des photo-initiateurs. c) La température de transition (VPTT) des gels est réglé à 37 ° C. d) Image confocale 3D d'un film d'hydrogel avec des crêtes et des vallées de 25 μm , barre d'échelle = 50 μm . Microscopie STED de gels à 37 ° C, montrant la microstructure du gel, barre d'échelle = 1 μm . [Chandorkar2019].

Le groupe de Christopher Chen, de l'Université de Boston présente une technique innovante pour guider la migration cellulaire en activant localement le substrat pour le rendre adhésif [Raghavan2010]. Le substrat utilisé est constitué de trois régions spatialement et fonctionnellement distinctes : la première est en permanence non adhésive aux cellules, la seconde est définitivement adhésive et la région finale est commutée électrochimiquement de non adhésive à adhésive. La fabrication de ce substrat fait appel à des techniques d'impression de monocouches de protéines adsorbées (Figure 3). En créant à l'aide de cette technique, un réseau de voies de migration possibles à travers le substrat, ces chercheurs ont, par ailleurs, montré l'implication de la communication intercellulaire dans le guidage et la prise de décision cellulaire. Cette technique de commutation des zones d'adhésion en zones de non-adhésion et inversement pourrait être un moyen intéressant pour moduler de manière dynamique la topographie d'un substrat du seul point de vue de la cellule, en commutant seulement les propriétés chimiques du matériau sans modifier son architecture spatiale.

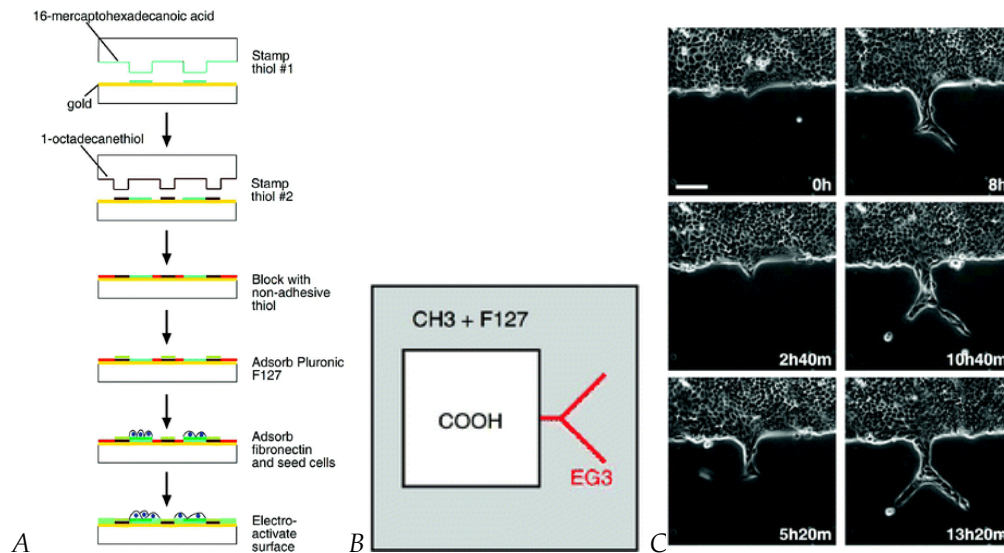


Figure 3 : A) Schéma de méthode pour préparer des substrats avec trois domaines fonctionnellement différents : un adhésif aux cellules ou aux protéines, un non adhésif aux cellules ou aux protéines et un initialement non adhésif mais qui peut être commuté électrochimiquement pour devenir adhésif aux cellules ou aux protéines. [Raghavan2010] B) Contrôle géométrique de la migration cellulaire. B) Schéma de modélisation pour la migration restreinte de cellules MDCK sur des surfaces à motifs trifonctionnelles CH₃, COOH, and EG3. Les cellules ont été cultivées pendant 2 jours jusqu'à ce qu'elles atteignent la confluence dans les carrés adsorbés au COOH de 1500 μm \times 1500 μm et sont amenées à migrer dans le domaine EG3 après commutation du substrat C) Instantanés de cellules migrant dans le motif ramifié après qu'il a été commuté électrochimiquement à -1 V pendant 60 s avec adsoption de fibronectine. Barre = 100 μm . [Raghavan2010]

Des chercheurs ont également développé, en microfluidique, des substrats dynamiques pilotés par stimulation ultra sonore générant des trains d'ondes de surface, acoustiques et progressives, capables de déformer la surface de substrat et de moduler dynamiquement sa topographie. Lorsque ce système est mis en contact avec du fluide et des cellules en suspension, ces vaguelettes de surface sont capables de les entraîner [Bok2009]. Si la technique est intéressante, la fréquence de la modulation de la topographie de surface de l'ordre du MHz est bien trop élevée pour rendre possible toute adhésion cellulaire viable. D'autres chercheurs ont développé une technique ultrasonore, de très haute fréquence, mais générant une onde acoustique de surface stationnaire. Cette technique permet de générer une topographie ondulée à la surface d'un substrat déformable (Figure 4) [Li2014]. Cette technique permet de trier les cellules en les maintenant dans les nœuds des oscillations. Cependant, là aussi, cette technique ne fonctionne qu'avec des cellules en suspension dans un fluide et n'est pas compatible avec l'adhésion et la migration cellulaires. En effet, même si les ondes génèrent une surface en apparence stationnaire, les oscillations étant à très haute fréquence, les déplacements de la surface du substrat sont très rapides et ne permettent pas aux cellules d'y adhérer.

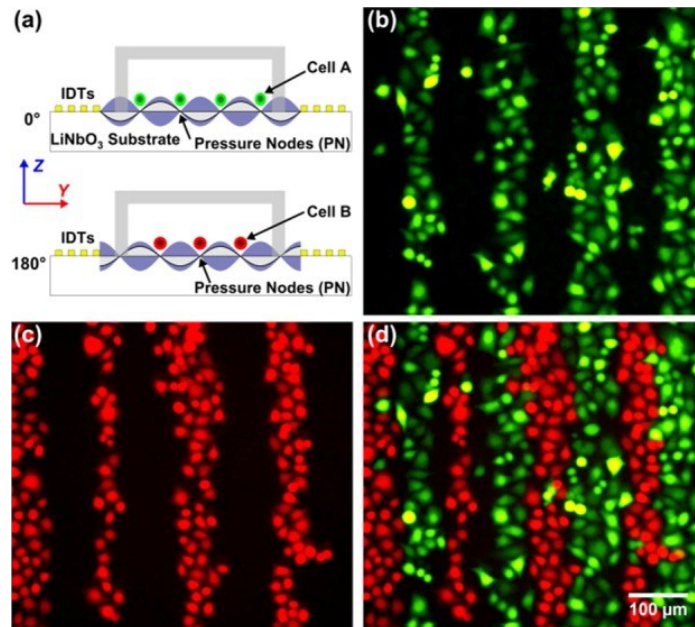


Figure 4 : Coculture avec motif cellulaire séquentiel basé sur SSAW. (a) Mécanisme de structuration de deux types de cellules dans des positions différentes avec l'approche par déphasage. (b) Image fluorescente verte montrant les premières cellules HeLaensemencées. (c) Image fluorescente rouge montrant des cellules HeLaensemencées. (d) Image fusionnée montrant des cellules HeLa vertes et rouges cultivées en lignes alternées.

Pour conclure, si des techniques multi-physiques sont développées pour mettre au point des substrats dynamiques capables de stimuler localement la réponse cellulaire à la demande, aucune étude n'est encore parvenue à créer une topographie dynamique pour guider la migration cellulaire de manière efficace. Ainsi il me semble pertinent de proposer des analyses *in silico* à valeur de preuves de concept pour établir que la topographie dynamique est, ou non, un facteur stimulant la migration cellulaire. Dans l'affirmative, cette analyse définirait le cahier des charges de la ou des future(s) technique(s) capable(s) de déformer *in vitro* la surface du substrat pour faire migrer les cellules.

Les difficultés techniques de mise au point des substrats dynamiques limitent l'exploration expérimentale. L'expérimentation *in silico* permet de pallier ce problème en testant des situations pour le moment irréalisables tout en permettant d'identifier 1) un comportement cellulaire inédit et 2) des microstructures dynamiques et leurs modes de déformations associées capables de stimuler les cellules. Les modèles *in silico* ont le double avantage d'être souvent les seuls moyens d'accéder à certains types de données et de pouvoir tester des théories complexes. Sur la base de ces résultats, nous serions capables d'imaginer des solutions techniques, réalisables pour retrouver *in vitro* et *in vivo* la réponse cellulaire prédite par le modèle.

La conception de matrices poreuses déformables et dynamiques pour l'ingénierie tissulaire, favorisant la prolifération et l'invasion des cellules en l'absence ou en complément de revêtements chimiques synthétiques, pourraient certainement bénéficier des approches mécanobiologiques *in silico* développées sur tous ces points clés.

De plus, le recours à la simulation *in silico* peut aussi s'entendre durant l'expérience *in vitro*. De la même manière que toutes les franges du réel intègrent aujourd'hui un grand nombre d'algorithmes pour créer ce que l'on nomme *la réalité augmentée*, de même le développement d'une cellule virtuelle peut être vu comme un système *augmentant* les cellules vivantes. Selon cette approche, l'évolution des cellules vivantes serait prédite par la cellule virtuelle et en fonction du résultat les conditions de culture du système biologique seraient ajustées en temps réel. Autrement dit cela permettrait de conduire les cellules réelles, de manière contrôlée, vers une destinée voulue grâce à l'anticipation virtuelle de leur évolution.

3.2.3. Ma Problématique

J'ai démontré précédemment que les régions concaves attirent les cellules, mais une fois ces régions atteintes, les cellules stoppent leur migration. Pour inciter les cellules à migrer sur une plus grande distance et ce uniquement grâce à la topographie du substrat et en faisant appel à leur capacité de curvotaxie, il suffirait de proposer un substrat à géométrie variable, à topographie changeante, pouvant devenir alternativement et localement concave puis convexe, et ce de manière cyclique. En effet, générer une courbure dynamique stimulerait la protrusion lamellipodiale ou induirait une mobilité intracellulaire du noyau qui serait comme un signal incitant la migration. Générer une courbure dynamique en continu permettrait de stimuler en continu la migration cellulaire.

J'émet l'hypothèse que la génération de vagues progressives à la surface du substrat devrait stimuler la migration cellulaire par une modification dynamique de la courbure de surface et la guider sur de grandes distances.

Quel serait alors le comportement migratoire des cellules sur une surface animée d'un mouvement ondulatoire (Figure 5) ? Les cellules se mettraient-elles à suivre l'ondulation, à surfer les vagues à la surface du substrat ? Quelles seraient les influences de l'amplitude et de la fréquence d'ondulation ? Si la fréquence optimale d'ondulation, ou autrement dit la vitesse du front de vagues, devrait être a priori plus faible ou du même ordre de grandeur que la vitesse de migration de la cellule, quelle serait l'influence d'une ondulation à plus haute fréquence ?

Vérifier mon hypothèse et répondre aux questions qui en découlent, de manière directe par des méthodes in vitro nécessiterait de longs développements pour prototyper et sélectionner un tel substrat capable de stimuler et de conduire la migration cellulaire par des ondulations dynamiques.

Je propose d'abord d'utiliser la modélisation in silico pour apporter une preuve de concept.

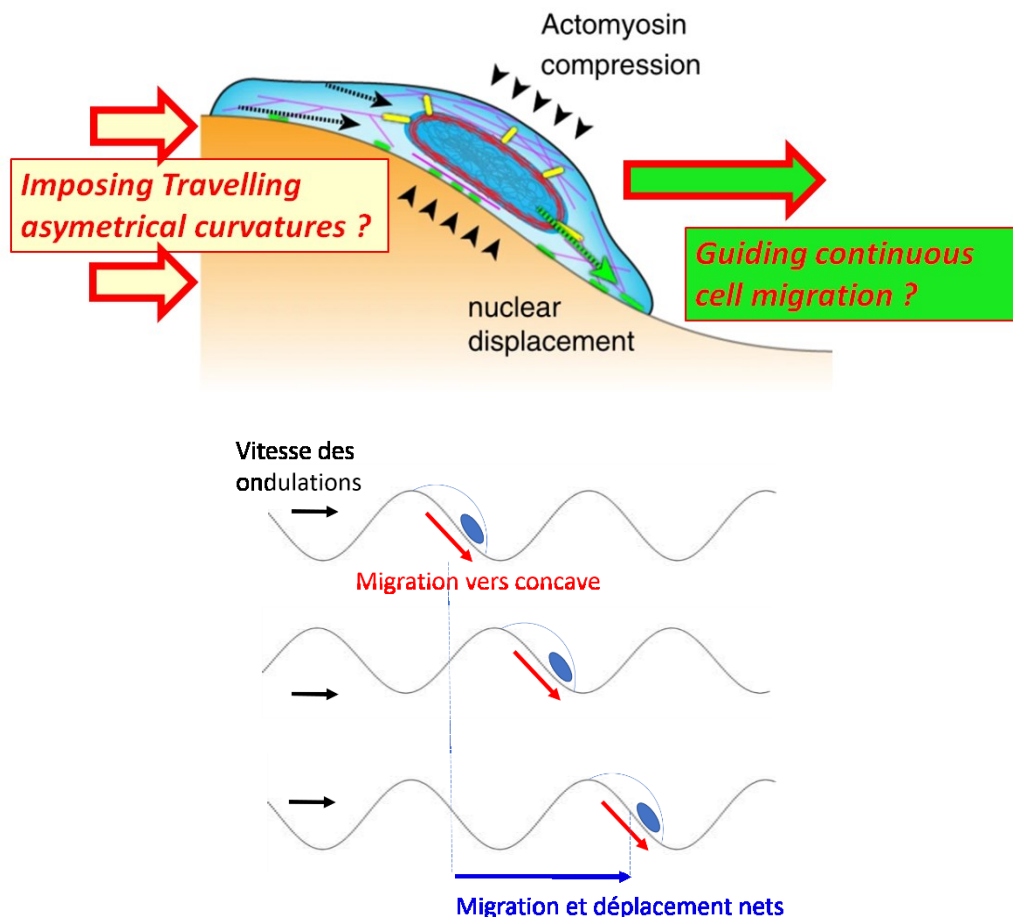


Figure 5 : Substrat animé de vagues de surface pour stimuler la curvotaxis. Les cellules migrantes sont-elles capables de surfer la vague ?

3.2.4. Mes Objectifs

Dans le cadre de mon projet scientifique, je me propose d'étudier la migration cellulaire en poussant les expérimentations *in silico* au-delà de ce qui est techniquement réalisable *in vitro*. J'analyserai l'influence d'une topographie dynamique sur le comportement migratoire des cellules à l'aide du modèle cellulaire qui aura été développé en 3.1 et qui décrira la dynamique des mécanismes de migration cellulaire et de curvotaxie.

Nous simulerons la migration cellulaire sur différents profils de vagues, propices à générer des gradients de courbure et ainsi stimuler la curvotaxie cellulaire de manière dynamique. Nous sélectionnerons les profils capables d'entraîner la migration cellulaire. Les résultats *in silico* nous aideront à prototyper des substrats dynamiques et à vérifier notre hypothèse *in vitro*.

Nous déchiffrerons la curvotaxie dynamique à un stade précoce ainsi qu'à plus long terme, lorsque les cellules migrent par vagues progressives, ce qui peut résulter de l'apprentissage et de la persistance des cellules. Nous observerons également la migration collective des cellules *in vitro* et la simulerons *in silico* pour mettre en évidence d'éventuels comportements spécifiques sur les vagues progressives.

3.2.5. Décrypter l'initiation de la curvotaxie dynamique.

En utilisant l'avatar *in silico* de la cellule, nous simulerons une déformation rapide d'un substrat plat en une forme gaussienne, par exemple, suivie d'une phase stationnaire pour surveiller la réponse de la cellule à la formation soudaine d'un gradient de courbure. La déformation rapide empêchera la cellule de s'adapter avant la phase stationnaire. Les simulations permettront de prédire l'effet de l'amplitude, de la largeur et de la vitesse de la déformation gaussienne. Nous avons des résultats préliminaires de modélisation sur la curvotaxie dynamique basée sur le décentrage du noyau.

Pour tester cette idée, j'ai réalisé des simulations de migration cellulaire à la surface d'un substrat déformable et animé d'un mouvement ondulatoire séquentiel (Figure 6). Le substrat, à l'origine plan, se déforme pour atteindre une morphologie sinusoidale micro-ondulée stationnaire dont la période est égale au diamètre de $100\mu\text{m}$ du modèle cellulaire étalé et dont l'amplitude est égale à $10\mu\text{m}$. La déformation du substrat est définie de telle sorte qu'une pente de la morphologie sinusoidale se forme sous le modèle cellulaire. En se basant sur la curvotaxie cellulaire impliquant d'abord le décentrage du noyau induit par la courbure puis le mouvement cellulaire pour centrer à nouveau le noyau, le modèle cellulaire migre sur le substrat ondulé de manière itérative jusqu'à ce qu'il atteigne la région la plus concave du sinus. Le substrat se déforme ensuite pour redevenir, à nouveau, plan. A l'issue de cette première phase, le modèle cellulaire s'est déplacé de $45\mu\text{m}$ dans la direction perpendiculaire aux ondulations. Le substrat se déforme ensuite une deuxième fois, pour atteindre la même morphologie micro-ondulée mais avec un déphasage de $45\mu\text{m}$, induisant à l'emplacement du modèle une pente sinusoidale. De même, le modèle cellulaire migre une deuxième fois jusqu'à ce qu'il atteigne la nouvelle région concave. En définitive, en imposant deux déformations du substrat, le modèle a migré dans une direction contrôlée avec un déplacement net de $90\mu\text{m}$, valeur équivalente à son propre diamètre. Il convient de noter qu'il n'y a pas de gravitation ici et que le modèle cellulaire ne migre que par curvotaxie.

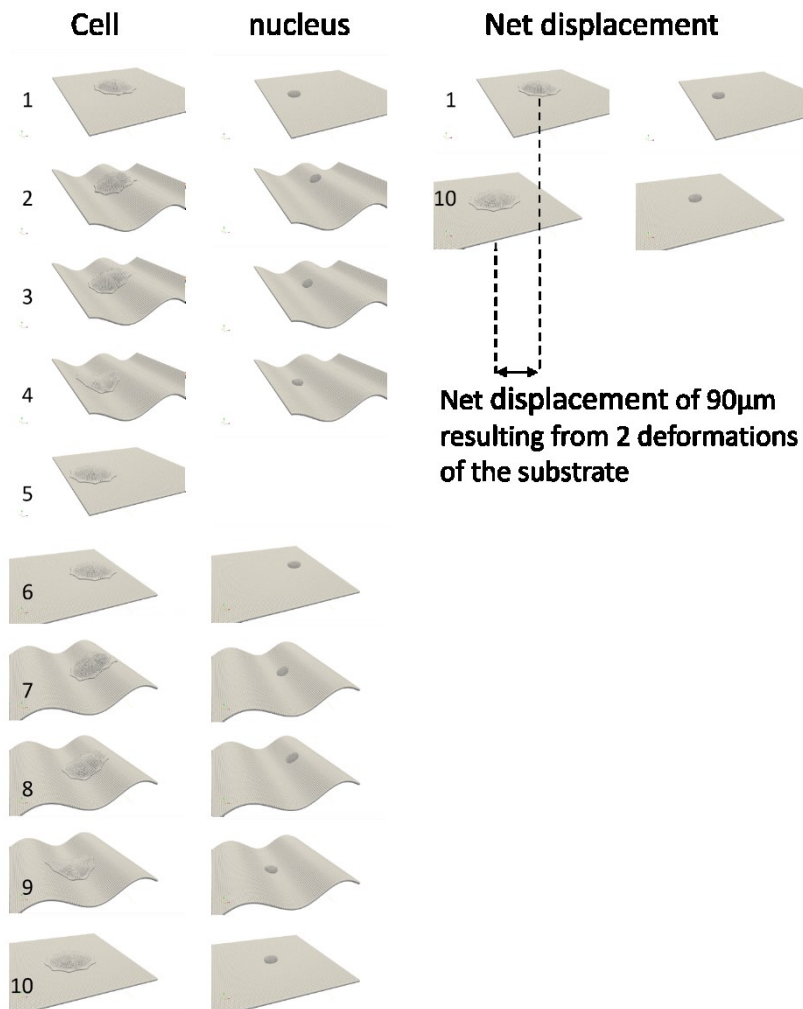


Figure 6 : série d'images de la migration cellulaire séquentielle sur un substrat plat animé par 2 déformations successives des sinus. Le diamètre de la forme cellulaire adhérente est de $100\ \mu\text{m}$. Après la première déformation du substrat, le modèle cellulaire a migré sur $44,5\ \mu\text{m}$. En conséquence, la 2ème déformation des sinus a été imposée avec un déphasage de $44,5\ \mu\text{m}$ par rapport à la première. Après les deux déformations successives du substrat, le modèle cellulaire migre sur $90\ \mu\text{m}$ dans une direction contrôlée. Il est à noter qu'il n'y a pas de gravitation dans cette simulation.

