



# Caractérisation mécanique et microstructurale du comportement à rupture de la capsule de Glisson pour la prédiction du risque de lésions des tissus hépatiques humains

Charles Jayyosi

► **To cite this version:**

Charles Jayyosi. Caractérisation mécanique et microstructurale du comportement à rupture de la capsule de Glisson pour la prédiction du risque de lésions des tissus hépatiques humains. Biomécanique [physics.med-ph]. Université Claude Bernard - Lyon I, 2015. Français. <NNT : 2015LYO10222>. <tel-01245818>

**HAL Id: tel-01245818**

**<https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-01245818>**

Submitted on 17 Dec 2015

**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.





N° d'ordre : 222-2015

Année 2015

# THÈSE DE L'UNIVERSITÉ DE LYON

Délivrée par

**L'UNIVERSITÉ CLAUDE BERNARD LYON 1**  
**ÉCOLE DOCTORALE MEGA**

En vue de l'obtention du  
DIPLOME DE DOCTORAT

Spécialité : MÉCANIQUE

Présentée et soutenue publiquement le 5 Novembre 2015  
par

**Charles JAYYOSI**

---

## Caractérisation mécanique et microstructurale du comportement à rupture de la capsule de Glisson pour la prédiction du risque de lésions des tissus hépatiques humains

---

Directeurs de thèse: **Mme Karine BRUYÈRE-GARNIER**  
**M. Michel CORET**

JURY :

<b>M. Mathias BRIEU</b>	Professeur des Universités, École Centrale de Lille	Rapporteur
<b>M. Jean-Marc ALLAIN</b>	Maître de conférences, École Polytechnique	Rapporteur
<b>M. Edoardo MAZZA</b>	Professeur, ETH Zürich	Examinateur
<b>M. Laurent DAVID</b>	Professeur des Universités, Université Claude Bernard Lyon1	Examinateur
<b>Mme Karine BRUYÈRE-GARNIER</b>	Directeur de recherche, IFSTTAR, Lyon	Directeur
<b>M. Michel CORET</b>	Professeur des Universités, École Centrale de Nantes	Directeur