En collaboration avec Valeriy Luchnikov et son groupe MNMS à l'IS2M de Mulhouse, nous prototypons des substrats ondulés en polydiméthylsiloxane (PDMS). Les films en PDMS seront d'abord étirés puis irradiés par laser infrarouge (1050nm), suivant les méthodes qu'ils ont publiées [Tomba2019]. Le traitement au laser rigidifie la surface du film ($\sim 100\text{MPa}$). Lorsque la traction est relâchée, le film s'ondule, résultat d'un équilibre entre étirement et flexion. Le relâchement progressif de la traction sur le film produira des ondulations dynamiques de forme gaussienne.

En collaborant avec Karine Anselme et Laurent Pieuchot de l'IS2M, nous réaliserons des expériences in vitro sur ces prototypes de substrats dynamiques. Nous suivrons le comportement des cellules adhérentes pendant la transition géométrique du substrat et nous comparerons les positions du noyau et du barycentre de la cellule. Nous examinerons également la réorganisation du cytosquelette cellulaire et des adhésions focales.

Nous comparerons les trajectoires des noyaux sur des surfaces gaussiennes et des surfaces planes. Pour identifier le rôle de du noyau dans la curvotaxie dynamique précoce, nous évaluerons en comparaison, les trajectoires migratoires de cellules énucléées sur des surfaces dynamiques et plates.

Les données expérimentales suggèrent que les complexes LINC sont importants dans la curvotaxie. Nous suivrons ainsi la migration de cellules dans lesquelles les complexes LINC sont inhibés.

3.2.6. Guidage de la migration cellulaire par des fronts de vagues

Nous utiliserons l'avatar cellulaire in silico pour tester si des vagues géométriques qui se déplacent horizontalement peuvent stimuler la curvotaxie de manière dynamique. Les résultats préliminaires montrent que générer des vagues à la surface du substrat fait migrer le modèle actuel de cellule in silico (Figure 7). Des vidéos de simulation sont disponibles en suivant ce lien : <https://amubox.univ-amu.fr/s/F46wiGxWSpsisCy>.

Nous optimiserons les profils de vagues, en termes d'amplitude, de longueur d'onde et de vitesse, pour améliorer le guidage de la migration cellulaire. Les premières simulations montrent par exemple que des vitesses de vagues trop élevées peuvent conduire à des mouvements rétrogrades. De plus, nos résultats montrent qu'une augmentation de l'amplitudes des vagues diminue le stress mécanique du noyau durant le guidage de la migration. Des méthodes de choix stochastiques combinatoires permettront de choisir intelligemment ces environnements en réduisant le nombre d'alternatives pour ne retenir que les plus optimales.

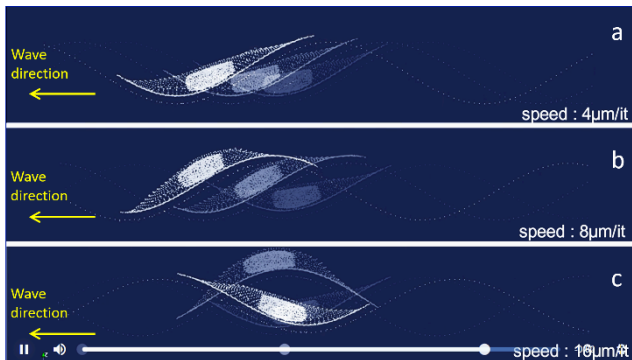


Figure 7 : Instantanés de simulation de la migration des cellules sur des ondes progressives de différentes vitesses. Le guidage de la migration cellulaire dépend de la vitesse des vagues. Une vitesse trop élevée des vagues peut même entraîner des mouvements rétrogrades.

Nous prototyperons un substrat dynamique pour reproduire in vitro les profils de vagues progressives que nous avons identifiés in silico. Pour ce faire, nous comprimerons latéralement un bloc cylindrique de PDMS afin de générer des rides sur la surface supérieure. En faisant rouler le cylindre, nous ferons translater les ondulations (Figure 8). Une étude de faisabilité a été faite et nous indique que cette technique est possible. La technique a d'abord été validée à l'échelle macro (<https://amubox.univ-amu.fr/s/F8nGWL6NFborcwz>) puis à l'échelle micro avec des amplitudes de $\sim 10\mu\text{m}$ pour des longueurs d'onde de $160\mu\text{m}$ (<https://amubox.univ-amu.fr/s/2n75d3BWWY2grxZG>). La vitesse de vagues a d'abord été fixée arbitrairement à $16\mu\text{m/s}$ mais peut facilement être ralentie de manière drastique pour correspondre à une vitesse de migration cellulaire typique $\sim 1\mu\text{m/min}$. Nous adapterons les profils des vagues en contrôlant la composition chimique du substrat, l'intensité du laser, le niveau de compression et la vitesse de rotation.

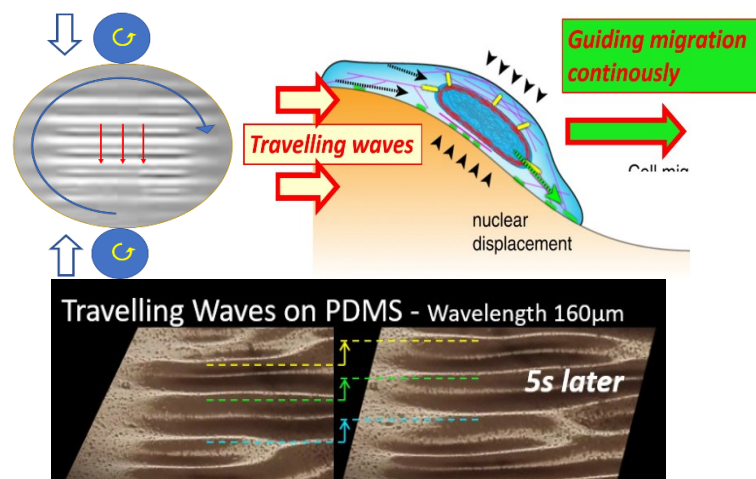


Figure 8 : Prototype générant des vagues progressives à la surface du substrat en PDMS

Nous cultiverons des cellules *in vitro* sur ces substrats pour évaluer l'effet des vagues progressives sur la migration des cellules. Nous évaluerons la distribution globale des cellules sur le substrat plissé à différents moments. Nous suivrons la migration des cellules exprimant des marqueurs fluorescents pour identifier les contributions de composants cellulaires spécifiques dans la curvotaxie dynamique tels que les adhésions focales, les filaments d'actine, les microtubules et le noyau cellulaire. Les données *in vitro* permettront en retour de corriger l'avatar cellulaire *in silico*. Les cellules peuvent ne pas répondre aux vagues dont la vitesse est proche de la vitesse de migration des cellules. La curvotaxie peut impliquer une échelle de temps différente de la migration cellulaire. Nous pourrions ajuster la vitesse des vagues pour influencer les cellules.

3.2.7. Apprentissage et optimisation de la migration cellulaire

Générer des vagues à la surface du substrat produit un environnement dynamique à la topographie singulière. En effet, si les cellules migrent en suivant le mouvement des vagues, elles seraient continuellement exposées à un gradient constant de courbure. Autrement dit, la migration serait guidée dynamiquement par un motif de courbure constant. Ces conditions répétitives pourraient stimuler chez les cellules des processus d'apprentissage et de reconnaissance des repères géométriques rencontrés durant la migration. Cela entraînerait la persistance et l'optimisation des mécanismes intracellulaires responsable de la migration. Pour les cellules de type neutrophile, par exemple, la mémoire directionnelle provient du maintien physico-chimique de réarrangements cytosquelettiques polarisés [Prentice-Mott2016]. Yolland et al. 2019 ont montré que le maintien de la directivité des cellules n'est pas déterminé par le bord d'attaque mais par la persistance d'une polarisation stable du flux d'actine intracellulaire [Yolland2019]. Ce dernier phénomène pourrait être favorisé par des vagues de surface. En effet, les vagues progressives généreraient un gradient de pression intracellulaire constant qui maintiendrait le flux d'actine et sa polarisation.

Sur des vagues progressives, les cellules pourraient être confrontées à un problème de détection et de reconnaissance de la topographie. Ce phénomène pourrait être similaire aux applications actuelles de l'intelligence artificielle (IA) par apprentissage par renforcement. Le but de l'apprentissage par renforcement est de trouver les actions à entreprendre par un agent pour maximiser l'obtention d'une récompense sur le long terme [Sutton1998]. Pendant l'apprentissage par renforcement, l'algorithme entraîne un réseau de neurones qui relie les entrées (informations de détection) aux sorties (action motrice). Les mouvements cellulaires individuels et collectifs ont récemment été analysés par des approches multi-agents en utilisant l'apprentissage par renforcement. Si l'objectif d'une cellule est d'atteindre une cible, l'environnement donne à la cellule une plus grande récompense lorsqu'elle est plus proche de la cible, ce qui stimule la cellule à se déplacer vers la cible [Wang2018]. En outre, la cellule doit apprendre des cellules qui l'entourent. De cette règle apparaissent les mécanismes leader-suiveur : La cellule leader cherche le chemin optimal pour atteindre la cible, pendant que la cellule suiveuse derrière suit la trajectoire du leader pour se déplacer [Hou2019]. De plus, l'apprentissage par renforcement est particulièrement bien adapté à la simulation *in-silico*, car ces algorithmes peuvent apprendre directement à partir des données générées par les simulations elles-mêmes.

Mon projet vise à déchiffrer *in silico* la façon dont les cellules traitent les informations topographiques détectées dans un environnement dynamique. Par analogie avec l'état de l'art, nous proposons d'utiliser l'IA et l'apprentissage par renforcement en particulier pour traiter la migration des cellules sur des vagues progressives. Sur la base d'observations *in vitro* nous développerons un algorithme de renforcement le plus simple possible, qui sera capable de modifier, d'adapter et d'optimiser l'avatar mécanique de la cellule pendant la migration sur le motif répétitif des vagues progressives. L'apprentissage par renforcement sera introduit comme un algorithme supplémentaire qui pilotera les interactions mécaniques représentant la cellule et son cytosquelette. Cet algorithme sera basé sur les nombreux travaux de l'état de l'art et sur les méthodes numériques existantes qui ont été développées et validées [Alber2019].

Pour définir le problème d'apprentissage par renforcement il faut spécifier les hypothèses de signal et de cible de manière cohérente. Nous proposons ici que le signal d'entrée puisse être la détection de la

courbure du substrat par le noyau, le lamellipode ou le flux d'actine. L'action serait la migration sur le substrat dans une direction et une amplitude que l'avatar cellulaire aura choisies. La récompense qui renforce l'action serait par exemple l'énergie économisée en atteignant ou en maintenant un état mécanique détendu. Les mécanismes de migration (protrusion du lamellipode, maturation des adhérences focales, contraction de l'actine) seront renforcés vs atténués en fonction respectivement d'une récompense positive ou d'un feed-back négatif.

Nous entraînerons l'avatar cellulaire à migrer sur des vagues progressives. L'algorithme d'apprentissage par renforcement apprendra à partir des données générées par les simulations elles-mêmes. La détection de la topographie en mouvement sera traitée par un réseau de neurones entraîné par apprentissage par renforcement développé avec Python associé à des bibliothèques pour les réseaux de neurones et l'apprentissage. L'apprentissage par renforcement est maintenant mature et les algorithmes récents sont librement disponibles comme RLCode sur GitHub. Dans MovingCells, nous pouvons tester différentes architectures de réseaux de neurones (profonds, monocouches, récurrents, neurones à picots) dans le but de trouver des réseaux simples qui reflètent le système de décision de la cellule.

In vitro, nous rechercherons des indices d'apprentissage et d'optimisation des cellules en réponse à une exposition prolongée à un gradient de courbure constant pendant la migration. Le RNA-Seq sera utilisé pour analyser l'évolution du transcriptome cellulaire. La persistance de la migration cellulaire peut être observée in vitro si les cellules continuent à migrer lorsque les vagues s'arrêtent et que le substrat s'aplanit. Nous pouvons envisager des séries successives de vagues entrecoupées d'arrêts pour étudier l'habituation des cellules à la topographie dynamique.

Le déplacement des vagues doit être finement contrôlé, en termes de durée totale et de vitesse réelle avec des arrêts ou des accélérations possibles. Des motoréducteurs permettront de faire tourner lentement et de manière contrôlée les roues qui compriment le bloc cylindrique du substrat en PDMS.

La question de l'apprentissage est exploratoire. Peu de risques dépendent de la méthodologie in silico de l'apprentissage cellulaire car les algorithmes d'apprentissage par renforcement les plus simples seront considérés. Il y a peu de risques concernant l'observation in vitro de l'apprentissage cellulaire. Cependant, si la méthodologie est pertinente, aucun travail préliminaire n'existe. Nous n'avons pas de preuve de l'apprentissage des cellules sur des vagues progressives.

3.2.8. Stratégies de migration collective

Si la migration cellulaire collective conduit à des comportements coordonnés tels que l'apparition à l'avant d'un grand lamellipode multicellulaire, la courbure du substrat peut favoriser l'alignement des cellules individuelles, optimisant ainsi la migration collective et augmentant sa vitesse [Xi2017]. Jain et al. 2020 ont montré que le maintien de la coordination collective de la migration dans des environnements confinés résulte également d'un effet mémoire dans la polarisation individuelle des cellules et ce, même si elles ne sont plus connectées entre elles par des jonctions cellule-cellule [Jain2020].

L'état de l'art révèle que l'approche par « vertex » est l'une des plus efficaces et des plus polyvalentes pour examiner de manière rigoureuse la migration collective. Dans une approche vertex, chaque cellule est représentée par un polygone capable de se déformer et de se déplacer en fonction de la signalisation intracellulaire. Dans cette approche, la signalisation intracellulaire peut contrôler par exemple la contractilité cellulaire, la protrusion cellulaire et l'adhésion cellule-matrice [Koride2018, Zhao2020]. Koride et al. 2018 ont modélisé une régulation biochimique active de la contractilité pour expliquer la motilité collective organisée des cellules. Zhao et al. 2020 ont reproduit in silico l'observation in vitro d'une plus grande élongation cellulaire et d'un guidage collectif de la migration cellulaire sur des substrats rigides (Figure 9). Ils ont utilisé une approche vertex dans laquelle ils ont simulé les réseaux de signalisation impliquant Rac, la kinase PAK, la protéine d'adhésion focale Paxillin, la molécule d'adhésion cellulaire cadhérine et Merlin, une protéine impliquée dans l'inhibition du contact des cellules dans une boucle de rétroaction avec Rac et PAK. Les auteurs affirment que cette signalisation intracellulaire est capable de coordonner la direction du mouvement cellulaire sur des distances de 500µm.

Les courbures dynamiques peuvent activer des stratégies spécifiques de migration cellulaire collective. Dans mon projet, nous chercherons à déchiffrer comment les cellules migrent sur les vagues progressives en analysant les comportements individuels et collectifs. Nous modéliserons une cohorte de cellules interagissant entre elles pour reproduire et déchiffrer les interactions entre cellules observées *in vitro*. La nouveauté sera de modéliser plusieurs cellules en interaction mécanique et de voir comment la polarisation cellulaire dépendante de la courbure peut aussi dépendre des interactions avec d'autres cellules. Cette analyse permettra d'identifier si la curvotaxie dynamique est atténuée ou amplifiée dans une migration collective ?

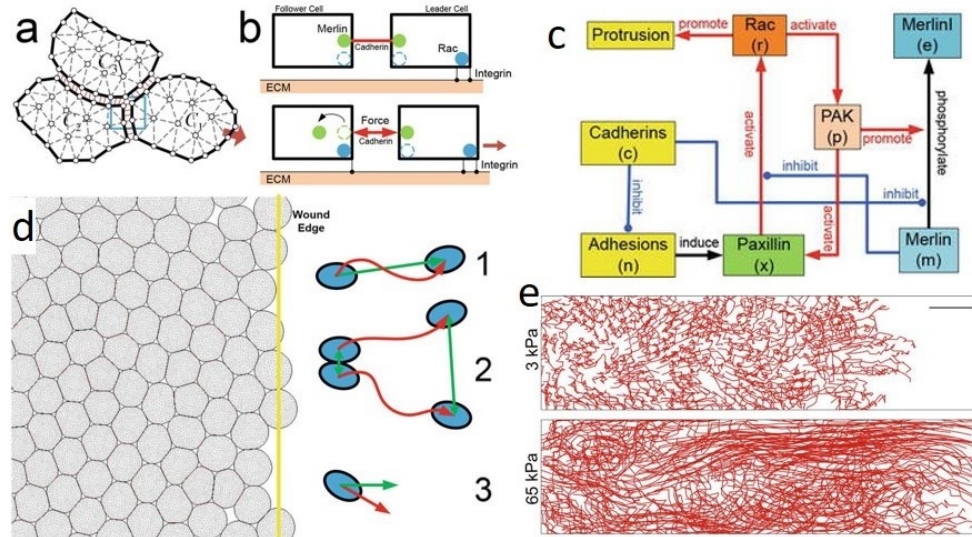


Figure 9 : Approche cellule-vertex de la migration cellulaire collective. (a) Chaque cellule est définie par un polygone et ses sommets. Les cellules sont maillées et ont des propriétés viscoélastiques. Les jonctions cellule-cellule sont modélisées comme des ressorts élastiques (b) Mécanismes de protrusion des cellules suiveuses une fois que le leader a migré, impliquant une signalisation intracellulaire (c) Réseau de signalisation régissant la protrusion cellulaire (d) Géométrie de l'épithélium et indices de mouvement cellulaire : (1) persistance comme rapport entre la distance et la longueur du chemin, (2) distance de séparation normalisée, (3) angle avec l'horizontale. (e) Les simulations montrent des trajectoires de cellules plus rapides et plus orientées sur un substrat rigide. [Zhao2020]

Une première option pourrait être la modélisation de la migration de l'avatar cellulaire avec des conditions aux limites reflétant l'effet des cellules entourées virtuellement comme des murs latéraux qui avancent.

Une meilleure option serait de multiplier l'avatar cellulaire en ~20 avatars cellulaires directement dans le code LMGC90. Les avatars cellulaires adhéreront au substrat dynamique et seront connectés entre eux pour former une colonie. Cette colonie sera soumise à des vagues progressives. Le comportement des cellules sera analysé en fonction de leur position dans la colonie : au bord avant ou au milieu de la colonie. Le calcul peut être parallélisé, en exécutant une cellule par processeur, chaque processeur échangeant les informations de contact/friction entre les cellules voisines.

Si cela n'est pas possible en raison de limitations de calcul, nous envisagerons une autre option de modélisation multi-échelle. Une colonie composée d'un grand nombre de cellules pourrait être reproduite *in silico* en utilisant une approche basée sur les sommets, comme décrit dans l'état de l'art [Koride 2018, Zhao2020]. Chaque cellule est représentée par un sommet interconnecté avec ses voisins. Chaque cellule-vertex est capable de migrer et de se polariser en suivant les deux comportements de leader ou de suiveur et en fonction de la signalisation intracellulaire. Ici, la signalisation intracellulaire sera la curvotaxie qui sera calculée en utilisant l'avatar cellulaire développé jusqu'à présent dans les WP précédents comme sous-modèle. La migration et la polarisation de chaque sommet de cellule seront ainsi calculées en fonction de sa forme, de ses conditions de frontière avec ses voisins et de sa position sur les vagues progressives et comment la courbure dynamique locale influence la position du noyau, la dynamique de l'actine et la protrusion lamellipodiale.

La migration de l'épithélium sera observée in vitro sur des vagues en mouvement pour mettre en évidence des comportements uniques possibles. Les vagues peuvent réguler la vitesse des cellules dans l'épithélium. Elles peuvent également générer des instabilités mécaniques, voire des ruptures, dans l'épithélium au-dessus des pics des vagues, les cellules se stabilisant dans les creux des vagues. L'épithélium peut avoir tendance à s'étendre le long des rides, en raison du guidage des cellules par la topographie. Nous analyserons si faire voyager ces rides, ajoute une composante orthogonale dans le mouvement des cellules et l'extension épithéliale.

L'analyse de la migration collective des cellules et de la culture de l'épithélium sur des rides mobiles implique que la forme de la ride doit être la même sur toute la surface de l'épithélium. Si le dispositif qui aura été développé jusqu'à présent ne permet pas de garantir cette reproductibilité de la forme à grande échelle, nous envisagerons les alternatives suivantes. Nous pouvons, par exemple, traduire une plaque ondulée, collée sous le substrat par un vide d'air afin de produire des rides de déplacement dans le substrat. Nous pouvons également placer, sous un film mince de substrat, un boulon micrométrique pour générer des rides grâce à son filetage, et faire tourner ce boulon pour faire bouger les rides.

Des risques existent sur le déploiement de la modélisation cellulaire dans une modélisation multi-échelle de l'épithélium impliquant un grand nombre de cellules. Des méthodes alternatives avec un nombre limité de cellules pourraient être envisagées. Par exemple, nous pourrions analyser l'effet des vagues comme une succession de pics et de vallées en mouvement sur les cellules en ne considérant qu'une file de cellules et en déchiffrant le comportement cellulaire qui peut différer du bord avant à l'arrière de la colonie cellulaire. Peu de risques concernant la culture in vitro de l'épithélium et son suivi sur des vagues mobiles à grande échelle spatiale.

3.2.9. Caractère innovant et ambitieux du projet

Nous souhaitons répondre à une question qui n'a jamais été posée auparavant et à laquelle il est difficile de répondre directement, à savoir guider la migration cellulaire en générant des vagues progressives. Nous proposons une solution alternative pour combler cette lacune tout en réduisant les risques au minimum. Nous effectuerons des simulations in silico là où il est difficile d'expérimenter in vitro. Cela apportera d'abord une preuve de concept in silico. Cela nous aidera à concevoir des substrats dynamiques pour vérifier in vitro notre hypothèse. Le projet MovingCells fournira le premier prototype d'un tel substrat intelligent. Cela ouvrira des perspectives pour guider d'autres fonctions cellulaires à l'aide de substrats dynamiques spécifiques.

Nous fournirons un avatar in silico de cellules migrant dans un environnement dynamique qui sera un outil utile pour l'ingénierie cellulaire et la technologie des laboratoires sur puce. Les avatars cellulaires in silico peuvent être mis en œuvre ultérieurement en tant qu'outil de réalité augmentée en direct pour piloter un substrat intelligent et contrôler les cellules in vitro de manière optimisée. Le projet MovingCells contribuera au transfert de technologie de la modélisation cellulaire pour l'analyse cellulaire 4D (imagerie cellulaire 4D en direct, laboratoire sur puce, surveillance cellulaire).

Nous avons déjà créé une zone d'accès libre pour télécharger et utiliser notre modèle cellulaire actuel <https://doi.org/10.5281/zenodo.1187086> & <https://github.com/mvassaux/adhSC> [Adhsc18]. À la fin du projet, nous aboutirons à un avatar cellulaire in silico avancé qui pourra être proposé sous la forme d'un code en accès libre pour la communauté scientifique, en donnant accès au code source, des droits étendus accordés aux utilisateurs avec un déploiement et une gestion des versions via GitHub. La licence de logiciel libre CeCILL pourrait être envisagée ici.

Pour augmenter la pertinence de notre approche in silico, nous l'intégrerons dans un code de calcul de biologie cellulaire existant comme un module intégré supplémentaire. Les logiciels de biologie cellulaire virtuelle existants sont en effet capables de reproduire en simulation un très large spectre de comportements biologiques cellulaires. Cela permettrait l'interaction de fonctions mécanobiologiques telles que la curvotaxie avec d'autres fonctions biologiques cellulaires.

Les prototypes de substrats dynamiques contribueront au développement futur de matériaux intelligents pour la culture cellulaire et l'ingénierie tissulaire. Ce transfert de technologie pourra faire l'objet de brevets et impliquer les acteurs locaux tels que la SATT Sud-Est et les Instituts Carnot STAR et MICA. Les partenaires industriels pourraient être très intéressés par le développement de stratégies combinant avatars cellulaires et substrats actifs intelligents comme moyens de piloter les fonctions cellulaires.

La méthodologie du projet aura un impact sur l'ingénierie et la modélisation cellulaire. Ce projet est interdisciplinaire et propose des outils et des concepts *in silico* innovants pour modéliser des processus complexes de biologie cellulaire. Nous utiliserons et développerons des méthodes *in silico* d'apprentissage par renforcement et d'optimisation pour modéliser les éventuelles stratégies multi-échelles, individuelles et collectives, que les cellules développent en matière d'apprentissage, d'optimisation et de mémoire lorsqu'elles migrent dans un environnement dynamique. Notre méthodologie, qui combine des approches *in silico* et *in vitro*, prouvera que la modélisation *in silico* est un outil complémentaire pour aborder des problèmes complexes en biologie et ingénierie cellulaires. La méthodologie du projet aidera les recherches futures en mécanique cellulaire et dans le développement de nouveaux moyens de culture cellulaire en suggérant d'intégrer l'approche *in silico* comme un outil nécessaire à l'innovation.

L'algorithme d'apprentissage par renforcement appliqué à la migration cellulaire sur des topographies mobiles offrira une nouvelle perspective sur la biologie et la science des matériaux qui pourrait inspirer par exemple des capteurs artificiels. Il pourrait constituer un outil prometteur pour aborder des problèmes complexes en biologie et en ingénierie.

Le projet peut être considéré comme une approche multi-échelle, du moins c'est une approche multi-modélisation. Le projet s'appuiera sur différentes approches de modélisation (systèmes multi-interactions, champ de phase, apprentissage par renforcement, vertex) qui parviennent ou peuvent parvenir à capturer chacune un élément du mécanisme de migration cellulaire. MovingCells cherchera à tirer parti des avantages de chacune des différentes approches de modélisation en les faisant communiquer entre elles. La communication entre les différentes strates de modélisation reste un défi mais constitue une solution avantageuse.

Ce projet a fait l'objet d'un dépôt en août 2020 auprès de l'ERC pour l'obtention d'une Advanced Grant. Le projet n'a pas été retenu, mais la préparation de ce dépôt m'a permis de le structurer avec les services compétents d'Aix-Marseille Université. Dernièrement ce projet a été soumis à l'ANR et il a été retenu à l'issue de la première étape. Les résultats de la seconde étape sont attendus.

3.3. Design in silico de substrats 3D optimisés pour l'ingénierie tissulaire

3.3.1. Etat de l'art

Si les matrices poreuses sont envisagées pour le traitement par exemple de gros déficits osseux, c'est évidemment du fait de leur topologie poreuse qui, sur le principe, est censé favoriser l'invasion cellulaire, faciliter la croissance tissulaire par ostéo-conduction et permettre in fine une meilleure ostéointégration osseuse [Woesz2008 ; Hollister2005 ; Armillotta2008]. Cependant lorsqu'il s'agit de régénérer un gros volume de tissu, la colonisation de ces biomatériaux par les cellules et la reformation tissulaire en leur sein restent partielles et se limitent souvent à la périphérie des biomatériaux.

Les progrès en impression 3D offrent la possibilité de fabriquer des biomatériaux poreux aux formes complexes [Alvarez 2009, Wieding2012]. Cette avancée technique permet d'envisager l'optimisation du design de la microarchitecture pour améliorer l'ostéoconduction.

Le design de ces matrices poreuses doit aussi intégrer des conditions de chargement mécanique qui dépendent grandement de l'âge, de l'activité du patient ainsi que du site d'implantation. En particulier, les zones porteuses des membres inférieurs (fémur, tibia) et du rachis sont soumis à des contraintes importantes.

La conception d'un implant microporeux nécessite donc de prendre en compte conjointement les aspects mécaniques et biologiques du système environnant afin de permettre une reformation osseuse au cœur du matériau, une stabilité à long terme du dispositif implanté et ne pas empêcher le remodelage osseux assurant la viabilité du tissu sur le long terme. Les propriétés mécaniques telles que le module d'élasticité, la résistance à la traction ou à la compression, la ténacité, la fatigue et le pourcentage de déformation doivent être mécaniquement compatibles avec celles du tissu remplacé afin de prévenir les phénomènes de *stress shielding* et de résorption osseuse associée. En termes de dynamique d'écoulement des fluides interstitiels au sein des biomatériaux osseux, la perméabilité est un paramètre important qui affecte les activités biologiques des cellules, et le stress induit par le cisaillement peut être utilisé comme stimulant mécanique de la croissance cellulaire.

La topologie de la microarchitecture d'une matrice poreuse influence fortement la distribution spatiale et l'emplacement des cellules, l'angiogenèse et le transport de nutriments et de l'oxygène, et affecte ainsi la viabilité du nouveau tissu formé. Le rapport surface / volume dépendant directement de la taille des pores, la matrice poreuse doit présenter une grande surface interne pour faciliter l'adhésion et la prolifération. Un grand volume de pores est aussi nécessaire pour contenir et ensuite livrer une population de cellules suffisante pour le processus de guérison ou de régénération.

Tous ces critères de conception doivent être pris en compte et normalisés. Dans ce but, des approches in silico d'optimisation topologiques ont été développées. Elles calculent le design de la microarchitecture de matrices poreuses en considérant différents objectifs comme la résistance mécanique ou la perméabilité. Le calcul de la microarchitecture utilise des motifs élémentaires cubique, diagonal ou pyramidal plus facilement fabricables par impression 3D [Hollister2010 ; Lin et al, 2004 ; Guest et al, 2007 ; Almeida et al, 2010 ; Wiedin et al, 2014 ; Harrysson2008 ; Yan2011 ; Chang2013]. Une constante de ces approches est qu'elles sont essentiellement pilotées par des critères mécaniques tentant de tenir compte d'exigences biologiques comme, par exemple, la taille des pores, ou la macroporosité. Pour des tailles supposées optimales pour la croissance cellulaire, les paramètres géométriques sont souvent optimisés pour atteindre une ou plusieurs propriétés mécaniques cibles [Ponader2010 ; Lopez-Heredia2008 ; Hollander2006 ; Li2007]. Peu nombreux sont les travaux qui basent la détermination des structures poreuses sur de véritables critères mécanobiologiques. Parmi ceux-là, citons les travaux de [Boccacio2016] s'appuyant sur le modèle de mécano-régulation de Prendergast et Lacroix 1997 et 2002 (voir Chapitre 2.4). Pour déterminer la porosité optimale et potentiellement hétérogène, à l'intérieur d'une microarchitecture donnée, qui maximise la quantité de formation osseuse, Boccacio et al. en 2016 ont ainsi couplé un calcul d'optimisation topologique paramétrique à l'algorithme de mécanorégulation

de formation tissulaire. Ce modèle représente une étape intéressante dans la détermination de la géométrie des matrices à gradients de porosité sur la base de critères mécanobiologiques même si la taille et la répartition des pores sont fixées initialement.

Par ailleurs, certains chercheurs tentent de développer en ingénierie tissulaire des stratégies alternatives de stimulation cellulaire in situ en utilisant, le biomatériau support comme vecteur. Par exemple, l'application d'un champ magnétique au voisinage d'un biomatériau possédant des particules magnétostrictives génère au cœur du matériaux et au voisinage des cellules, des sollicitations mécaniques locales de traction et de compression. Si ces matériaux possèdent également une phase piézo-électrique les déformations locales engendrées par le champ magnétique induisent en retour des effets électriques locaux stimulant également le comportement cellulaire (Figure 9) [Fernandes2019].

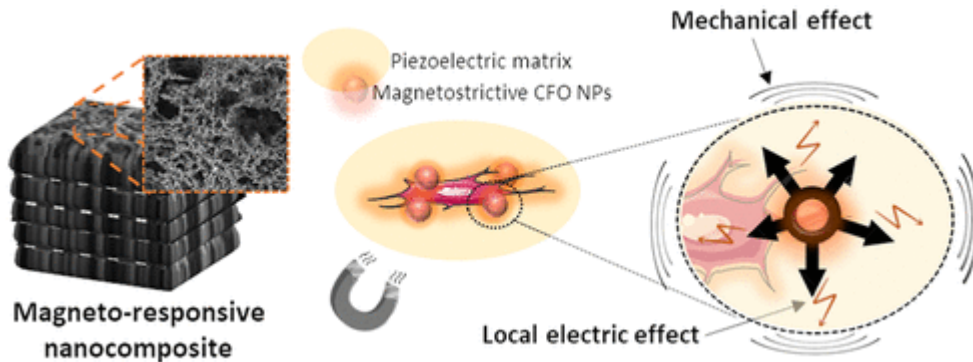


Figure 9 : Biomatériaux 3D magnétiques incorporant des particules magnétiques au sein d'une matrice piézo-électrique [Fernandes2019].

Des études in vitro ont montré que ces biomatériaux magnéto-actifs induisaient une meilleure régénération osseuse avec une meilleure maturation du tissu et des propriétés mécaniques supérieures. [Shuai2020]. Ces biomatériaux magnétiques sont compatibles avec des méthodes de fabrication 3D autorisant une plus grande liberté dans la conception de la microarchitecture du biomatériau (Figure 10).

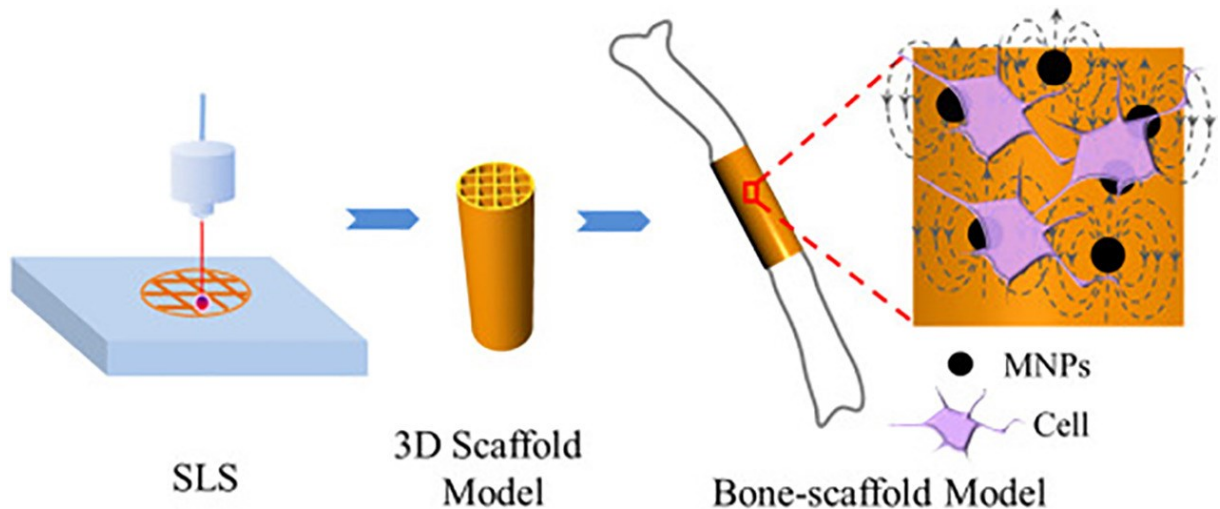


Figure 10 : Fabrication par impression 3D de matrices poreuses incorporant des particules magnétiques [Shuai2020].

Ainsi l'optimisation du design d'un biomatériau ne doit pas simplement s'entendre du seul point de vue de sa microarchitecture. Si l'on intègre que ce biomatériau puisse être dynamique et pilotable comme un vecteur de stimulation cellulaire et tissulaire, le calcul d'optimisation doit porter également sur ses propriétés multiphysiques et sur les conditions extérieures d'actionnement.

Le recours à l'outil *in silico*, capable d'embrasser de manière contrôlée une grande part de la complexité biologique pour simuler la reformation tissulaire en fonction des conditions multiphysiques imposées, ne doit plus être négligé si l'on veut se donner le maximum de moyens scientifiques pour proposer des stratégies d'ingénierie tissulaire efficaces.

3.3.2. Ma Problématique

Comment calculer la microarchitecture optimale d'une matrice poreuse pour guider la reformation tissulaire ? Comment optimiser la reformation tissulaire à l'aide d'un biomatériau dynamique ? magnétique ? Quelles sont les propriétés multiphysiques optimales d'un biomatériau associé à un actionnement extérieur réaliste et inoffensif ?

3.3.3. Mes Objectifs

Pour répondre à cette problématique, j'ai le projet d'associer une modélisation mécanobiologique de formation tissulaire, telle que celle développée dans la thèse de Nicolas Rousseau, à des méthodes numériques d'optimisation topologique pour désigner de futurs biomatériaux dont l'architecture et les propriétés multi physiques auront été choisies et paramétrées du point de vue du tissu en cours de régénération en lui offrant localement une stimulation adéquate.

L'objectif de mon projet est ici d'obtenir une microarchitecture optimisée du point de vue mécanobiologique sans considérer de structure initiale a priori. Il s'agira de déterminer l'implant qui maximisera le processus d'ostéointégration en assurant à la fois stabilité et remodelage osseux, tout en tenant compte des procédés et paramètres de fabrication additive utilisés. Pour cela, il sera nécessaire de considérer les véritables situations de charges biomécaniques et l'environnement physiologique dans lequel les implants seront placés.

3.3.4. Protocole

Je développerai mon approche *in silico* au sein de la plateforme de calcul multi physique COMSOL. Cette plateforme m'offre la possibilité d'utiliser dans un même environnement toutes les briques *in silico* dont j'ai besoin :

- 1) Le modèle mécanobiologique de formation tissulaire (thèse de Nicolas Rousseau) déjà développé à l'aide de cette même plateforme
- 2) Un module d'optimisation topologique intégré
- 3) La possibilité de modéliser des propriétés matériaux et des sollicitations extérieures multiphysiques.

Pour calculer la microarchitecture optimale d'une matrice poreuse, je considérerai tout d'abord un volume donné biphasique : une phase représentant le matériau constitutif de la matrice, l'autre phase représentant le tissu en cours de formation ; ce volume sera soumis à des sollicitations mécaniques qui dépendront du site d'implantation du biomatériau. Les sollicitations imposées dans le modèle seront basées sur des enregistrements dynamiques locaux tels que ceux dérivés de cycles de marche.

Le calcul d'optimisation topologique consistera à évaluer un nombre important de microarchitectures de matrice poreuse au regard de la formation tissulaire obtenue en fin de simulation. Une gestion combinatoire ou génétique permettra de réduire considérablement le nombre de microarchitectures à évaluer.

L'approche proposée consistera, non plus à adapter des structures données a priori mais, à les déterminer comme solution d'un problème d'optimisation topologique, multi variables et multi objectifs [Bohner2011], basé sur un modèle mécanobiologique (et non plus uniquement mécanique) traduisant au mieux les processus de régénération osseuse. Le modèle que nous développons dans la

thèse de Nicolas Rousseau (Chapitre 2.4.2) apparaît plus complet que celui de Prendergast et Lacroix, 1997 et 2002 et permet de considérer plus finement les processus cellulaires en jeu.

Dans un deuxième temps, j'attribuerai des propriétés magnétiques au matériau constitutif de la matrice poreuse. Le volume biphasique représentant matrice et tissu en cours de formation sera soumis à un champ magnétique.

Là encore le calcul d'optimisation topologique consistera à évaluer un nombre important de microarchitectures de matrices poreuses au regard de la formation tissulaire simulée numériquement et stimulée mécaniquement par l'application d'un champ magnétique sur le biomatériau.

Différents traitements de surface pourront être simulés comme dans la thèse de Nicolas Rousseau. Des contraintes de fabrication pourront être intégrées au calcul d'optimisation topologique. Les structures ainsi calculées pourront être fabriquées par impression 3D et testées in vitro à l'aide de bioréacteurs et/ou implantées in vivo pour estimer leur véritable potentiel d'ostéoconduction. Les cinétiques de croissance et maturation osseuse observées expérimentalement enrichiront à leur tour le modèle in silico.