# UNIVERSITE CLAUDE BERNARD - LYON 1

## Président de l'Université

Vice-président du Conseil d'Administration

Vice-président du Conseil des Etudes et de la Vie Universitaire

Vice-président du Conseil Scientifique

Directeur Général des Services

**M. François-Noël GILLY**

M. le Professeur Hamda BEN HADID

M. le Professeur Philippe LALLE

M. le Professeur Germain GILLET

M. Alain HELLEU

## ***COMPOSANTES SANTE***

Faculté de Médecine Lyon Est – Claude Bernard

Faculté de Médecine et de Maïeutique Lyon Sud – Charles  
Mérieux

Faculté d'Odontologie

Institut des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques

Institut des Sciences et Techniques de la Réadaptation

Département de formation et Centre de Recherche en Biologie  
Humaine

Directeur : M. le Professeur J. ETIENNE

Directeur : Mme la Professeure C. BURILLON

Directeur : M. le Professeur D. BOURGEOIS

Directeur : Mme la Professeure C. VINCIGUERRA

Directeur : M. le Professeur Y. MATILLON

Directeur : Mme. la Professeure A-M. SCHOTT

## ***COMPOSANTES ET DEPARTEMENTS DE SCIENCES ET TECHNOLOGIE***

Faculté des Sciences et Technologies

Département Biologie

Département Chimie Biochimie

Département GEP

Département Informatique

Département Mathématiques

Département Mécanique

Département Physique

UFR Sciences et Techniques des Activités Physiques et Sportives

Observatoire des Sciences de l'Univers de Lyon

Polytech Lyon

Ecole Supérieure de Chimie Physique Electronique

Institut Universitaire de Technologie de Lyon 1

Ecole Supérieure du Professorat et de l'Education

Institut de Science Financière et d'Assurances

Directeur : M. F. DE MARCHI

Directeur : M. le Professeur F. FLEURY

Directeur : Mme Caroline FELIX

Directeur : M. Hassan HAMMOURI

Directeur : M. le Professeur S. AKKOUCHE

Directeur : M. le Professeur Georges TOMANOV

Directeur : M. le Professeur H. BEN HADID

Directeur : M. Jean-Claude PLENET

Directeur : M. Y. VANPOULLE

Directeur : M. B. GUIDERDONI

Directeur : M. P. FOURNIER

Directeur : M. G. PIGNAULT

Directeur : M. le Professeur C. VITON

Directeur : M. le Professeur A. MOUGNIOTTE

Directeur : M. N. LEBOISNE



---

# Remerciements

Puisqu'il faut rendre à César ce qui lui appartient, voici ici l'occasion pour moi d'exprimer ma reconnaissance envers toutes les personnes qui, par leur implication ou leur soutien, ont largement contribué à l'élaboration de cette thèse.

Mes tout premiers remerciements vont à ma formidable équipe de directeurs de thèse, Karine et Michel. Vous avez su, au cours de ces trois années, me guider admirablement, et m'avez permis de m'enrichir scientifiquement et humainement. Si j'ai trouvé dans cette thèse tout ce que j'étais venu y chercher, c'est grâce à vous, et je n'aurais pas pu rêver d'un meilleur encadrement. Merci à Karine pour son soutien au quotidien, ses paroles toujours encourageantes, et son aide oh combien précieuse lors des campagnes expérimentales. Merci pour ta disponibilité, j'ai adoré travailler avec toi, surtout lors de nos séances de « bricolage » à IVTV. Merci à Michel pour son regard toujours pertinent et inspirant sur mon travail. Merci pour son implication qui est restée sans faille malgré la distance. Tu m'as permis, à chaque réunion, de « sortir la tête du guidon », ce qui je le crois a été extrêmement bénéfique à ce travail. Globalement, je ne le dirai jamais assez, mais merci à tous les deux pour votre gentillesse et votre bienveillance. Ce fut réellement un plaisir de travailler avec vous, et je me rends compte que j'ai eu beaucoup de chance d'en avoir eu l'occasion.

Mon deuxième grand merci est destiné à l'équipe technique du LBMC, représentée par Leila Benboubaker, Yves Caire et Stéphane Ardizzone. Leurs conseils avisés lors des phases de conception, ainsi que leur assistance précieuse durant les campagnes expérimentales, ont rendu mes périodes d'essais très agréables et enrichissantes. Leur gentillesse et leur constante bonne humeur font qu'il est impossible d'aller manipuler au LBMC dans une mauvaise ambiance (et c'est pourtant parfois tentant lorsque ça ne marche pas). Je tiens ici à inclure une mention spéciale pour la patience dont a fait preuve Leila en ce qui concerne ma maîtrise des règles du L2, mais grâce à toi, j'y suis arrivé (presque), après 2 ans de lutte intensive.

Je tiens aussi à remercier l'équipex IVTV pour avoir mis à ma disposition le matériel de microscopie et m'avoir ainsi permis d'utiliser des moyens expérimentaux de très haute qualité. Merci à toute cette équipe pour leur accueil chaleureux et notamment à Guillaume Fargier, pour sa sympathie et son aide tout au long de mes expérimentations.

Je remercie également Jean François Witz du Laboratoire de mécanique de Lille pour les échanges très enrichissants que nous avons eus. Le travail de corrélation d'images présenté dans

---

## Remerciements

---

cette thèse lui doit tout et j'espère que ces résultats préliminaires ne sont que le début de cette collaboration, qui m'a été extrêmement profitable sur le plan scientifique.

Merci aux membres du jury d'avoir accepté d'évaluer cette thèse, et notamment à mes rapporteurs, Mathias Brieu et Jean Marc Allain qui ont bien voulu être les référents de ce travail. Un remerciement tout particulier est destiné à Mathias Brieu qui était là pour mes tout premiers pas dans le domaine de la biomécanique.

Un très grand merci à Aline Brunon, qui sans le savoir, a été un véritable modèle pour moi au cours de ces 3 années via son manuscrit de thèse, qui est devenu un vrai livre de chevet.