3.4. Intégrer une approche mécanobiologique dans les modèles biomécaniques macro

Les résultats obtenus à l'aide du modèle biomécanique de la main, apportent des éléments de compréhension sur les risques d'apparition et de développement de l'arthrose à l'échelle tissulaire. Pour préciser ces éléments, il est nécessaire de considérer à terme une approche multi-échelles du cartilage en intégrant l'échelle cellulaire et matricielle, qui est le siège des mécanismes de l'arthrose. En effet, l'arthrose est avant tout une maladie inflammatoire dont la conséquence est une dégradation active de la matrice cartilagineuse par les cellules. De plus, l'arthrose peut s'accompagner d'une calcification de la matrice cartilagineuse.

La modélisation du cartilage par un comportement hyperélastique proposée jusqu'alors pourrait être amenée à évoluer vers un comportement biphasique poroélastique prenant en compte les phases solide et liquide du cartilage et les paramètres d'hydratation et de perméabilité de la matrice cartilagineuse [Rivers2000 ; Halonen2017 ; Klets2016]. Pour mettre en relation le comportement mécanique du cartilage à sa réponse biologique, il faut ensuite intégrer un modèle mécanobiologique d'évolution du cartilage [Eskelinen2020 ; Orozco2018].

À l'aide d'un modèle de cartilage évolutif [Gardiner2016 ; Klets2018 ; Mukherjee2020] incluant des processus de vieillissement du cartilage et de progression de l'arthrose, il serait alors possible de décrire le rôle de la charge mécanique dans la dégénérescence arthrosique et de prédire le niveau d'usure du cartilage en fonction de l'historique des chargements mécaniques. En effet, il faut rappeler l'importance du nombre et de la fréquence des cycles de chargement sous-maximaux appliqués au cartilage [Chen1999]. Il serait intéressant de vérifier si même à faible intensité, la préhension *pinch grip* reste plus traumatisante sur un grand nombre de cycles comparé à d'autres préhensions telle le *power grip*.

Grâce à ce modèle, les modes de chargements les plus délétères pourront être identifiés comme les efforts soutenus pendant une longue période ou de façon répétée sans repos. De même, le régime de sollicitation mécanique nécessaire pour maintenir la viabilité du cartilage pourra être identifié. Des recommandations pourront être proposées dans le domaine de l'ergonomie sur la base de ses résultats numériques. Cette approche pourra également prédire les bénéfices d'une chirurgie réparatrice du cartilage ou encore l'impact d'une arthroplastie ou d'une arthrodèse sur les articulations voisines.

4. HDR 1e CV

4.1. Profil professionnel

Jean-Louis MILAN né le 04 février 1980 jean-louis.milan@univ-amu.fr
Maître de Conférence depuis 2010
Faculté des Sciences du Sport, Aix-Marseille Université
Institute des Sciences du Mouvement UMR 7287 Aix-Marseille Université & CNRS
Rémunération : Echelon 7

ORCID <https://orcid.org/0000-0001-5191-3094>

Post-doctorats

2007-2009 "Approche in silico pour l'ingénierie tissulaire". J. Planell; D. Lacroix Institute of Bioengineering of Catalunya (IBEC) Barcelona.

2009-2010 "Implémentation 3D du modèle mécanique cellulaire", ISM, Marseille

Formation

Doctorat en Biomécanique (2007)

"Mechanical behaviour of living cells. Development of computational model based on tensegrity and divided medium theory." (Directeur de thèse : Pr Patrick Chabrand ; Co-directrice de thèse : Sylvie Wendling)

Master en Mécanique (M Sc.) (2003)

Diplôme d'Ingénieur (Ecole Centrale, Marseille) (2003)

Expertise scientifique :

Modélisation in silico en biomécanique et mécanobiologie des cellules et tissus

Accueil en Délégation CNRS ISM en 2019-2020 renouvelé en 2020-2021

Attribution PEDR 2020-2024

4.2. Profil publiant

H index (Scopus) = 8

18 articles scientifiques publiés dans des journaux à comité de lecture et indexés dans le Web of Sciences

252 citations

6,7 % des articles font partie des 10 % les plus cités au monde.

70 % des articles ont été publiés dans des revues Q1

40 % des articles ont fait l'objet de collaborations internationales.

Publié dans des revues dont le facteur d'impact (FI) est de :

IF = 11.880 Nature Communication [Q1]

IF = 10.273 Biomaterials [Q1]

IF = 3.682 European Cells & Materials Journal (ECM Journal) [Q1]

IF = 3.665 Biophysical Journal (Biophys J) [Q1]

IF = 3.642 Journal of Manufacturing Systems (JMSY) [Q1]

IF = 3.485 Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials [Q1]

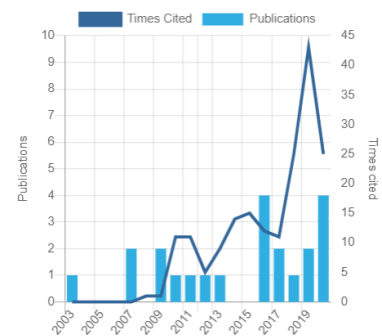
IF = 3.323 Biomechanics and Modelling in Mechanobiology (BMMB) [Q1]

IF = 2.776 PLOS One [Q1]

IF = 2.620 Clinical Oral Investigations (Clin Oral Inv) [Q1]

IF = 2.576 Journal of Biomechanics (J. Biomech) [Q1]

IF = 1.974 Computer Methods in Biomechanics and Biomedical Engineering (CMBBE) [Q2]



- Rousseau, N., Msolli, I., Chabrand, P., Destainville, A., Richart, O. and **Milan, J.-L.** Local tissue effects and peri-implant bone healing induced by implant surface treatment: an *in vivo* study in the sheep. J Periodont Res. 2021. <https://doi-org.lama.univ-amu.fr/10.1111/jre.12878>
- Faudot B, Ballerini J, Ross M, Bellemère P, Goislard de Monsabert B, Vigouroux L, **Milan JL.** Mechanical performance comparison of two surgical constructs for wrist four-corner arthrodesis via dorsal and radial approaches. Clin Biomech (Bristol, Avon). 2021 Feb;82:105274. doi: <https://10.1016/j.clinbiomech.2021.105274> Epub 2021 Jan 14. PMID: 33508561.
- Faudot B, **Milan JL,** Goislard de Monsabert B, Le Corroller T, Vigouroux L. Estimation of joint contact pressure in the index finger using a hybrid finite element musculoskeletal approach. Comput Methods Biomech Biomed Engin. 2020 Nov;23(15):1225-1235. <https://doi:10.1080/10255842.2020.1793965> Epub 2020 Jul 17. PMID: 32678683.
- Nayana Tusamda Wakhloo, Sebastian Anders, Florent Badique, Melanie Eichhorn, Isabelle Brigaud, Tatiana Petithory, Maxime Vassaux, **Jean-Louis Milan,** Jean-Noël Freund, Jürgen Rühle, Patricia M. Davidson, Laurent Pieuchot, Karine Anselme, Actomyosin, vimentin and LINC complex pull on osteosarcoma nuclei to deform on micropillar topography, Biomaterials, 2020, 119746, ISSN 0142-9612, <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2019.119746>
- **Milan Jean-Louis,** Chan Yone Claudia, Rossi Jean-Marie, Chabrand Patrick, Simulating pharmaceutical treatment effects on osteoporosis via a bone remodeling algorithm targeting hypermineralized sites, Medical Engineering & Physics, 76, 2020, 56-68. <https://doi.org/10.1016/j.medengphy.2019.10.011>
- D. Remache, M. Semaan, J.M. Rossi, M. Pithioux, **J.L. Milan,** Application of the Johnson-Cook plasticity model in the finite element simulations of the nanoindentation of the cortical bone., Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials, Volume 101, 2020, 103426, ISSN 1751-6161, <https://doi.org/10.1016/j.jmbbm.2019.103426>
- Maxime Vassaux, Laurent Pieuchot, Karine Anselme, Maxence Bigerelle, **Jean-Louis Milan,** A Biophysical Model for Curvature-Guided Cell Migration, Biophysical Journal, Volume 117, Issue 6, 2019, Pages 1136-1144, ISSN 0006-3495, <https://doi.org/10.1016/j.bpj.2019.07.022>
- Jeanneau C, Giraud T, **Milan JL,** About I. Investigating unset endodontic sealers' eugenol and hydrocortisone roles in modulating the initial steps of inflammation. Clin Oral Investig. 2019 May 21. <https://doi.org/10.1007/s00784-019-02957-2>
- Ian Manificier, Kevin M. Beussman, Sangyoon J. Han, Nathan J. Sniadecki, Imad About & **Jean-Louis Milan.** The consequence of substrates of large-scale rigidity on actin network tension in adherent cells. Computer Methods in Biomechanics and Biomedical Engineering, Comput Methods Biomech Biomed Engin. 2019 Oct;22(13):1073-1082. <https://doi.org/10.1080/10255842.2019.1629428>
- Laurent Pieuchot, Julie Marteau, Alain Guignandon, Thomas Dos Santos, Isabelle Brigaud, Pierre-François Chauvy, Thomas Cloatre, Arnaud Ponche, Tatiana Petithory, Pablo Rougerie, Maxime Vassaux, **Jean-Louis Milan,** Nayana Tusamda Wakhloo, Arnaud Spangenberg, Maxence Bigerelle & Karine Anselme. Curvotaxis directs cell migration through cell-scale curvature landscapes. Nature Communications volume 9, Article number: 3995 (2018). <https://doi.org/10.1038/s41467-018-06494-6>
- Maxime Vassaux, **Jean-Louis Milan.** Stem cell mechanical behaviour modelling: substrate's curvature influence during adhesion. Biomechanics and Modelling in Mechanobiology. 2017. <https://doi.org/10.1007/s10237-017-0888-4>

- Yassine Saadlaoui, **Jean-Louis Milan**, Jean-Marie Rossi, Patrick Chabrand. Topology optimization and additive manufacturing: Comparison of conception methods using industrial codes. *Journal of Manufacturing Systems*, Volume 43, Part 1, April 2017, Pages 178–186. <https://doi.org/10.1016/j.jmsy.2017.03.006>
- **Jean-Louis Milan**, Ian Manificier, Kevin M. Beussman, Sangyoon J. Han, Nathan J. Sniadecki, Imad About, Patrick Chabrand. In silico CDM model sheds light on force transmission in cell from focal adhesions to nucleus. *Journal of Biomechanics* 2016. <https://doi.org/10.1016/j.jbiomech.2016.05.031>
- Ian Manificier, **Jean-Louis Milan**, Charlotte Jeanneau, Fanny Chmielewsky, Patrick Chabrand, Imad About. Computational Tension Mapping of Adherent Cells Based on Actin Imaging. *PLOS One*. Published: January 26, 2016. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0146863>
- **J.L. Milan**, S. Lavenus, P. Pilet, G. Louarn, S. Wendling, D. Heymann, P. Layrolle and P. Chabrand. Computational model combined with in vitro experiments to analyze mechanotransduction during mesenchymal stem cell adhesion. *European Cells and Materials Journal* Vol. 25 2013 (pages 97-113). <https://doi.org/10.22203/eCM.v025a07>
- **J. L. Milan**, J.A. Planell, D. Lacroix. Simulation of bone tissue formation within a porous scaffold under dynamic compression. *BMMB* 2010, 9,5,583-596, <https://doi.org/10.1007/s10237-010-0199-5>
- **J.L. Milan**, J.A. Planell, D. Lacroix. Computational modelling of the mechanical environment of osteogenesis within a polylactic acid-calcium phosphate glass scaffold. *Biomaterials* 2009, 30, 25, 4219-4226, <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2009.04.026>
- **J. L. Milan**, S. Wendling-Mansuy, M. Jean, P. Chabrand. Divided medium-based model for analyzing the dynamic reorganization of the cytoskeleton during cell deformation. *BMMB* 2007, 6, 6, 373-390, <https://doi.org/10.1007/s10237-006-0057-7>

Participation à l'écriture de 2 Livres Scientifiques :

- Chapitre « Biomécanique du système ostéoarticulaire : de l'organe au tissu et à la cellule ». Patrick CHABRAND, Jean-Louis MILAN, Martine PITHIOUX. Livre « Biomatériaux et biomécanique », Techniques de l'ingénieur. Référence MED8060 Date de publication :10 déc. 2015.
- Chapter 13 Designing Optimal Scaffold Topographies to Promote Nucleus-Guided Mechanosensitive Migration Using in Silico Models. Livre «Developments and Novel Approaches in Biomechanics and Metamaterials ». Advanced Structured Materials. Editeurs : Bilen Emek Abali & Ivan Giorgio.

Participations à plus de 30 conférences en tant que présentateur ou co-signataire des travaux :

- Jean-Louis Milan Laurent Pieuchot, Maxime Vassaux. Curvature-guided cell migration relies on the mechanical cooperation between the nucleus and the cytoskeleton. ICONSOM, 16-19/06/2019, Rome
- Laurent Pieuchot, Maxime Vassaux, Alain Guignandon, Julie Marteau, Jean-Louis Milan, et al.. La curvotaxie ou comment la migration des cellules est dirigée par la courbure de leur environnement. *Matériaux* 2018, Nov 2018, Strasbourg, France. (hal-02188974)
- Laurent Pieuchot, Pablo Rougerie, Maxime Vassaux, Julie Marteau, Pierre-François Chauvy, et al.. Curvature-dependent mesenchymal cells and epithelial tissue migration and orientation. *Interface Biology of Implants IBI* 2019, May 2019, Rostock, Germany.
- Laurent Pieuchot, Maxime Vassaux, Julie Marteau, Thomas Cloatre, Tatiana Petithory, et al.. How cells surf the waves? Curvotaxis directs migration through cell-scale natural landscapes. *American Society for Cell Biology C.1 Materials, Surfaces and Interfaces for Medical Applications and Health*, Dec 2016, San Francisco, United States. (hal-02175663)
- HOW CELLS SURF THE WAVES? CURVOTAXIS DIRECTS CELL MIGRATION THROUGH CELL-SCALE NATURAL LANDSCAPES. L. Pieuchot, M. Vassaux, J. Marteau, T. Petithory, I. Brigaud, P-F. Chauvy, A. Ponche, J-L. Milan, P. Rougerie, M. Bigerelle, K. Anselme. *Materials, Surfaces and Interfaces for Medical Applications and Health*. XXVI International Materials Research Congress 2017

- Mechanical cortical bone characterization with the finite element method based inverse method. Djamel Remache, Marie Semaan, Cécile Baron, Martine Pithioux, Patrick Chabrand, Jean-Marie Rossi, Jean-Louis Milan 2017/3/27. Neuron, Volume 557, 65624
- Mechanical characterization of porcine skin with the Finite Element Method based Inverse Optimization Approach. Djamel Remache, Serge Dos Santos, Michael Cliez, Michel Gratton, Patrick Chabrand, Jean-Marie Rossi, Jean-Louis Milan 2017/5/18 World Academy of Science, Engineering and Technology, International Journal of Biomedical and Biological Engineering Vol4,N5, 2017
- Identification of the Orthotropic Parameters of Cortical Bone under Nanoindentation. D Remache, M Semaan, C Baron, M Pithioux, P Chabrand, JM Rossi, JL Milan. 2017/5/4. World Academy of Science, Engineering and Technology, International Journal of Sport and Health Sciences, 4, 5, 2017
- Mechanotransduction during cell adhesion: Numerical analysis of the influence of substrate topology. Maxime Vassaux, Jean-Louis Milan. WCCM 24-29 July 2016 Seoul
- Computational Tension Mapping of Adherent Cells Based on Actin Imaging. Ian Manificier, Jean-Louis Milan, C Jeanneau, F Chmielewsky, P Chabrand, I About. MechBio 22-24 March 2016, Amsterdam
- Curvotaxis directs cell migration through cell-scale topographical landscapes. L Pieuchot, M Vassaux, T Cloatre, I Brigaud, T Petithory, J Milan, M Bigerelle, K Anselme. 2016/1/1. MOLECULAR BIOLOGY OF THE CELL 27. AMER SOC CELL BIOLOGY
- Mechanotransduction during cell adhesion: Numerical analysis of the influence of substrate topology. Maxime Vassaux, Jean-Louis Milan. Mechanobiology, from molecules to tissues – theory and application, 26 June- July 2, 2016, ICISE Quy Nhon, Vietnam
- Computational modelling of mechanotransduction during cell adhesion. Jean-Louis MILAN, Sandrine LAVENUS, and Patrick CHABRAND. 11th World Congress on Computational Mechanics (WCCM XI), 5th European Conference on Computational Mechanics (ECCM V), July 20 - 25, 2014, Barcelona, Spain
- Modèle mécanique multi-interactions pour analyser le tonus de cellules mésenchymateuses cultivées in-vivo. Jean-Louis MILAN, Sandrine LAVENUS, Pierre Layrolle, Patrick CHABRAND. 11ème colloque national en calcul des structure. CSMA Giens 13-17 mai 2013.
- Model based on homogenization and μ CT analysis for trabecular bone remodelling.
- C. CHAN YONE, J.L. MILAN, J.M. ROSSI and P. CHABRAND. Congress of French Society of Biomechanics. Toulouse 16-19/10 2012
- Mechanotransduction during cell adhesion analyzed by computational model. Jean-Louis MILAN, Sandrine LAVENUS, Sylvie WENDLING, Michel JEAN, Pierre Layrolle and Patrick CHABRAND. 18th Congress of the European Society of Biomechanics ESB 1-4 July 2012 Lisbon.
- Homogenization and μ CT analysis for trabecular bone remodelling. C. CHAN YONE, J.L. MILAN, J.M. ROSSI and P. CHABRAND. Congress of French Society of Biomechanics. Besançon 31/08-02/09 2011
- Computational modeling of mechanotransduction in bone : from micro to macro J.L. Milan, C. Chan Yone, J.M. Rossi and P. Chabrand. ASME Applied Mechanics and Materials Conference, McMAT Chicago 2011
- A 3D model of trabecular bone remodeling based on cellular activities C. CHAN YONE, J.L. MILAN, J.M. ROSSI and P. CHABRAND. Congress of French Society of Biomechanics. Besançon 31/08-02/09 2011
- FEM-CFD-based model to analyze mechanical stimulation of osteogenesis in PLA-Glass scaffold J. L. Milan, J.A. Planell, D. Lacroix. 4th International Conference on Computational Bioengineering (ICCB). Bertinoro, Italy 16-18 September 2009
- Mode of failure of a biomaterial composite scaffold for bone tissue engineering using synchrotron microtomography and finite element analysis. J.L. Milan, C. Sandino, S. Midderhoff, L. Marques, J.A. Planell, D. Lacroix. 12th International Conference on Fracture (ICF). Ottawa, Canada, 12-17 Juillet 2009.
- Simulation of tissue differentiation within a PLA-Glass scaffold J. L. MILAN, J. A. PLANELL and D. LACROIX 3a edición del Congreso Ibérico de Biomateriales. Barcelona, Espagne, 17-18 septembre 2008
- Granular medium to analyze cytoskeleton mechanics J.L. MILAN, S. WENDLING-MANSUY, M. JEAN, P. CHABRAND Cell Biomechanics Meeting. Paris, 23-24 Septembre 2005
- Cytoskeleton dynamical behaviour approached by a granular tensegrity model. J.L. MILAN, S. WENDLING-MANSUY, M. JEAN, P. CHABRAND 20th Congress of the International Society of Biomechanics, Cleveland. 31 Juillet – 5 Août 2005
- Bone remodelling model of a basic multicellular unit. S. WENDLING-MANSUY, E. RIXRATH, J.L. MILAN, P. CHABRAND 20th Congress of the Inter Society of Biomechanics, Cleveland. 1- 5/08/2005
- Granular tensegrity model to analyze the cytoskeleton organization in adherent cells J.L. MILAN, S. WENDLING-MANSUY, M. JEAN, P. CHABRAND Shell and Spatial Structures from Models to Realization (IASS), Montpellier, 20-24 septembre 2004

4.3. Responsabilités scientifiques :

J'ai été responsable de projets de recherche financés par des AAP nationaux ou de Work-Packages dans différents projets que je détaillerai dans la suite du manuscrit.

4.3.1. - Responsable du WP 4 de l'ANR « Sinus surf » 2013-2017

Le projet ANR « Sinus surf » 2013-2017 portait sur la déformation de cellules eucaryotes induite par une topographie sinusoïdale (AAP ANR Blanc SVSE 5 - Physique, chimie du vivant et innovations biotechnologiques).

La tâche (WP4) dont je fus responsable concernait la « Simulation de la déformation cellulaire au cours de l'adhésion sur matériaux à topographie sinusoïdale ». Pour cette tâche, j'ai recruté et encadré Maxime Vassaux en tant que post-doctorant de 2015 à 2017.

La subvention totale pour le projet fut de 660 k€. La subvention allouée au WP4 fut de 160 k€.

Ce projet a permis de découvrir la curvotaxis cellulaire. Ce projet ANR Sinus Surf a permis de créer des surfaces sinusoïdales en PDMS pour la culture cellulaire. En particulier, ces surfaces grâce à leurs régions concaves permettent de conserver les cellules souches dans leur état indifférencié.

Les moules de ces surfaces obtenus par la technique d'électroérosion, présentent des profils sinusoïdaux parfaits et peuvent également servir de surfaces étalon pour la métrologie.

Les résultats de Sinus Surf sont décrits plus en détail dans les chapitres 2.3.4 et 2.3.5.

Ce projet a abouti à 3 publications dont un article scientifique publié dans Nature Communications [Vassaux2017 ; Pieuchot2018 ; Vassaux2019]

4.3.2. - Responsable du WP 2 du FUI15 « Quick Mold » 2013-2017

J'ai eu l'opportunité de faire partie du consortium du projet Quick Mold au tout début de sa création du fait de mes compétences en modélisation numérique en optimisation topologique et en mécanique des matériaux granulaires.

Le projet Quick Mold était dédié au développement d'une nouvelle méthodologie de conception de moules alvéolaires destinés à l'injection plastique. Il a été labellisé par 3 pôles de compétitivités : PEGASE (actuel SAFE), PLASTIPOLIS et EUROBIOMED. Le projet Quick Mold a permis la création de 15 emplois.

Le projet Quick Mold, d'un budget total de 3 M€ a été financé en partie par l'AAP FUI 15 d'octobre 2013 à juin 2017, à hauteur de 1,3 M€.

Le WP2 dont je fus responsable concernait la « Modélisation et optimisation des structures alvéolaires de moules à injection plastique obtenus par frittage laser »

Pour réaliser cette tâche, une subvention de 166k€ fut allouée par le FUI 15 à notre équipe GIBOC-via Aix-Marseille Université, sans compter le salaire environné des personnels permanents impliqués. Cette subvention m'a permis de financer 2 contrats d'ingénieurs, la location de logiciels de calcul mécanique et l'achat de consommables pour la réalisation de pièces par frittage laser. J'ai ainsi recruté et encadré Yassine Saadlaoui (2014-2015) en tant qu'Ingénieur d'étude et Djamel Remache (2015-2017), en tant qu'Ingénieur de recherche.

Le constat qui a fait naître le projet Quick Mold est que la fabrication traditionnelle par usinage des moules pour l'injection plastique aboutit à des délais de fabrication très longs (10 à 12 semaines) et à des coûts très élevés (de 20 000 à plusieurs centaines de milliers d'euros par moule). Des techniques de substitution telles que l'usinage de moules aluminium ou le prototypage rapide existent, mais ne

garantissent pas une compatibilité du moule avec toutes les matières à injecter. Le projet QUICKMOLD vise donc à concevoir par fusion laser de poudre métallique une empreinte de moule alvéolaire pour des applications d'injections plastique. Les spécificités de ce procédé innovant doivent permettre de réaliser un moule compatible avec toutes les matières, dans des délais très courts et à prix réduit.

Les objectifs du projet ont été de développer : -un outil de modélisation des structures alvéolaires afin d'en optimiser les propriétés ; une méthodologie de conception des moules alvéolaires ; un outil d'aide à la conception de moules alvéolaires ; la compétitivité des partenaires impliqués et les parts de marché des industriels.

Le caractère innovant du projet fut avant tout la méthodologie de conception de moules à partir de simulations numériques mécaniques et thermiques, et la technologie de fabrication par impression 3D à poudres métalliques

Dans le cadre du projet Quick Mold, les calculs numériques d'optimisation topologique combinés à la fabrication additive métallique ont permis de proposer des empreintes de moules alvéolaires de très bonne tenue mécanique et possédant une masse et un volume de matière beaucoup plus faibles. Cette preuve de concept a montré qu'il est possible d'économiser près de 70% du coût de fabrication en réduisant à la fois le coût des matériaux et le temps de fabrication.

De plus, la fabrication additive a permis d'intégrer des canaux de régulation optimisés calculés par le partenaire ARMINES à l'aide de simulations numériques thermiques pour être au plus proche de la surface moulante dans les outillages d'injection. Les moules ainsi fabriqués ont montré un comportement tout à fait satisfaisant sur un nombre très élevé de cycles d'injection. Le refroidissement optimisé de ces moules a permis d'augmenter ainsi la productivité des presses en réduisant le temps de cycle d'injection de 25 %.

Consortium et Compétences clés :

INOVAPLAST : leader du projet et spécialiste de l'injection plastique

Poly-Shape : fabricant de moule et spécialiste de la fusion laser de poudre métallique

Oxytronic : Equipementier électronique pour l'aéronautique (pièces petites et moyennes séries).

Mécacorp : Injecteur dans le domaine automobile (pièces grandes séries).

ARTS : Arts et Métiers Aix-en-Provence, Centre de recherche en mécanique, ingénierie et procédé

AMU-ISM : Centre de recherche en mécanique et ingénierie,

ARMINES-CEMEF : Centre de recherche en mécanique des procédés et transformation des matériaux

Le projet a notamment débouché sur la publication de nos travaux [Saadlaoui2017]. Cette publication est l'une des plus lues de l'ISM avec 4500 lectures sur ResearchGate.

4.3.3. - Responsable WP du Défi CNRS « REPOUSSE » 2016-2018.

Le projet **REPOUSSE**, dont **Martine Pithioux** fut la coordinatrice fut retenu par le Défi Mécanobio Mission pour l'Interdisciplinarité du CNRS dans le cadre du Défi Mécanobio pour la période 2016-2018. Je fus responsable de la tâche consacrée à l'analyse couplée in vitro-in silico de la régénération de matrice osseuse par des cellules mises en culture dans un hydrogel au sein d'un bioréacteur.

J'ai encadré le stage M2 BTI de Maxime Vella, consacré aux essais in vitro de stimulation mécanique des cellules en culture 3D dans un bioréacteur.

Budget = 6k€

Ce projet a abouti au dépôt du projet ANR Periost-Child « Periosteum engineering for stimulating children bone growth » réunissant ISM, LBTI, ICube, Mateis, LMGP et CEISAM et LAAS en sous traitance. Ce projet n'a malheureusement pas été retenu.

Les résultats du défi ont été présentés lors d'une journée CNRS le 4 mai 2017 à Paris Michel Ange et lors de la journée de lancement du GDR « homme réparé » le 05 Mars 2017.

4.3.4. - Responsable du PEPS INSIS-2016 Cells&Nanofibers.

Ce projet déposé dans le cadre d'un PEPS-INSIS du CNRS a été retenu. Il visait à recréer pour l'ingénierie tissulaire un environnement cellulaire proche de la matrice native à l'aide de substrats nanofibrillaires et en s'appuyant sur la modélisation in silico pour identifier le design optimal.

Le consortium était formé par ISM (UMR7287) et LBTI (UMR5305) et LMGC (UMR 5508).

Le budget accordé fut de 15 000 €

Le projet Cellules & Nanofibres propose une alternative aux biomatériaux classiques utilisés en ingénierie tissulaire en développant un matériau biomimétique dont la micro et nano structure fibrillaire se rapprochent de la structure fibreuse de la matrice extra cellulaire originelle. Ce projet est porté par un consortium interdisciplinaire et expert en développement de matériaux pour l'ingénierie tissulaire, en analyse biocellulaire, en mécanique cellulaire et en mécanique des matériaux complexes. L'aide PEPS INSIS a permis de réaliser des travaux in silico et in vitro (Figure 1) préliminaires nécessaires à l'éligibilité auprès d'appels à projets. Le PEPS INSIS Cellules & Nanofibres a débouché sur le dépôt de 4 projets, malheureusement sans succès : un projet ANR, un projet Défi CNRS et deux demandes de financements de thèses AMU (voir chapitre 4.9.6).

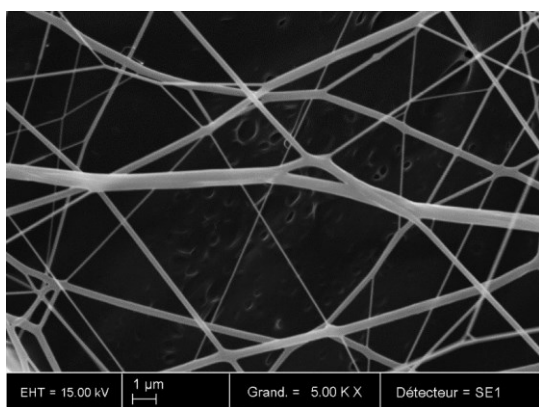
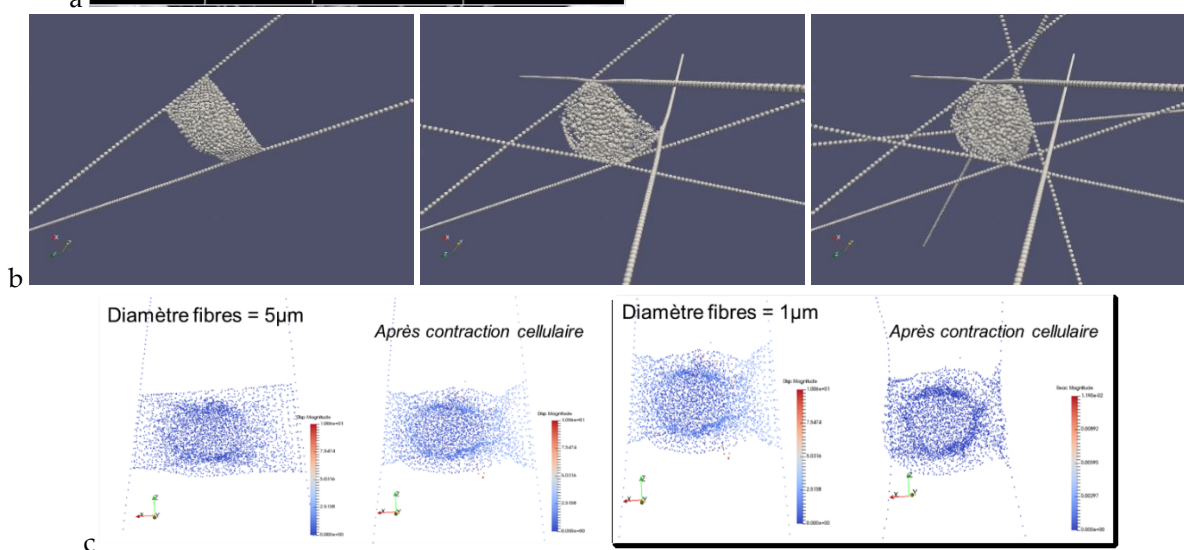


Figure 1 : a) Image au microscope d'un substrat fibreux. b) Modèle cellulaire en adhésion 3D à 2, 5 ou 8 fibres. c) Calcul des forces intracellulaire en fonction de la rigidité des fibres. Estimation de la tension intracellulaire en fonction de la rigidité des fibres. Fibres soft : $K = 5.10^3 \text{ nN}/\mu\text{m}$; Fibres stiff : $K = 5.10^4 \text{ nN}/\mu\text{m}$



	Nombre de fibres impliquées dans l'adhésion cellulaire					
	2		5		8	
Rigidité des fibres	soft	stiff	soft	stiff	Soft	stiff
Tension intracellulaire	4nN	18nN	5nN	25nN	7nN	45nN

4.3.5. - Co-responsable d'une action incitative au sein de l'ISM

Dans le cadre de l'Axe « Main », axe de recherche transverse intra laboratoire ISM et inter-équipes (Responsable Laurent Vigouroux). Nous avons obtenu une aide de l'ISM de 4 000 € pour financer les stages ingénieur 2A ENSAM de Guillaume Gabriel et 3A SIGMA de de Barthélémy Faudot sur la modélisation biomécanique de la main arthrosique couplant d'une part une approche musculosquelettique et de dynamique inverse et d'autre part une modélisation par éléments finis de la géométrie et de la qualité tissulaire des articulations de la pince pouce-index.

4.3.6. - Responsable de contrats de recherche avec des entreprises

4.3.6.1. SACIMEX

- Directeur : Alain Bert Période 2013-2020
- Analyse de la tenue mécanique de système de fixation de bandelettes supportant le greffon tendineux pour la ligamentoplastie. Mise au point d'un protocole d'essai de traction mécanique où le système de ligamentoplastie est implanté dans un genou bovin. Contrat de 8000 € sur la période.

4.3.6.2. OSD

- Contact : Max Nemoz Gaillard, Période 2015-2020
- Analyse biomécanique de la tenue mécanique de cages intersomatiques pour un total de 5000 €

4.3.7. - Responsable du contrat avec Selenium Medical

Ce contrat porte sur l'encadrement de la thèse CIFRE de Nicolas Rousseau de 2017 à 2020 employé par l'entreprise Selenium Medical. Ce contrat d'accompagnement a été conclu entre Aix-Marseille Université et Sélénium Médical de manière à ce que Selenium Medical reste propriétaire de l'utilisation commerciale et industrielle des résultats.

Ce contrat s'élève à **240k€** versés à l'équipe GIBOC par Sélénium Medical sur la période 2018 à 2021 et dont les 2/3 ont déjà été versés.

4.4. Encadrement doctoral et scientifique :

4.4.1. Doctorants

4 Thèses co-encadrées depuis 2012 dont 3 ont été soutenues et pour lesquelles j'ai participé au jury :

Claudia Chan Yone. 2009-2012 soutenue en Décembre 2012 Encadrement 30%
Modèle numérique de vieillissement de l'os trabéculaire considérant l'hyperminéralisation du tissu et le chargement mécanique
Directeurs de thèse : Christian Hochard, Patrick Chabrand, Jean-Louis Milan et Jean-Marie Rossi.
Ecole Doctorale Physique, Modélisation et Sciences pour l'Ingénieur

Ian Manifacier 2013-2016, soutenue en Décembre 2016 Encadrement 80%
Estimation des forces de contraction au sein de cellules adhérentes en fonction de l'influence du substrat.
Directeurs de thèse : Imad About et Jean-Louis Milan.
Ecole Doctorale Science du Mouvement Humain

Barthélémy Faudot 2017-2021 soutenue en Avril 2021 Encadrement 50%
Développement d'un modèle biomécanique de la main
Directeurs de thèse : Laurent Vigouroux et Jean-Louis Milan
Ecole Doctorale Science du Mouvement Humain

Nicolas Rousseau 2017- soutenance en Juillet 2021 Encadrement 70%
Optimisation biomécanique et biochimique de l'ancrage osseux primaire d'un implant pour le traitement de fractures
Directeurs de thèse : Patrick Chabrand et Jean-Louis Milan
Ecole Doctorale Science du Mouvement Humain

4.4.2. Post-doctorants

Encadrement de 3 Post-doctorats et travaux d'Ingénieur de recherches et d'études :

Maxime Vassaux 01/10/2015-30/04/2017 Encadrement 100%

Post-doctorat sur projet ANR Sinus Surf 2013-2017
Influence de la topographie de surface du substrat sur le comportement mécanique cellulaire

Yassine Saadlaoui 01/10/2014-30/09/2015 Encadrement 100%
Ingénieur d'étude recruté sur projet FUI 15 Quick Mold 2013-2017
Optimisation topologique de moules pour l'injection plastique, fabriqués par frittage laser

Djamel Remache 01/10/2015-30/04/2017 Encadrement 100%
Ingénieur d'étude recruté sur projet FUI 15 Quick Mold 2013-2017
Optimisation topologique de moules pour l'injection plastique, fabriqués par frittage laser

4.4.3. Stagiaire Master 2 / Ingénieurs 3A

13 Stages de Master 2

Thomas Valério 01/03/2021-31/08/2021 Encadrement 50%
Modélisation biomécanique de la main
Master 2 Ingénierie et Ergonomie du Mouvement Humain
Faculté des Sciences du Sport & Ecole Doctorale Science du Mouvement Humain

Dongshu Liu 01/03/2020-31/08/2020 Encadrement 70%
Co-encadrant Maxime Vassaux 30%
Simulation numérique de la migration cellulaire
3A ENSTA Paris - Institut Polytechnique de Paris

Mary Bakassa Traoré 01/03/2020-31/08/2020 Encadrement 50%
Université Paul Sabatier de Toulouse
Modélisation biomécanique de la main

Marlain Gnanhan 21/03/2017-20/09/2017 Encadrement 100%
Master Sciences de l'Ingénieur (SDI) Université Pierre et Marie Curie (UPMC), Paris
Modélisation de l'interaction cellules-matrices. Etude de l'influence de la rigidité structurale

Barthélémy Faudot 01/03/2017-31/08/2017 Encadrement 50%
Ecole d'ingénieurs SIGMA Clermont Ferrand
Modélisation biomécanique de la main

Florian Demeusy 01/03/2016 – 31/08/2016 Encadrement 100%
Ingénieur Ecole Centrale Marseille. Modélisation de l'adhésion de cellules.

Guillaume GABRIEL 01/03/2016 – 31/08/2016 Encadrement 50%
Ingénieur ENSAM Aix-en-Provence. Modélisation biomécanique de la main

Maxime Vella 01/02/2016-30/07/2016 Encadrement 100%
Influence de la stimulation mécanique des chondrocytes sur la synthèse de matrice cartilagineuse.
Master 2 BioIngénierie des Tissus et des Implants
Faculté des Sciences du Sport & Ecole Doctorale Science du Mouvement Humain

Julie Ferandiz 01/02/2016-31/07/2016 Encadrement 100%
Etude du comportement du disque intervertébral à l'aide d'un modèle biophysique poroélastique
Master 2 BioIngénierie des Tissus et des Implants
Master 2 BioIngénierie des Tissus et des Implants
Faculté des Sciences du Sport & Ecole Doctorale Science du Mouvement Humain
Encadrement de stagiaires M1, 2 stagiaires L2, 2 stagiaires L3.

Mathieu Maisani 01/02/2013-30/07/2013 Encadrement 30%
Master 2 BioIngénierie des Tissus et des Implants
Caractérisation mécanique du cartilage équin présentant différents niveaux d'usure
Employeur Sanofi 50% P. Chabrand 20%
Master 2 BioIngénierie des Tissus et des Implants
Faculté des Sciences du Sport & Ecole Doctorale Science du Mouvement Humain

Nicolas Laugier 01/02/2012-30/07/2012 Encadrement 100%
Modélisation de la régénération d'un déficit osseux à l'aide d'un biomatériau ostéoconducteur.
Master 2 Sciences du Mouvement Humain
Faculté des Sciences du Sport & Ecole Doctorale Science du Mouvement Humain

Lucie Bouchinet 01/02/2012-30/07/2012 Encadrement 40%
Modélisation numérique du comportement mécanique de stents aortiques
Employeur St George Medical 60%
Master 2 Sciences du Mouvement Humain
Faculté des Sciences du Sport & Ecole Doctorale Science du Mouvement Humain

Carole Magnier 01/02/2005-30/07/2005 Encadrement 40%
Modélisation du remodelage osseux vu comme un équilibre thermodynamique
Sylvie Wendling 60%
Master 2 Mécanique des matériaux et des structures
Ecole Supérieure d'Ingénieurs de Marseille
Ecole doctorale Physique, Modélisation et Sciences pour l'Ingénieur

11 encadrements de Stages de L2 – M1 :
6 stagiaires M1, 2 stagiaires L2, 2 stagiaires L3.