Merci également à l'Université de Lyon d'avoir financé ce travail via le Programme Avenir Lyon Saint-Etienne de l'Université de Lyon (ANR-11-IDEX-0007), dans le cadre du programme "Investissements d'Avenir" géré par l'Agence Nationale de la Recherche (ANR).

Viens maintenant le temps des remerciements aux personnels du LBMC, qui tous, ont contribué à l'ambiance de travail exceptionnelle dans laquelle j'ai eu le plaisir d'évoluer durant ces années passées au labo. Merci aux permanents pour les discussions professionnelles (mais pas que...) et les conseils que chacun a pu me donner. Merci notamment à Philippe Beillas pour les discussions toujours engagées et intéressantes, et merci à David Mitton, dont la rigueur et le sérieux dans sa gestion de l'équipe est (ou du moins devrait être) une réelle inspiration. Merci à Philippe Vezin de m'avoir accueilli au sein du laboratoire.

J'attribue ici une mention spéciale pour mes compagnons d'infortune : mes collègues doctorants qui ont aussi contribué à créer au labo une ambiance professionnelle, sérieuse, consciencieuse et travailleuse. Merci donc à Pascalou, Anicette, Rem Man, Romain, Romain, Fabien (l'intrus de cette liste), Edison, Agathe, Junfeng, Vincent, Léo, [insérer ici le nom des oubliés], etc... Merci notamment pour votre bienveillance de tout instant. En particulier, merci Anicet pour toutes tes facéties et tes opinions footballistiques moisies, merci Rémy pour ta recette de semoule, merci Romain d'être le cameraman attitré de toutes nos aventures, et quant à Pascal, merci, cordialement. Plus sérieusement, merci à vous tous pour ces moments inoubliables que nous avons partagé : le ski, les apéros, le bad, les crémaillères, les ballades dans la boue ou à Mulhouse, les déménagements, les tlmvpsp, et qui font passer mes années de thèse pour un programme de vacances lorsqu'on les rassemble tous dans une même phrase. Merci aussi à celles et ceux qui sont partis notamment Doris, Cindy, Anurag, Clémentine et Florence, qui ont participé à ces bons moments. Merci également aux potes du volley, et surtout Stéphanie et Armel, qui ont été une partie importante de ma vie sociale durant ces 3 dernières années. Je veux aussi avoir un petit mot pour les vieux/vieilles potes plus ancien(ne)s qui ont eu la joie de profiter de ma compagnie pendant de nombreuses années. Vinson, Doudou, Ricordal, Paco et tous les autres qu'il serait trop long de citer mais qui ne sont pas moins associés à ces paroles chaleureuses, merci d'avoir diverti ma vie d'une manière générale.

Pour conclure, je souhaiterais adresser des remerciements particuliers à ma famille, pour leur soutien sans faille depuis le début (quand j'étais tout petit). Merci à mon petit frère qui aura probablement déjà arrêté de lire à ce niveau du manuscrit (2 pages c'est déjà bien !). Merci à mes grandes sœurs, qui je le crains fort, n'en sauront toujours pas plus sur la nature de mon vrai métier à la lecture de ce mémoire (et j'en suis désolé). Merci à vous quatre, tout simplement pour être là.

Enfin, je dédie ce manuscrit à mes parents, à qui je dois tout.

---

---

# Résumé

Les modèles numériques personnalisables d'organes du corps humain offrent un formidable potentiel pour évaluer le risque lésionnel dans les domaines de la sécurité des transports, du médical ou du sport. Suivant les applications, différents niveaux de détails peuvent être nécessaires. En particulier, lorsque le comportement mécanique des tissus biologiques doit être finement reproduit, les modèles de comportement doivent intégrer des considérations sur la structure du tissu, et simuler les mécanismes suivant lesquels il réagit à un chargement mécanique.

Le travail de thèse présenté ici s'est focalisé sur la capsule de foie, notamment sur ses propriétés microstructurales et mécaniques, afin d'identifier les hypothèses importantes à intégrer dans la construction d'un modèle constitutif de tissu fibreux basé sur la microstructure. La méthodologie expérimentale a été mise en place afin de caractériser le comportement mécanique de ce tissu, en lien avec l'organisation de sa microstructure.

Des essais de traction uniaxiale et de gonflement sous microscope confocal biphotonique ont été développés, pour observer l'évolution de la microstructure sous chargement. Des déformations macroscopiques ont été mesurées, et une méthode de mesure de champs de déformations locaux a été développée pour quantifier l'état de déformation du réseau de fibres. La réorganisation du réseau de fibre de collagène a également été quantifiée. L'analyse des liens existant entre les grandeurs mesurées à l'échelle macroscopique et ces phénomènes microscopiques est proposée, pour préciser les hypothèses à adopter dans les modèles permettant de passer de l'échelle des fibres au comportement global du tissu.

**Mots clés :** capsule de foie humaine ; microscopie confocale multiphoton ; collagène ; élastine ; corrélation d'images ; essai de gonflement elliptique ; photoblanchiment ; membrane conjonctive fibreuse

---

---

---



---

# Abstract

Customized human body models offer a great potential to assess the injury risks in the fields of transport safety, surgery or sport. Various detail levels can then be needed, according to the targeted application. In particular, when the mechanical behavior of biological tissues needs to be accurately reproduced, numerical models have to include information about the structure of the tissue, and model the mechanisms of the response to mechanical loading.

The work presented here focuses on the microstructural and mechanical characterization of the human liver capsule, in order to identify the important hypotheses that need to be included in a fibrous tissue constitutive model, based on microstructure. Thus, an experimental methodology has been developed to identify the mechanical behavior of this particular tissue, related with its microstructural organization.

Uniaxial tensile tests, as well as bulge tests under a multiphoton confocal microscope have been performed, to observe the microstructure evolution during loading. Macroscopic strain has been assessed, and a method to measure local strain fields has been developed, to quantify the strain state of the fibrous network. The reorganization of the collagen fibers network has also been quantified. An analysis of the links between the measured macroscopic parameters and the microscopic phenomena is given. Therefore, the hypotheses that need to be included in constitutive models are highlighted, with particular consideration given to the affine transformation hypothesis which allows to link the fibers behavior to the global response of the tissue.

**Keywords:** human liver capsule ; confocal multiphoton microscopy ; collagen ; elastin ; image correlation ; elliptic bulge test ; photobleaching ; connective fibrous membrane

---

---

---

---

# Table des matières

<b>Table des matières</b>	<b>i</b>
<b>Liste des figures</b>	<b>v</b>
<b>Liste des tableaux</b>	<b>ix</b>
<b>Introduction</b>	<b>1</b>
<b>Chapitre 1 : Contexte et état de l’art</b>	<b>7</b>
<b>1.1 Contexte de l’étude.....</b>	<b>8</b>
1.1.1 Traumatologie du foie.....	8
1.1.2 Intérêts et enjeux des modèles constitutifs.....	10
<b>1.2 Foie et tissus hépatiques.....</b>	<b>12</b>
1.2.1 Le foie humain.....	12
1.2.2 La capsule de Glisson.....	15
1.2.3 Comportement mécanique macroscopique.....	16
<b>1.3 Caractérisation des tissus conjonctifs fibreux.....</b>	<b>18</b>
1.3.1 Comportement mécanique lié aux fibres.....	18
1.3.2 Fibres de collagène et d’élastine.....	19
1.3.3 Essais mécaniques couplés à l’observation microstructurale.....	23
1.3.4 Microscopie confocale multiphotonique.....	26
<b>1.4 Modèles analytiques constitutifs de tissus fibreux.....</b>	<b>31</b>
1.4.1 Formalisme usuel.....	31
1.4.2 Intégration de la réorientation, du dépliement et de l’endommagement....	35