1 alternant recherche de l'Ecole Centrale 1A 2020-2021 « Simulation de la migration cellulaire »

4.5. Projets en Enseignement

Je coanime depuis 2017, avec le Pr. Patrick Chabrand, son fondateur, la Mention « Bioingénierie des Tissus et des Implants » (BTI) que propose la Faculté des Sciences du Sport de Marseille au sein du Master « Ingénierie et Ergonomie de l'Activité Physique » (IEAP). Le Master BTI est adossé à l'Ecole Doctorale Sciences du Mouvement Humain (ED 463 SMH).

Je prépare actuellement la reprise de la direction du Master M2 BTI dans 1 ou 2 ans après le départ en retraite de Patrick Chabrand. Le Master BTI dont la première promotion est 2012-2013 est identifié et reconnu depuis plusieurs années comme une formation pertinente face aux enjeux industriels et scientifiques dans le domaine des dispositifs médicaux implantables.

Le master BTI est une formation portée par STAPS qui s'adresse avant tout aux étudiants de la Faculté des Sciences du Sport de Marseille et aux autres UFR STAPS françaises. Le master BTI est ouvert également aux élèves ingénieurs, et aux étudiants en biologie et étudiants en santé. Elle met le focus sur les déterminants ostéoarticulaires du mouvement humain, dans des cas physiologiques, pathologiques ou réparés. Elle propose notamment des enseignements que j'assure en mécanobiologie comme une discipline permettant de comprendre l'organe et le tissu comme des structures dynamiques en adéquation avec leur environnement mécanique qui a donc un impact sur la physiologie et les pathologies.

Au total, 177 étudiants ont obtenu le diplôme de Master BTI entre 2012 et 2020 dont 58 étudiants STAPS. Pour l'année 2020-2021, il y aura normalement 29 diplômés dont 12 étudiants STAPS. Certains étudiants BTI ont déjà un emploi durant la formation, c'est le cas de certains internes en médecine. Pour les étudiants STAPS et les élèves ingénieurs qui sont nouvellement diplômés BTI, le niveau et le délai de recrutement sont très satisfaisants.

Je suis par ailleurs Membre du Jury de soutenances de stage et d'attribution du diplôme et Membre du Conseil de perfectionnement du Master BTI

J'ai été Responsable du Champ « Biomécanique » à la Faculté des Sciences du Sport de 2012 à 2020. La Faculté des Sciences du Sport propose ses enseignements en les catégorisant en 4 grands champs, dont celui de la Biomécanique. Dans ce cadre, je suis en charge de l'animation et la coordination, des enseignements en Biomécanique sur les 3 années de Licence STAPS ainsi que de leurs attributions parmi la quinzaine-vingtaine d'enseignants permanents, contractuels et vacataires.

- Volume horaire des enseignements en Biomécanique sur les 3 années de Licence pour chaque étudiant : 185heqTD

- Volume horaire des enseignements en Biomécanique à assurer par les enseignants sur les 3 années de Licence STAPS : 717heqTD

- Pilotage de l'élaboration de la nouvelle plaquette des enseignements du champ Biomécanique pour les années 2018 à 2022

J'ai été co-animateur du projet inter-écoles sur la question du « Handicap en milieu urbain » (2014-2015) entre les étudiants de l'Ecole des Beaux-Arts (Fabrice Pincin), de l'Ecole d'Architecture, de l'Ecole Centrale Marseille (Jean-Marie Rossi) et du Master 1 BTI et IEMH de la Faculté des Sciences du Sport (Jean-Louis Milan)

J'ai animé des ateliers autour des techniques actuelles et futures dans le domaine de l'ingénierie tissulaire avec les étudiants ingénieurs de l'Ecole Centrale de Marseille, en mai 2013 et en mai 2016

Mon service d'enseignant est dédié aux enseignements de la Biomécanique en Licence et Master au sein de la Faculté des Sciences du Sport, ma composante. J'assure un service complet. J'interviens aussi à l'IUT St Jérôme d'Aix Marseille Université

Services d'enseignement effectués :

Année universitaire	Etablissement d'enseignement	Nbr d'heures (eqTD - base 192h)
2014 - 2015	Faculté des Sciences du Sport Aix-Marseille Université	200
2015 - 2016	Faculté des Sciences du Sport Aix-Marseille Université	213
2016 - 2017	Faculté des Sciences du Sport Aix-Marseille Université	215
2017 - 2018	Faculté des Sciences du Sport Aix-Marseille Université	263
2018 - 2019	Faculté des Sciences du Sport Aix-Marseille Université	246
2019-2020	Accueil en Délégation CNRS au sein de l'ISM	-
2020-2021	Accueil en Délégation CNRS au sein de l'ISM	-

Dans la suite, je détaille mon service d'enseignant de ces dernières années.

En 1^{ère} année de Licence, à la Faculté des Sciences du Sport, j'enseigne habituellement les modules de « Bases mathématiques pour l'analyse du Mouvement » et « Cinématique du mouvement et des APSA ». J'assure ces enseignements à Marseille et aux antennes de la Faculté à Gap et Aubagne

En Master 1 IEAP (Ingénierie et Ergonomie de l'Activité Physique) j'ai enseigné et/ou j'enseigne toujours les modules suivants :

- Démarche de l'ingénieur de produits pour le sport et le handicap
- Analyse biomécanique des corps en mouvement
- Méthodes numériques en ingénierie
- Introduction à la méthode des éléments finis
- TDs d'Instrumentation (6 groupes x 12 h)

Ces TDs visent, dès l'entrée en M1, la connaissance précise des outils d'acquisitions et de mesures. Dans ma partie, j'encadre des groupes d'étudiants dans l'utilisation de machines de tests mécaniques, de caméras rapides et de logiciels de corrélation d'image pour déterminer les déformations locales engendrées au niveau de zones de fragilités d'une structure soumise à déformation globale

- Enseignement Transversal Pluridisciplinaire

Accompagnement de plusieurs groupes d'étudiants travaillant en mode projet sur une thématique pluridisciplinaire dans la compréhension du mouvement humain

En Master 2 IEAP filières BTI et IEMH (Ingénierie et Ergonomie du Mouvement Humain) j'enseigne les modules :

- Mécanobiologie
- Modélisation Biomécanique par éléments finis (Logiciel DS Simulia Abaqus)
- Reconstruction d'images 3D pour le Médical (Logiciel Mimics Materialise)
- Projet tutoré sur des questions de rupture technologique et scientifique en ingénierie tissulaire (étudiants en groupe travaillant sur un sujet ou un nouvel outil logiciel sur une période de 3 mois)

En Licence Professionnelle Santé spécialité Maintenance et Technologie Biomédicales (MTB) (Responsable Valérie Kazarian) à l'IUT St Jérôme de Marseille, j'enseigne le module « Biomatériaux et Biocompatibilité » depuis 2012

4.6. Animation scientifique

Conférences en tant qu'invité :

- Conférencier invité **GDR Réparer l'humain** juillet 2020 Strasbourg sur l'« **Apport de la modélisation in silico du lien cellule/tissu** » (report dû au COVID)
- Séminaire sur la « **Identification de l'architecture fibreuse 3D optimale pour l'ingénierie tissulaire** », LMG, Montpellier, 19/06/2018
- Séminaire sur la « **Modélisation de la cellule osseuse** », Laboratoire **ADES** (UMR 7268) Anthropologie bio-culturelle, droit, éthique et santé, Campus Timone, Marseille 09/06/2017
- Séminaire sur les « **Avancées en simulation numérique des processus cellulaires et tissulaires mécanobiologiques.** » 25 mars 2014, **LYOS** INSERM UMR1033 - Pathophysiology, Diagnosis and Treatments of Bone Diseases, Université de Lyon, Faculté de Médecine Lyon Est
- Conférencier invité pour l'École thématique du **GDR Mécanotransduction** sur « **la mécanotransduction cellulaire** ». 30 Novembre 2011 Marrakech
- Conférence sur « **la mécanotransduction et l'ingénierie tissulaire** » Ecole Centrale Marseille. mai 2013 et 2016

Invitation et Animation de séminaires de professeurs ou chercheurs extérieurs

- Séminaire du **Pr. Jerome Noailly**, Universitat Pompeu Fabra Barcelona. Departement of Biomechanics and Mechanobiology (Spain) "In silico approaches in Biomechanics and Mechanobiology" ISM 05/12/2019
- Séminaire d'**Emeline Verna** et **Pacal Ardalian** (ADES (UMR 7268) Anthropologie bio-culturelle, droit, éthique et santé). ISM 7/12/2017
- Séminaire du **Pr. Roberto Mayor** de l'University College of London, Décembre 2016. "Forces at the front and rear of collective cell migration".
- Séminaire du **Pr. Damien Lacroix** de l'IBEC Barcelona Juillet 2011. "effect of mechanical stimuli on the biological response". ISM. 20/07/2011

Participations à des workshops scientifiques

- Les réunions du **GDR Mécanotransduction** : morphogenèse, pathologies et réparation des tissus biologiques - notamment au cours de la Journée thématique : Rencontre jeunes chercheurs/praticiens hospitaliers, 30 Septembre 2013, Marseille
- **Comité d'organisation des Journées CARMA**, 4e édition des Rencontres Régionales Recherche Industrie Clinique, les 18 et 19 mai 2015. Campus de Luminy, Marseille
- Les réunions du **GDR Mecabio**
- Les réunions du **GDR Réparer l'humain**
- **Journée CNRS ouverte au public « Comment réparer l'homme élastique »**, Paris 5/12/2016
- « **Rendez-vous de la Mécanique** », réunion d'information publique et gratuite, organisée par le **CETIM**, sur le thème de « la Fabrication Additive - État de l'art et perspectives économiques », dans le cadre du projet FUI 15 Quick Mold dont je pilote la tâche 2. 20/10/2016, Saint-André-des-Eaux (44).

- **Comité d'organisation du 38^e Congrès de la Société de Biomécanique (SB)**, 4-6 septembre 2013. Campus de Luminy, Marseille
- Chairman au congrès SB à Marseille en 2013 et au congrès MCMAT à Chicago en 2011

Expertise :

- Rapporteur-Editeur pour le comité de rédaction du journal Computational Physiology and Medicine, publié par Frontiers, plateforme scientifique ouverte, un des leaders de la publication en open access.
- Evalueur d'articles pour Acta Biomaterialia et International Journal for Numerical Methods in Biomedical Engineering.
- Expertise d'un dossier de thèse CIFRE pour l'ANRT

4.7. Collaborations

Collaboration au sein d'Aix-Marseille Université :

Prof. Dr. Marc Jaegger (M2P2), Prof. Dr. Marc Leonetti (IRPHE), Philippe Delaporte (LP3)
Annie Viallat, Anne Charrier (CINAM)

Collaborations nationales

Karine Anselme, Laurent Pieuchot (IS2M-Mulhouse)

Yves Remond, Daniel Georges (ICUBE-Université de Strasbourg)

Maxence Bigerelle (LAMIH-Université of Valenciennes/Hainaut-Cambrésis),

Pierre Layrolle et Dominique Heymann (LIOAD-Université de Nantes), Jean-Yves Hascoet (Ecole Centrale Nantes), Prof. Dr. Olivier Gauthier (Veterinary school, Nantes),

Romain Debret (LBTI, Lyon), Dr. Jérôme Sohier (MATEIS, Lyon),

Laurence Vico et Alain Guignandon (LBTO-Saint Etienne), Pierre-Jacques Liotier (LGF-ENSMSE, Ecoles des Mines St-Etienne),

Pr. Benoit Ladoux (Université Paris Diderot), Prof. Daniel Isabey (Université Pierre et Marie Curie),

Rachele Allena (LBM-ENSAM Paris)

Patrick Canadas (LMGC-Université de Montpellier),

Pr Michel Vincent (Sophia Antipolis, MINES ParisTech), Pr. Yannick Tillier (Sophia Antipolis, MINES ParisTech).

Collaborations internationales

Prof. Dr. Nathan Sniadecki (University of Washington), Christopher Chen (Boston University),

Sangyoon Han (Michigan Technological University), Roberto Mayor (University of London), Hans Van

Oosterwyck (University of Leuven), Prof. Dr. Damien Lacroix (University of Sheffield), Jerome Noailly

(University Pompeu Fabra, Barcelona), Sandrine Lavenus (Albany Medical College, New York),

5. Références

- [Abrahamsson2004] Ingemar Abrahamsson, Tord Berglundh, Elena Linder, Niklaus P. Lang, and Jan Lindhe. "Early bone formation adjacent to rough and turned endosseous implant surfaces. An experimental study in the dog". *Clinical Oral Implants Research*, 15(4) :381–392, 2004. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0501.2004.01082.x>
- [Adhsc18] Maxime Vassaux. "mvassaux/adhSC: Initial release of the adhesion cell model (Version v1.0.0)". *Zenodo*. <http://doi.org/10.5281/zenodo.1187087> (2018).
- [Adley 1983] Adey, W. R. "Molecular aspects of cell membranes as substrates for interaction with electromagnetic fields." *Synergetics of the Brain*. Springer, Berlin, Heidelberg, 1983. 201-211.
- [Alber2019] Alber, M., Buganza Tepole, A., Cannon, W. R., De, S., Dura-Bernal, S., Garikipati, K., Karniadakis, G., Lytton, W. W., Perdikaris, P., Petzold, L., & Kuhl, E. (2019). Integrating machine learning and multiscale modeling – Perspectives, challenges, and opportunities in the biological, biomedical, and behavioral sciences. *Npj Digital Medicine*, 2(1), 1-11. <https://doi.org/10.1038/s41746-019-0193-y>
- [Almeida2010] H. D. A. Almeida and P. J. da Silva Bartolo, Virtual topological optimisation of scaffolds for rapid prototyping, *Medical Engineering and Physics*, vol. 32, no. 7, pp. 775–782, 2010.
- [Almonacid 2015] Almonacid, Maria, et al. "Active diffusion positions the nucleus in mouse oocytes." *Nature cell biology* 17.4 (2015): 470.
- [Alvarez et al, 2009] Alvarez, K., Nakajima, H. Metallic Scaffolds for Bone Regeneration. *Materials* 2: 790-832, 2009.
- [Ambard2006] Dominique Ambard and Pascal Swider. "A predictive mechano-biological model of the bone-implant healing". *European Journal of Mechanics, A/Solids*, 25(6) :927–937, 2006. ISSN 09977538. <https://doi.org/10.1016/j.euromechsol.2006.02.006>
- [Amor2009] N. Amor, L. Geris, J. Vander Sloten, and H. Van Oosterwyck. "Modelling the early phases of bone regeneration around an endosseous oral implant". *Computer Methods in Biomechanics and Biomedical Engineering*, 12(4) : 459–468, 2009. ISSN 10255842. <https://doi.org/10.1080/10255840802687392>
- [Amor2011] N. Amor, L. Geris, J. Vander Sloten, and H. Van Oosterwyck. "Computational modelling of biomaterial surface interactions with blood platelets and osteoblastic cells for the prediction of contact osteogenesis". *Acta Biomaterialia*, 7(2) :779–790, 2011. ISSN 17427061. <http://dx.doi.org/10.1016/j.actbio.2010.09.025>
- [Anderson 2001] James M Anderson. "Biological Responses to Materials". *Annual Review Material Research*, 31 :81–110, 2001.
- [Andreykiv2008] A. Andreykiv, F. van Keulen, and P. J. Prendergast. "Computational Mechanobiology to Study the Effect of Surface Geometry on Peri-Implant Tissue Differentiation". *Journal of Biomechanical Engineering*, 130(5) : 051015, 2008. ISSN 01480731. <https://doi.org/10.1115/1.2970057>
- [Anselme2005] Anselme K, Bigerelle M. Topography effects of pure titanium substrates on human osteoblast long-term adhesion. *Acta Biomater* 2005;1(2):211-22.
- [Armillotta et al, 2008] Armillotta, A., Pelzer, R., Modelling of porous structures for rapid prototyping of tissue engineering scaffolds. *International Journal of Advanced Manufacturing Technology* 39: 501-511, 2008.
- [Assoian2019] Assoian, R. K., Bade, N. D., Cameron, C. V., & Stebe, K. J. (2019). Cellular sensing of micron-scale curvature : A frontier in understanding the microenvironment. *Open Biology*, 9(10), 190155. <https://doi.org/10.1098/rsob.190155>
- [Bailón-Plaza2001] Alicia Bailón-Plaza and Marjolein C.H. Van Der Meulen. "A mathematical framework to study the effects of growth factor influences on fracture healing". *Journal of Theoretical Biology*, 212(2) :191–209, 2001. ISSN 00225193. <https://doi.org/10.1006/jtbi.2001.2372>
- [Bleuven2016] Bleuven C, Landry CR. Molecular and cellular bases of adaptation to a changing environment in microorganisms. *Proc Biol Sci*. 2016;283(1841):20161458. <https://doi.org/10.1098/rspb.2016.1458>

- [Bidan2018] Bidan, C.M., Fratzl, M., Coullomb, A., Moreau, P., Lombard, A.H., Wang, I., Balland, M., Boudou, T., Dempsey, N.M., Devillers, T. & Dupont, A. Magneto-active substrates for local mechanical stimulation of living cells. *Sci Rep* 8, 1464 (2018). <https://doi-org.lama.univ-amu.fr/10.1038/s41598-018-19804-1>
- [Boccaccio2016] Boccaccio A, Uva AE, Fiorentino M, Lamberti L, Monno G. A Mechanobiology-based Algorithm to Optimize the Microstructure Geometry of Bone Tissue Scaffolds. *Int J Biol Sci.* 2016; 12: 1-17.
- [Bohner2011] M. Bohner, Y. Loosli, G. Baroud, and D. Lacroix, Deciphering the link between architecture and biological response of a bone graft substitute, *Acta Biomaterialia*, vol. 7, no. 2, pp. 478-484, 2011.
- [Bok2009] Melanie Bok, Haiyan Li, Leslie Y. Yeo, James R. Friend. The dynamics of surface acoustic wave-driven scaffold cell seeding. *Bioengineering and Biotechnology*, Volume103, Issue2, Pages 387-401, <https://doi.org/10.1002/bit.22243>
- [Brooks2011] Brooks AN, Turkarslan S, Beer KD, Lo FY, Baliga NS. Adaptation of cells to new environments. *Wiley Interdiscip Rev Syst Biol Med.* 2011;3(5):544-561. <https://doi.org/10.1002/wsbm.136>
- [Caballero2015] Caballero, D., et al., *Ratchetaxis: Long-Range Directed Cell Migration by Local Cues*. *Trends Cell Biol*, 2015. 25(12): p. 815-827.
- [Carter1965] S. B. Carter. " c 1965 Nature Publishing Group,". *Nature*, 206 :757-761, 1965
- [Cartmell2003] Cartmell SH, Porter BD, Garcia AJ, Guldberg RE. Effects of medium perfusion rate on cell-seeded three-dimensional bone constructs in vitro. *Tissue Eng* 2003;9(6):1197-203.
- [Canadas2002] Canadas P, Laurent VM, Oddou C, Isabey D, Wendling S (2002) A cellular tensegrity model to analyse the structural viscoelasticity of the cytoskeleton. *J Theor Biol* 218(2):155-173
- [ChanYone2011] C. Chan Yone, J. L. Milan, J. M. Rossi & P. Chabrand (2011) A 3D model of trabecular bone remodelling based on cellular activities, *Computer Methods in Biomechanics and Biomedical Engineering*, 14:sup1, 81-82, DOI: [10.1080/10255842.2011.592371](https://doi.org/10.1080/10255842.2011.592371)
- [ChanYone2012] Chan Yone, Claudia, Milan, Jean-Louis, Rossi, Jean-Marie, Witz, Jean-François, Brieu, Mathias & Chabrand, Patrick, HOMOGENIZATION AND μ CT ANALYSIS FOR THE TRABECULAR BONE REMODELLING *Journal of Biomechanics*, 2012 ; 45 :S532 ; [https://doi.org/10.1016/S0021-9290\(12\)70533-X](https://doi.org/10.1016/S0021-9290(12)70533-X)
- [Chandorkar2019] Chandorkar, Y., Castro Nava, A., Schweizerhof, S. et al. Cellular responses to beating hydrogels to investigate mechanotransduction. *Nat Commun* 10, 4027 (2019). <https://doi-org.lama.univ-amu.fr/10.1038/s41467-019-11475-4>
- [Chang2013] C.C. Chang, S. Zhou, Q. Li, Optimization of effective diffusivity by iso-surface modeling, in: 10th World Congress on Structural and Multidisciplinary Optimization Orlando, Florida, USA, 2013.
- [Chelberg1989] Chelberg, M. K., Tsilibary, E. C., Hauser, A. R., & McCarthy, J. B. (1989). Type IV collagen-mediated melanoma cell adhesion and migration : Involvement of multiple, distinct domains of the collagen molecule. *Cancer Research*, 49(17), 4796-4802.
- [Chen2019] Chen, Tianchi, et al. "Large-scale curvature sensing by directional actin flow drives cellular migration mode switching." *Nature physics* 15.4 (2019): 393.
- [Chen1999] Chen, C.T., Burton-Wurster, N., Lust, G., Bank, R.A., & Tekoppele, J.M. (1999). Compositional and metabolic changes in damaged cartilage are peak-stress, stress-rate, and loading-duration dependent. *Journal of Orthopaedic Research*, 17(6), 870-879. <https://doi.org/10.1002/jor.1100170612>
- [Cho2017] Cho S, Irianto J, Discher DE. Mechanosensing by the nucleus: From pathways to scaling relationships. *J Cell Biol.* 2017;216(2):305-315. <https://doi.org/10.1083/jcb.201610042>
- [Clark91] Clark, Petal, et al. "Cell guidance by ultrafine topography in vitro." *Journal of cell science* 99.1 (1991): 73-77.
- [Coffey1990] Robert J Coffey, William E Russell, and John A Barnard. "Pharmacokinetics of TGFP with Emphasis on Effects in Liver and Gut,". *Annals of the New York Academy of Sciences*, pages 285-291, 1990.
- [Comelles2014] Comelles, J., Caballero, D., Voituriez, R., Hortigüela, V., Wollrab, V., Godeau, A. L., Samitier, J., Martínez, E., & Riveline, D. (2014). Cells as Active Particles in Asymmetric Potentials :

- Motility under External Gradients. *Biophysical Journal*, 107(7), 1513-1522. <https://doi.org/10.1016/j.bpj.2014.08.001>
- [Cost2015] Cost, A., Ringer, P., Chrostek-Grashoff, A. et al. How to Measure Molecular Forces in Cells: A Guide to Evaluating Genetically-Encoded FRET-Based Tension Sensors. *Cel. Mol. Bioeng.* 8, 96–105 (2015). <https://doi.org/10.1007/s12195-014-0368-1>
- [Czeisler16] Czeisler, Catherine, et al. "Surface topography during neural stem cell differentiation regulates cell migration and cell morphology." *Journal of Comparative Neurology* 524.17 (2016): 3485-3502.
- [Davies1977] J Davies. "Understanding peri-implant endosseous healing,." *Journal of dental education*, 67(8) :932–949, 2003. ISSN 0022-0337
- [Darling18] Darling, Nicole J., et al. "Injectable and Spatially Patterned Microporous Annealed Particle (MAP) Hydrogels for Tissue Repair Applications." *Advanced Science* 5.11 (2018): 1801046.
- [Devreotes2003] Devreotes, P., & Janetopoulos, C. (2003). Eukaryotic chemotaxis: Distinctions between directional sensing and polarization. *The Journal of Biological Chemistry*, 278(23), 20445-20448. <https://doi.org/10.1074/jbc.R300010200>
- [Dillon95] Dillon, Robert, Lisa Fauci, and Donald Gaver III. "A microscale model of bacterial swimming, chemotaxis and substrate transport." *Journal of theoretical biology* 177.4 (1995): 325-340.
- [Doyle09] Doyle, Andrew D., et al. "One-dimensional topography underlies three-dimensional fibrillar cell migration." *The Journal of cell biology* 184.4 (2009): 481-490.
- [Dubois2018] Dubois, F., Acary, V., & Jean, M. (2018). The Contact Dynamics method : A nonsmooth story. *Comptes Rendus Mécanique*, 346(3), 247-262. <https://doi.org/10.1016/j.crme.2017.12.009>
- [Eskelinen2020] Eskelinen ASA, Tanska P, Florea C, et al (2020) Mechanobiological model for simulation of injured cartilage degradation via pro-inflammatory cytokines and mechanical stimulus. *PLOS Computational Biology*. <https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1007998>
- [Faudot2021] Faudot B, Ballerini J, Ross M, Bellemère P, Goislard de Monsabert B, Vigouroux L, Milan JL. Mechanical performance comparison of two surgical constructs for wrist four-corner arthrodesis via dorsal and radial approaches. *Clin Biomech (Bristol, Avon)*. 2021 Feb;82:105274. doi: <https://10.1016/j.clinbiomech.2021.105274>
- [Faudot2020] Faudot B, Milan JL, Goislard de Monsabert B, Le Corroller T, Vigouroux L. Estimation of joint contact pressure in the index finger using a hybrid finite element musculoskeletal approach. *Comput Methods Biomech Biomed Engin.* 2020 Nov;23(15):1225-1235. <https://doi.org/10.1080/10255842.2020.1793965>
- [Fernandes2019] Margarida M. Fernandes, Estela O. Carvalho and Senentxu Lanceros-Mendez. Electroactive Smart Materials: Novel Tools for Tailoring Bacteria Behavior and Fight Antimicrobial Resistance. *Front. Bioeng. Biotechnol.*, 18 October 2019 | <https://doi.org/10.3389/fbioe.2019.00277>
- [Fernandes2019bis] Margarida M. Fernandes, Daniela M. Correia, Clarisse Ribeiro, Nelson Castro, Vitor Correia, Senentxu Lanceros-Mendez. Bioinspired Three-Dimensional Magnetoactive Scaffolds for Bone Tissue Engineering. *ACS Appl. Mater. Interfaces* 2019, 11, 48, 45265-45275, <https://doi.org/10.1021/acsmi.9b14001>
- [Friedl1998] Peter Friedl, Kurt S. Zänker, and Eva B. Bröcker. "Cell migration strategies in 3-D extracellular matrix : Differences in morphology, cell matrix interactions, and integrin function,." *Microscopy Research and Technique*, 43(5) :369–378, 1998. ISSN 1059910X. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0029\(19981201\)43:5<369::AID-JEMT3>3.0.CO;2-6](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0029(19981201)43:5<369::AID-JEMT3>3.0.CO;2-6)
- [Fritz-Laylin 2017] Fritz-Laylin, L.K., S.J.Lord, and R.D.Mullins. 2017. WASP and SCAR are evolutionarily conserved in actin-filled pseudopod-based motility. *J. Cell Biol.* <https://doi.org/10.1083/jcb.201701074>
- [Gardiner2016] Gardiner BS, Woodhouse FG, Besier TF, et al (2016) Predicting Knee Osteoarthritis. *Ann Biomed Eng* 44:222–233. <https://doi.org/10.1007/s10439-015-1393-5>
- [Gerlitz2010] Gerlitz G, Bustin M. Efficient cell migration requires global chromatin condensation. *J Cell Sci.* 2010;123(Pt 13):2207-2217. <https://doi.org/10.1242/jcs.058271>
- [Griffin15] Griffin, Donald R., et al. "Accelerated wound healing by injectable microporous gel scaffolds assembled from annealed building blocks." *Nature materials* 14.7 (2015): 737.
- [Graham2018] Graham, D. M., Andersen, T., Sharek, L., Uzer, G., Rothenberg, K., Hoffman, B. D., Rubin, J., Balland, M., Bear, J. E., & Burridge, K. (2018). Enucleated cells reveal differential roles

- of the nucleus in cell migration, polarity, and mechanotransduction. *The Journal of Cell Biology*, 217(3), 895-914. <https://doi.org/10.1083/jcb.201706097>
- [Gruler1984] H Gruler and B D Bültmann. "Analysis of cell movement,,". *Blood cells*, 10(1) :61-77, 1984. ISSN 0340-4684. URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6487816>.
- [Guest2007] J.K. Guest, J.H. Prévost, Design of maximum permeability material structures, *Comput. Methods Appl. Mech. Eng.* 196 1006-1017, 2007.
- [Gundersen2013] Gundersen, G. G., & Worman, H. J. (2013). Nuclear Positioning. *Cell*, 152(6), 1376-1389. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2013.02.031>
- [Halonen2017] Halonen KS, Dzialo CM, Mannisi M, et al (2017) Workflow assessing the effect of gait alterations on stresses in the medial tibial cartilage - combined musculoskeletal modelling and finite element analysis. *Scientific Reports* 7:17396. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-17228-x>
- [Harrysson2008] Harrysson, O.L.A., Cansizoglu, O., Marcellin-Little, D.J., Cormier, D.R., West, H.A., Direct metal fabrication of titanium implants with tailored materials and mechanical properties using electron beam melting technology. *Mater. Sci. Eng. C: Biomim. Supramol. Syst.* 28 (3), 366-373, 2008.
- [Hassan 2019] Abdel-Rahman Hassan, Thomas Biel Taeyoon Kim. Mechanical Model for Durotactic Cell Migration. *ACS Biomater. Sci. Eng.* 2019, 5, 8, 3954-3963. <https://doi.org/10.1021/acsbiomaterials.8b01365>
- [Hervas-Raluy 2019] S. Hervas-Raluy, J. M. Garcia-Aznar & M. J. Gomez-Benito. Modelling actin polymerization: the effect on confined cell migration. *Biomechanics and Modeling in Mechanobiology* volume 18, pages1177-1187(2019)
- [Hoffman2020] David P. Hoffman, Gleb Shtengel, C. Shan Xu, Kirby R. Campbell, Melanie Freeman, Lei Wang, Daniel E. Milkie, H. Amalia Pasolli, Nirmala Iyer, John A. Bogovic, Daniel R. Stabley, Abbas Shirinifard, Song Pang, David Peale, Kathy Schaefer, Wim Pomp, Chi-Lun Chang, Jennifer Lippincott-Schwartz, Tom Kirchhausen, David J. Solecki, Eric Betzig, Harald F. Hess. Correlative three-dimensional super-resolution and block-face electron microscopy of whole vitreously frozen cells. *Science* 17 Jan 2020: Vol. 367, Issue 6475, eaaz5357, <https://doi.org/10.1126/science.aaz5357>
- [Hollander2006] D.A. Hollander, M. Von Walter, T. Wirtz, R. Sellei, B. Schmidt-Rohlfing, O. Paar, H.J. Erli, Structural, mechanical and in vitro characterization of individually structured Ti-6Al-4V produced by direct laser forming, *Bio- materials* 27, 955-963, 2006.
- [Hollister 2005] S. J. Hollister, Porous scaffold design for tissue engineering, *Nature Materials*, vol. 4, no. 7, pp. 518-524, 2005.
- [Hollister 2010] S.J. Hollister, Scaffold design and manufacturing: from concept to clinic, *Adv. Mater.* 21 3330-3342, 2010.
- [Hou2019] Hou, H., Gan, T., Yang, Y., Zhu, X., Liu, S., Guo, W., & Hao, J. (2019). Using deep reinforcement learning to speed up collective cell migration. *BMC Bioinformatics*, 20(18), 571. <https://doi.org/10.1186/s12859-019-3126-5>
- [Isenberg2009] Isenberg, B. C., DiMilla, P. A., Walker, M., Kim, S., & Wong, J. Y. (2009). Vascular Smooth Muscle Cell Durotaxis Depends on Substrate Stiffness Gradient Strength. *Biophysical Journal*, 97(5), 1313-1322. <https://doi.org/10.1016/j.bpj.2009.06.021>
- [Jain2020] Jain, S., Cachoux, V. M. L., Narayana, G. H. N. S., de Beco, S., D'Alessandro, J., Cellerin, V., Chen, T., Heuzé, M. L., Marcq, P., Mège, R.-M., Kabla, A. J., Lim, C. T., & Ladoux, B. (2020). The role of single-cell mechanical behaviour and polarity in driving collective cell migration. *Nature Physics*, 16(7), 802-809. <https://doi.org/10.1038/s41567-020-0875-z>
- [Jiang2005] Jiang, X., Bruzewicz, D. A., Wong, A. P., Piel, M., & Whitesides, G. M. (2005). Directing cell migration with asymmetric micropatterns. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 102(4), 975-978. <https://doi.org/10.1073/pnas.0408954102>
- [Jones1977] S. J. Jones and A. Boyde. "The migration of osteoblasts,,". *Cell and Tissue Research*, 184(2) :179-193, 1977. ISSN 0302766X. <https://doi.org/10.1007/BF00223067>
- [Joyce1990] Michael E Joyce, Anita B Roberts, Michael B Sporn, and Mark E Bolander. "Transforming Growth Factor-Beta and the Initiation of Chondrogenesis and Osteogenesis in the Rat Femur,,". 110(June) :2195-2207, 1990.
- [Kapur2003] Sonia Kapur, David J Baylink, and K William Lau. "Fluid flow shear stress stimulates human osteoblast proliferation and differentiation through multiple interacting and competing

- signal transduction pathways,". *Bone*, 32 :241–251, 2003. [https://doi.org/10.1016/S8756-3282\(02\)00979-1](https://doi.org/10.1016/S8756-3282(02)00979-1)
- [Kaspar2000] D. Kaspar, W. Seidl, C. Neidlinger-Wilke, A. Ignatius, and L. Claes. "Dynamic cell stretching increases human osteoblast proliferation and CICP synthesis but decreases osteocalcin synthesis and alkaline phosphatase activity,". *Journal of Biomechanics*, 33(1) :45–51, 2000. ISSN 00219290. [https://doi.org/10.1016/S0021-9290\(99\)00171-2](https://doi.org/10.1016/S0021-9290(99)00171-2)
- [Kelly2006] Daniel J. Kelly and Patrick J. Prendergast. "Prediction of the Optimal Mechanical Properties for a Scaffold Used in Osteochondral Defect Repair,". *Tissue Engineering*, 12(9) :2509–2519, 2006. ISSN 1076-3279. <https://doi.org/10.1089/ten.2006.12.2509>
- [Kendall2005] Kendall, C. B., Brown, T. R., Millon, S. J., Rudisill, L. E., Sanders, J. L., & Tanner, S. L. (2005). Results of four-corner arthrodesis using dorsal circular plate fixation. *The Journal of Hand Surgery*, 30(5), 903–907. <https://doi.org/10.1016/j.jhssa.2005.04.007>
- [Kim2018] Min-Cheol Kim, Yaron R. Silberberg, Rohan Abeyaratne, Roger D. Kamm, H. Harry Asada. Dynamic modeling of cell invasion into ECM Proceedings of the National Academy of Sciences Jan 2018, 115 (3) E390-E399; <https://doi.org/10.1073/pnas.1717230115>
- [Klets2016] Klets O, Mononen ME, Tanska P, et al (2016) Comparison of different material models of articular cartilage in 3D computational modeling of the knee: Data from the Osteoarthritis Initiative (OAI). *Journal of Biomechanics* 49:3891–3900. <https://doi.org/10.1016/j.jbiomech.2016.10.025>
- [Kloxin10] A.M. Kloxin, J.A. Benton, K.S. Anseth, In situ elasticity modulation with dynamic substrates to direct cell phenotype, *Biomaterials*, Volume 31, Issue 1, 2010, Pages 1-8, <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2009.09.025>
- [Kunze2015] Kunze, A., Tseng, P., Godzich, C., Murray, C., Caputo, A., Schweizer, F. E., et al. (2015). Engineering cortical neuron polarity with nanomagnets on a chip. *ACS Nano* 9, 3664–3676. <https://doi.org/10.1021/nm505330w>
- [Lacroix2002] Lacroix D, Prendergast PJ. A mechano-regulation model for tissue differentiation during fracture healing: analysis of gap size and loading. *J Biomech* ; 35: 1163–1171, 2002.
- [Li2007] Li, J.P., Habibovic, P., van den Doel, M., Wilson, C.E., de Wijn, J.R., van Blitterswijk, C.A., de G.K., Bone ingrowth in porous titanium implants produced by 3D fiber deposition. *Biomaterials* 28 (18), 2810–2820, 2007.
- [Li2014] Sixing Li, Feng Guo, Yuchao Chen, Xiaoyun Ding, Peng Li, Lin Wang, Craig E. Cameron, and Tony Jun Huang. Standing Surface Acoustic Wave Based Cell Coculture. *Anal Chem*. 2014 Oct 7; 86(19): 9853–9859. <https://doi.org/10.1021/ac502453z>
- [Lin et al, 2004] C. Y. Lin, N. Kikuchi, and S. J. Hollister, A novel method for biomaterial scaffold internal architecture design to match bone elastic properties with desired porosity. *Journal of Biomechanics*, vol. 37, no. 5, pp. 623–636, 2004.
- [Lind1996] M. Lind, E.F. Eriksen, and C. Bünger. "Bone Morphogenetic Protein-2 but not Bone Morphogenetic Protein-4 and -6 Stimulates Chemotactic Migration of,". *Bone*, 18(1):53–57, 1996.
- [Lincks1998] J Lincks, B D Boyan, C R Blanchard, C H Lohmann, Y Liu, D L Cochran, D D Dean, and Z Schwartz. Response of MG63 osteoblast-like cells to titanium and titanium alloy is dependent on surface roughness and composition. *Biomaterials*. 1998 Dec;19(23):2219-32. [https://doi.org/10.1016/s0142-9612\(98\)00144-6](https://doi.org/10.1016/s0142-9612(98)00144-6)
- [Lo2000] Lo, C. M., Wang, H. B., Dembo, M., & Wang, Y. L. (2000). Cell movement is guided by the rigidity of the substrate. *Biophysical Journal*, 79(1), 144-152.
- [Löber2014] Löber, J., Ziebert, F., & Aranson, I. S. (2014). Modeling crawling cell movement on soft engineered substrates. *Soft Matter*, 10(9), 1365-1373. <https://doi.org/10.1039/C3SM51597D>
- [Lopez-Heredia2008] Lopez-Heredia, M.A., Goyenvalle, E., Aguado, E., Pilet, P., Leroux, C., Dorget, M., et al., Bone growth in rapid prototyped porous titanium implants. *J. Biomed. Mater. Res. A* 85 (3), 664–673, 2008.
- [Manifacier2016] I. Manifacier, J.L. Milan, C. Jeanneau, F. Chmilewsky, P. Chabrand, I. About, Computational Tension Mapping of Adherent Cells Based on Actin Imaging, *Plos One* 11(1) (2016).
- [Manifacier2019] Ian Manifacier, Kevin M. Beussman, Sangyoon J. Han, Nathan J. Sniadecki, Imad About & Jean-Louis Milan. The consequence of substrates of large-scale rigidity on actin network tension in adherent cells. *Computer Methods in Biomechanics and Biomedical*