<b>Chapitre 2 : Mesure de champs de déformation locaux lors d'essais de traction uniaxiale</b>	<b>39</b>
<b>2.1 Introduction</b>	<b>40</b>
<b>2.2 Matériels et méthodes</b>	<b>42</b>
2.2.1 Préparation des échantillons	42
2.2.2 Paramètres d'imagerie	43
2.2.3 Photoblanchiment	43
2.2.4 Conditions de chargement	46
2.2.5 Essai de propagation d'une déchirure	49
<b>2.3 Résultats</b>	<b>50</b>
2.3.1 Organisation microstructurale de la capsule de foie	50
2.3.2 Caractère non destructif du photoblanchiment	52
2.3.3 Champs de déformations locaux	55
2.3.4 Observation locale de la rupture	60
<b>2.4 Discussion</b>	<b>62</b>
2.4.1 Organisation et évolution de la microstructure au cours du chargement	62
2.4.2 Méthode de mesure par photoblanchiment	63
2.4.3 Analyse du mécanisme de déchirement	66
<b>2.5 Mesures par corrélation d'images</b>	<b>67</b>
<b>Chapitre 3 : Essais de gonflement sur capsule de foie sous microscope confocal multiphoton</b>	<b>75</b>
<b>3.1 Introduction</b>	<b>76</b>
<b>3.2 Matériels et méthodes</b>	<b>77</b>
3.2.1 Préparation des échantillons	77
3.2.2 Chargement en pression et mesure de déplacement	78
3.2.3 Paramètres d'imagerie	80
3.2.4 Mesure de champs de déformations	81
3.2.5 Paramètres à rupture	82
3.2.6 Mesure d'orientations des fibres	82
<b>3.3 Résultats</b>	<b>84</b>
3.3.1 Déformation locale et prédicteur de rupture	84
3.3.2 Distributions d'orientation	86
3.3.3 Observation de la rupture	90
<b>3.4 Discussion</b>	<b>90</b>

---

---

<b>Chapitre 4 : Gonflement de capsule de foie à l'échelle macroscopique : mesures par stéréocorrélation</b>	<b>95</b>
<b>4.1 Introduction.....</b>	<b>96</b>
<b>4.2 Essais couplés à la mesure de déplacements par stéréocorrélation.....</b>	<b>97</b>
4.2.1 Matériels et méthodes.....	97
4.2.2 Identification du comportement.....	100
4.2.3 Résultats.....	104
4.2.4 Discussion.....	114
<b>4.3 Retour sur les essais microscopiques.....</b>	<b>116</b>
4.3.1 Analyse macroscopique des essais sous microscope.....	116
4.3.2 Influence de l'état initial sur le calcul de déformations.....	118
4.3.3 Comparaison des déformations macroscopiques stéréo et ellipsoïdales...	120
<b>Chapitre 5 : Confrontation de l'hypothèse de transformation affine aux données expérimentales</b>	<b>125</b>
<b>5.1 Introduction.....</b>	<b>126</b>
<b>5.2 Déformation locale vs déformation globale.....</b>	<b>126</b>
<b>5.3 Réorientation relative à la déformation globale.....</b>	<b>129</b>
5.3.1 Méthode.....	129
5.3.2 Résultats et discussion.....	130
<b>5.4 Évolution de l'orientation dans la grille photoblanche.....</b>	<b>133</b>
<b>Conclusion et perspectives</b>	<b>137</b>
<b>Annexe A : Paramètres de la séquence de corrélation d'images sur la plateforme YaDICs</b>	<b>143</b>

---

<b>Annexe B : Test des paramètres pour le calcul d'orientation via le plugin OrientationJ d'ImageJ</b>	<b>147</b>
<b>B.1 Introduction.....</b>	<b>148</b>
<b>B.2 Choix du tenseur de structure.....</b>	<b>150</b>
<b>B.3 Choix de la taille de la fenêtre de la ROI.....</b>	<b>152</b>
<b>B.4 Test des valeurs seuils d'énergie et de cohérence.....</b>	<b>154</b>
<b>Nomenclature</b>	<b>157</b>
<b>Bibliographie</b>	<b>159</b>