- Engineering, Comput Methods Biomech Biomed Engin. 2019 Oct;22(13):1073-1082. <https://doi.org/10.1080/10255842.2019.1629428>
- [Martin2012] Martins RP, Finan JD, Guilak F, Lee DA. Mechanical regulation of nuclear structure and function. *Annu Rev Biomed Eng.* 2012;14:431–455. <https://doi.org/10.1146/annurev-bioeng-071910-124638>
- [Marzban2019] Marzban, B., Kang, J., Li, N., Sun, Y., & Yuan, H. (2019). A contraction–reaction–diffusion model : Integrating biomechanics and biochemistry in cell migration. *Extreme Mechanics Letters*, 32, 100566. <https://doi.org/10.1016/j.eml.2019.100566>
- [Maurin2008] Maurin et al. 2008 Mechanical model of cytoskeleton structuration during cell adhesion and spreading. *J Biomech* Vol 41 issue 9 p2036-2041
- [Milan2007] Milan JL, Wendling-Mansuy S, Jean M, Chabrand P (2007) Divided medium-based model for analyzing the dynamic reorganization of the cytoskeleton during cell deformation. *Biomech Model Mechanobiol*, 6(6): 373-390
- [Milan2009] Milan JL, Planell JA, Lacroix D (2009) Computational modelling of the mechanical environment of osteogenesis within a polylactic acid-calcium phosphate glass scaffold. *Biomaterials* 30(25):4219-4226
- [Milan2010] J. L. Milan, J.A. Planell, D. Lacroix. Simulation of bone tissue formation within a porous scaffold under dynamic compression. *BMMB* 2010, 9, 5, 583-596, <https://doi.org/10.1007/s10237-010-0199-5>
- [Milan2013] J.L. Milan, S. Lavenus, P. Pilet, G. Louarn, S. Wendling, D. Heymann, P. Layrolle, P. Chabrand, Computational Model Combined with in Vitro Experiments to Analyse Mechanotransduction during Mesenchymal Stem Cell Adhesion, *European Cells & Materials* 25 (2013) 97-113.
- [Milan2016] Milan, Jean-Louis, et al. "In silico CDM model sheds light on force transmission in cell from focal adhesions to nucleus." *Journal of biomechanics* 49.13 (2016): 2625-2634.
- [Milan2019] Milan Jean-Louis, Chan Yone Claudia, Rossi Jean-Marie, Chabrand Patrick, Simulating pharmaceutical treatment effects on osteoporosis via a bone remodeling algorithm targeting hypermineralized sites, *Medical Engineering & Physics*, 2019, ISSN 1350-4533, <https://doi.org/10.1016/j.medengphy.2019.10.011>
- [Milan2020] Milan Jean-Louis, Nicolas Rousseau, Martine Pithioux, In Silico Modeling of a Bone Repair Strategy Combining an Osteoconductive Biomaterial with a Mechanical Stimulation Re-habilitation Program. *Clinics of Sugery*. 2020 ; 3(1):1-9
- [Mizuno2004] Shuichi Mizuno, Setsuo Watanabe, and Takao Takagi. "Hydrostatic fluid pressure promotes cellularity and proliferation of human dermal fibroblasts in a three-dimensional collagen gel / sponge,". 20:203–208, 2004. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2003.09.019>
- [Moerke2017] Moerke C, Rebl H, Finke B, Dubs M, Nestler P, Airoudj A, Roucoules V, Schnabelrauch M, Koertge A, Anselme K, Helm CA, Nebe JB: Abrogated cell contact guidance on amino-functionalized micro-grooves. *ACS Applied Materials & Interfaces* 2017, 9 (12): 10461-10471.
- [Moreo2009] Pedro Moreo, José Manuel García-Aznar, and Manuel Doblaré. "Bone ingrowth on the surface of endosseous implants. Part 1 : Mathematical model,". *Journal of Theoretical Biology*, 260(1) :1–12, 2009. ISSN 00225193. <https://doi.org/10.1016/j.jtbi.2008.07.040>
- [Mogilner2009] Mogilner, Alex. "Mathematics of cell motility: have we got its number?." *Journal of mathematical biology* 58.1-2 (2009): 105.
- [Mukherjee2020] Mukherjee S, Nazemi M, Jonkers I, Geris L (2020) Use of Computational Modeling to Study Joint Degeneration: A Review. *Front Bioeng Biotechnol* 8:. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2020.00093>
- [Nakazawa2020] Nakazawa N, Kengaku M. Mechanical Regulation of Nuclear Translocation in Migratory Neurons. *Front Cell Dev Biol.* 2020;8:150. Published 2020 Mar 12. <https://doi.org/10.3389/fcell.2020.00150>
- [Navarro2006] Navarro M, Aparicio C, Charles-Harris M, Engel E, Ginebra MP, Planell JA. Development of a biodegradable composite scaffold for bone tissue engineering: physicochemical, topographical, mechanical, degradation and biological properties. *Adv Polym Sci* 2006;200:209–31.
- [Nickaeen19] Nickaeen, Masoud, et al. "Actin assembly produces sufficient forces for endocytosis in yeast." *Molecular biology of the cell* (2019): mbc-E19.
- [Olsen1995] Luke Olsen, Jonathan A. Sherratt, and Philip K. Maini. "A Mechanochemical Model for Adult Dermal Wound Contraction and the Permanence of the Contracted Tissue

- Displacement Profile," *Journal of Theoretical Biology*, 177(2) :113–128, 1995.
<https://doi.org/10.1006/jtbi.1995.0230>
- [Orozco2018] Orozco GA, Tanska P, Florea C, et al (2018) A novel mechanobiological model can predict how physiologically relevant dynamic loading causes proteoglycan loss in mechanically injured articular cartilage. *Scientific Reports* 8:15599. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-33759-3>
- [Park2018] Park, J., Kim, D.-H., & Levchenko, A. (2018). Topotaxis : A New Mechanism of Directed Cell Migration in Topographic ECM Gradients. *Biophysical Journal*, 114(6), 1257-1263. <https://doi.org/10.1016/j.bpj.2017.11.3813>
- [Perrin2002] Daniel Perrin, Serge Szmukler-Moncler, Casimir Echikou, Philippe Pointaire, and Jean Pierre Bernard. "Bone response to alteration of surface topography and surface composition of sandblasted and acid etched (SLA) implants,". *Clinical Oral Implants Research*, 13(5) :465–469, 2002. ISSN 09057161. <https://doi.org/10.1034/j.1600-0501.2002.130504.x>
- [Pieuchot18] Pieuchot, Laurent, et al. "Curvotaxis directs cell migration through cell-scale curvature landscapes." *Nature communications* 9.1 (2018): 3995.**
- [Ponader2010] Ponader, S., von, W.C., Widenmayer, M., Lutz, R., Heintl, P., Koerner, C., et al., In vivo performance of selective electron beam-melted Ti-6Al-4V structures. *J. Biomed. Mater. Res. A* 92 (1), 56–62, 2010.
- [Prendergast1997] Prendergast PJ, Huiskes R, Soballe K. Biophysical stimuli on cells during tissue differentiation at implant interfaces. *J Biomech* 1997;30:539-48.
- [Prendergast2008] P. J. Prendergast, A. Andreykiv, and F. Van Keulen. "Simulation of fracture healing incorporating mechanoregulation of tissue differentiation and dispersal / proliferation of cells Simulation of fracture healing incorporating mechanoregulation of tissue differentiation and dispersal / proliferation of cells,". *Biomechanics and Modeling in Mechanobiology*, 7(December) :443–461, 2008. <https://doi.org/10.1007/s10237-007-0108-8>
- [Prentice-Mott2016] Prentice-Mott, H. V., Meroz, Y., Carlson, A., Levine, M. A., Davidson, M. W., Irimia, D., Charras, G. T., Mahadevan, L., & Shah, J. V. (2016). Directional memory arises from long-lived cytoskeletal asymmetries in polarized chemotactic cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 113(5), 1267-1272. <https://doi.org/10.1073/pnas.1513289113>
- [Rens17] Rens, Elisabeth G., and Roeland MH Merks. "Cell contractility facilitates alignment of cells and tissues to static uniaxial stretch." *Biophysical journal* 112.4 (2017): 755-766.
- [Reversat2020] Reversat, A., Gaertner, F., Merrin, J., Stopp, J., Tasciyan, S., Aguilera, J., de Vries, I., Hauschild, R., Hons, M., Piel, M., Callan-Jones, A., Voituriez, R., & Sixt, M. (2020). Cellular locomotion using environmental topography. *Nature*, 582(7813), 582-585. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2283-z>
- [Raghavan et al. 2010] Srivatsan Raghavan, Ravi A. Desai, Youngeun Kwon, Milan Mrksich, Christopher S. Chen. Micropatterned Dynamically Adhesive Substrates for Cell Migration. *Langmuir* 2010, 26, 22, 17733-17738. <https://doi-org.lama.univ-amu.fr/10.1021/la102955m>
- [Rivers2000] P.A. Rivers, M.P. Rosenwasser, V.C. Mow, R.J. Pawluk, R.J. Strauch, M.T. Sugalski, G.A. Ateshian, Osteoarthritic changes in the biochemical composition of thumb carpometacarpal joint cartilage and correlation with biomechanical properties, *The Journal of Hand Surgery*, Volume 25, Issue 5, 2000, Pages 889-898, ISSN 0363-5023, <https://doi.org/10.1053/jhsu.2000.16358>
- [Rodriguez13] Rodriguez, Marita L., Patrick J. McGarry, and Nathan J. Sniadecki. "Review on cell mechanics: experimental and modeling approaches." *Applied Mechanics Reviews* 65.6 (2013): 060801.
- [Saadlaoui2017] Yassine Saadlaoui, Jean-Louis Milan, Jean-Marie Rossi, Patrick Chabrand. Topology optimization and additive manufacturing: Comparison of conception methods using industrial codes. *Journal of Manufacturing Systems*, Volume 43, Part 1, April 2017, Pages 178–186. <https://doi.org/10.1016/j.jmsy.2017.03.006>**
- [Schakenraad19] Schakenraad, Koen, et al. "Topotaxis of active Brownian particles." *arXiv preprint arXiv:1908.06078* (2019).
- [Sela2007] Michael N. Sela, Liad Badihi, Graciela Rosen, Doron Steinberg, and David Kohavi. "Adsorption of human plasma proteins to modified titanium surfaces,". *Clinical Oral Implants Research*, 18(5) :630–638, 2007. ISSN 09057161. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0501.2007.01373.x>

- [Shindle2007] Shindle, M. K., Burton, K. J., Weiland, A. J., Domb, B. G., & Wolfe, S. W. (2007). Complications of circular plate fixation for four-corner arthrodesis. *The Journal of Hand Surgery, European Volume*, 32(1), 50–53. <https://doi.org/10.1016/j.jhsb.2006.08.016>
- [Skie2007] Skie, M. C., Gove, N., Ciocanel, D. E., & Smith, H. (2007). Management of non-united four-corner fusions. *Hand (New York, N.Y.)*, 2(1), 34–38. <https://doi.org/10.1007/s11552-007-9021-y>
- [Shuai2020] Cijun Shuai, Wenjing Yang, Chongxian He, Shuping Peng, Chengde Gao, Youwen Yang, Fangwei Qi, Pei Feng, A magnetic micro-environment in scaffolds for stimulating bone regeneration, *Materials & Design*, Volume 185, 2020, 108275, ISSN 0264-1275, <https://doi.org/10.1016/j.matdes.2019.108275>.
- [Schmitt2015] Mary Schmitt. “Analyses expérimentales et modélisation numérique de l’ostéogenèse au sein d’un implant poreux en titane.”. Thèse : Ecole Nationale Supérieure d’Arts et Métiers, 2015. URL <https://pastel.archives-ouvertes.fr/tel-01179783>
- [Simmons2003] Craig A Simmons, Sean Matlis, Amanda J Thornton, Shaoqiong Chen, Yu Wang, and David J Mooney. “Cyclic strain enhances matrix mineralization by adult human mesenchymal stem cells via the extracellular signalregulated kinase (ERK1 / 2) signaling pathway,”. 36 :1087–1096, 2003. [https://doi.org/10.1016/S0021-9290\(03\)00110-6](https://doi.org/10.1016/S0021-9290(03)00110-6)
- [Soballe1997] K. Soballe.; Prendergast, P.J ; Huiskes, R. ; “Biophysical stimuli on cells during tissue differentiation at implant interfaces,”. *Journal of biomechanics*, 30(6) :539–548, 1997. URL <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0021929096001406>.
- [Solecki2009] Solecki, David J. et al. Myosin II Motors and F-Actin Dynamics Drive the Coordinated Movement of the Centrosome and Soma during CNS Glial-Guided Neuronal Migration. *Neuron (Cambridge, Mass.)*. 2009 (63)1. p.63 - 80. 10.1016/j.neuron.2009.05.028
- [Sultan2004] Sultan C, Stamenovic D, Ingber DE (2004) A computational tensegrity model predicts dynamic rheological behaviors in living cells. *Ann Biomed Eng* 32(4):520–530
- [Tan2003] J.L. Tan, J. Tien, D.M. Pirone, D.S. Gray, K. Bhadriraju, C.S. Chen, Cells lying on a bed of microneedles: an approach to isolate mechanical force, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 100(4) (2003) 1484-1489.
- [Tang2012] Tang, N., & Marshall, W. F. (2012). Centrosome positioning in vertebrate development. *Journal of Cell Science*, 125(21), 4951–4961. <https://doi.org/10.1242/jcs.038083>
- [Thoumine1997] Thoumine O, Ott A (1997) Time scale dependent viscoelastic and contractile regimes in fibroblast probed by microplate manipulation. *J Cell Sci*, 110 : 2109–2116
- [Titus2017] Margaret A. Titus, Holly V. Goodson. An evolutionary perspective on cell migration: Digging for the roots of amoeboid motility. *J Cell Biol* (2017) 216 (6): 1509–1511. <https://doi.org/10.1083/jcb.201704112>
- [Tjhung2015] Tjhung, E., Tiribocchi, A., Marenduzzo, D., & Cates, M. E. (2015). A minimal physical model captures the shapes of crawling cells. *Nature Communications*, 6(1), 5420. <https://doi.org/10.1038/ncomms6420>
- [Tomba2019] Tomba, C., Petithory, T., Pedron, R., Airoudj, A., Meglio, I. D., Roux, A., & Luchnikov, V. (2019). Laser-Assisted Strain Engineering of Thin Elastomer Films to Form Variable Wavy Substrates for Cell Culture. *Small*, 15(21), 1900162. <https://doi.org/10.1002/smll.201900162>
- [Vander1998] A. Vander, J. Sherman, and D. Luciano. *Human physiology : the mechanics of body function*. Boston, ma : wcb mc edition, 1998.
- [Vassaux et Milan 2017] M. Vassaux, J.L. Milan, **Stem cell mechanical behaviour modelling: substrate's curvature influence during adhesion**, *Biomech. Model. Mechano Biol* 16(4) (2017) 1295-1308.
- [Vassaux2019] M. Vassaux, L. Pieuchot, K. Anselme, M. Bigerelle, J.L. Milan, **A Biophysical Model for Curvature-Guided Cell Migration**, *Biophys J* 117(6) (2019) 1136-1144.
- [Vassaux2020] Vassaux, M., Pieuchot, L., Anselme, K., Bigerelle, M., & Milan, J.-L. (2020). Designing Optimal Scaffold Topographies to Promote Nucleus-Guided Mechanosensitive Cell Migration Using in Silico Models. In B. E. Abali & I. Giorgio (Éds.), *Developments and Novel Approaches in Biomechanics and Metamaterials* (p. 199-216). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-030-50464-9_12
- [Vortmeyer2015] Marina Vortmeyer, Katarina Wolf, 2015, *Cell adhesion & migration* 9(5), <https://doi.org/10.1080/19336918.2015.1061173>
- [Wakhloo2020] Tusamda Wakhloo, N., Anders, S., Badique, F., Eichhorn, M., Brigaud, I., Petithory, T., Vassaux, M., Milan, J.-L., Freund, J.-N., Rühle, J., Davidson, P. M., Pieuchot, L., & Anselme,

- K. (2020). Actomyosin, vimentin and LINC complex pull on osteosarcoma nuclei to deform on micropillar topography. *Biomaterials*, 234, 119746. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2019.119746>
- [Wang2018] Wang, Z., Wang, D., Li, C., Xu, Y., Li, H., & Bao, Z. (2018). Deep reinforcement learning of cell movement in the early stage of C.elegans embryogenesis. *Bioinformatics*, 34(18), 3169-3177. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bty323>
- [Werner2020] Werner, M., Kurniawan, N. A., & Bouten, C. V. C. (2020). Cellular geometry sensing at different length scales and its implications for scaffold design. *Materials*, 13(4), undefined-undefined. <https://doi.org/10.3390/ma13040963>
- [Wendling2003] Wendling S, Canadas P, Chabrand P (2003) Toward a generalised tensegrity model describing the mechanical behaviour of the cytoskeleton structure. *Comput Methods Biomech Biomed Eng* 6(1):45-52
- [Weyts2003] F. A.A. Weyts, B. Bosmans, R. Niesing, J. P.T.M. Van Leeuwen, and H. Weinans. "Mechanical control of human osteoblast apoptosis and proliferation in relation to differentiation,". *Calcified Tissue International*, 72 (4) :505-512, 2003. ISSN 0171967X. <https://doi.org/10.1007/s00223-002-2027-0>
- [Wieding2012] Wieding, J., Jonitz, A., Bader, R., The effect of structural design on mechanical properties and cellular response of additive manufactured titanium scaffolds. *Materials* 5 (8), 1336-1347, 2012.
- [Wieding et al, 2014] Wieding J, Wolf A, Bader R. Numerical optimization of open-porous bone scaffold structures to match the elastic properties of human cortical bone. *J Mech Behav Biomed Mater*; 37: 56-68, 2014.
- [Winkler2019] Winkler, B., Aranson, I. S., & Ziebert, F. (2019). Confinement and substrate topography control cell migration in a 3D computational model. *Communications Physics*, 2(1), 1-11. <https://doi.org/10.1038/s42005-019-0185-x>
- [Woesz, 2008] Woesz A., Rapid Prototyping to Produce Porous Scaffolds with Controlled Architecture for Possible use in Bone Tissue Engineering. *Virtual Prototyping & Bio Manufacturing in Medical Applications*. B. Bidanda, Bartolo, P.J., Springer, 2008.
- [Wu2000] Qiu-qian Wu and Qian Chen. "Mechanoregulation of Chondrocyte Proliferation , Maturation , and Hypertrophy : Ion-Channel Dependent Transduction of Matrix Deformation Signals,". *Experimental Cell Research*, 256 :383-391, 2000. <https://doi.org/10.1006/excr.2000.4847>
- [Xi2017] Xi, W., Sonam, S., Beng Saw, T., Ladoux, B., & Teck Lim, C. (2017). Emergent patterns of collective cell migration under tubular confinement. *Nature Communications*, 8(1), 1517. <https://doi.org/10.1038/s41467-017-01390-x>
- [Xia2016] Xia B, Huang L, Zhu L, Liu Z, Ma T, Zhu S, Huang J, Luo Z. Manipulation of Schwann cell migration across the astrocyte boundary by polysialyltransferase-loaded superparamagnetic nanoparticles under magnetic field. *Int J Nanomedicine*. 2016;11:6727-6741 <https://doi.org/10.2147/IJN.S122358>
- [Yan2011] Yan, W.Y., Berthe, J., Wen, C., Numerical investigation of the effect of porous titanium femoral prosthesis on bone remodeling. *Mater. Des.* 32 (4), 1776-1782, 2011.
- [Yang2004] Guoguang Yang, Richard C Crawford, and James H-c Wang. "Proliferation and collagen production of human patellar tendon fibroblasts in response to cyclic uniaxial stretching in serum-free conditions,". *Journal of Biomechanics*, 37 :1543-1550, 2004. <https://doi.org/10.1016/j.jbiomech.2004.01.005>
- [Yolland2019] Yolland, L., Burki, M., Marcotti, S., Luchici, A., Kenny, F. N., Davis, J. R., Serna-Morales, E., Müller, J., Sixt, M., Davidson, A., Wood, W., Schumacher, L. J., Endres, R. G., Miodownik, M., & Stramer, B. M. (2019). Persistent and polarized global actin flow is essential for directionality during cell migration. *Nature Cell Biology*, 21(11), 1370-1381. <https://doi.org/10.1038/s41556-019-0411-5>
- [Zhao2017] Zhao, Z.-L., Liu, Z.-Y., Du, J., Xu, G.-K., & Feng, X.-Q. (2017). A Dynamic Biochemomechanical Model of Geometry-Confined Cell Spreading. *Biophysical Journal*, 112(11), 2377-2386. <https://doi.org/10.1016/j.bpj.2017.04.044>
- [Zhang2003] Zi-Jun Zhang, James Huckle, Clair A. Francomano, and Richard G. S. Spencer. "The effects of pulsed lowintensity ultrasound on chondrocyte viability, proliferation, gene expression and matrix production,". 29(11) : 1645-1651, 2003. <https://doi.org/10.1016/j.ultrasmedbio.2003.08.011>.

- [Zheng2019] Yu Zheng, Hanqing Nan, Yanping Liu, Qihui Fan, Xiaochen Wang, Ruchuan Liu, Liyu Liu, Fangfu Ye, Bo Sun, and Yang Jiao Phys. Rev. E 100, 043303 – Published 11 October 2019
- [Zigmond1973] Zigmond, Sally H., and James G. Hirsch. "Leukocyte locomotion and chemotaxis: new methods for evaluation, and demonstration of a cell-derived chemotactic factor." *Journal of Experimental Medicine* 137.2 (1973): 387-410.
- [Zink2013] Zink, Mareike, et al. "Interaction of ferromagnetic shape memory alloys and RGD peptides for mechanical coupling to cells: from ab initio calculations to cell studies." *Advanced Functional Materials* 23.11 (2013): 1383-1391.