---

# Liste des figures

1.1	Schéma global du foie d'après (Netter, 2010). . . . .	13
1.2	Variations morphologiques du foie . . . . .	13
1.3	Schéma de la vascularisation interne du foie . . . . .	14
1.4	Microstructure d'un lobule hépatique. . . . .	14
1.5	Coupe histologique d'un tissu hépatique humain. . . . .	15
1.6	Capsule de Glisson observée par MEB, d'après (Chapman and Eagles, 2007) . . .	16
1.7	Courbe contrainte/déformation typique d'un tissu fibreux, d'après (Daly, 1982) . .	19
1.8	Organisation fibrillaire du collagène . . . . .	20
1.9	Nature entropique de l'élasticité de l'élastine, d'après (Robert, 2002) . . . . .	22
1.10	Observation microscopique du collagène de type I . . . . .	25
1.11	Localisation du volume focal, d'après (Ishikawa-Ankerhold et al., 2012). . . . .	27
1.12	Principe de la fluorescence, d'après (Ishikawa-Ankerhold et al., 2012) . . . . .	28
1.13	Fluorescence et SHG du collagène . . . . .	30
2.1	Mécanisme du photoblanchiment . . . . .	41
2.2	Géométrie des échantillons de traction uniaxiale . . . . .	42
2.3	Grille de test de photoblanchiment . . . . .	44
2.4	Maillage éléments finis de la grille de photoblanchiment. . . . .	46
2.5	Dispositif expérimental de traction uniaxiale . . . . .	47
2.6	Profil de chargement de traction uniaxiale avec cyclage . . . . .	48
2.7	Profil de chargement de traction pour un échantillon entaillé. . . . .	50
2.8	Microstructure de la capsule de foie humaine. . . . .	51

## Liste des figures

---

2.9	Zoom sur un carré de photoblanchiment . . . . .	53
2.10	Comportement au cyclage de la capsule de foie. . . . .	54
2.11	Grille de photoblanchiment vue par microscopie confocale biphotonique . . . . .	56
2.12	Champs de déformation locaux . . . . .	58
2.13	Déformation locale vs déformation globale. . . . .	59
2.14	Évolution de la déformation dans l'épaisseur . . . . .	59
2.15	Évolution de la déformation lors de la propagation d'une entaille . . . . .	61
2.16	Déformation longitudinale vs déformation transverse . . . . .	65
2.17	Champs de déplacements calculés par corrélation d'images . . . . .	71
3.1	Dimensions des échantillons de gonflement. . . . .	77
3.2	Montage expérimental de gonflement sous microscope. . . . .	79
3.3	Courbe de chargement en gonflement. . . . .	80
3.4	Grille de photoblanchiment au sommet de la capsule. . . . .	81
3.5	Illustration du calcul d'orientation des fibres de collagène . . . . .	83
3.6	Champs de déformations locaux au sommet de la capsule . . . . .	85
3.7	Décalage de la grille de photoblanchiment lors du gonflement. . . . .	86
3.8	Orientation des fibres de collagène en fonction de l'épaisseur . . . . .	87
3.9	Réorientation des fibres face à un chargement en traction non-équibiaxiale . . . . .	88
3.10	Exemple de l'emplacement de prélèvements des échantillons . . . . .	89
4.1	Principe de la corrélation d'images dans VIC3D® . . . . .	96
4.2	Réalisation du mouchetis sur les échantillons. . . . .	98
4.3	Montage expérimental de gonflement couplé à la mesure par stéréocorrélation . . . . .	98
4.4	Images de stéréocorrélation de la capsule de foie humaine . . . . .	99
4.5	Forme de gonflement pour les différents types d'échantillons . . . . .	105
4.6	Évolution du déplacement vertical de l'apex avec la pression . . . . .	106
4.7	Erreur entre la forme réelle et l'approximation par un ellipsoïde. . . . .	106
4.8	Géométrie du gonflement réelle et approximée . . . . .	107
4.9	Champs de déformations macroscopiques calculés par stéréocorrélation. . . . .	109
4.10	Identification des lois polynomiales des potentiels hyperélastiques testés . . . . .	110



4.11	Erreur entre pression expérimentale analytique. . . . .	111
4.12	Rapport entre les deux premiers invariants . . . . .	111
4.13	Films de rupture de la capsule de foie. . . . .	114
4.14	Déplacement vertical en fonction de la pression pour les essais microscopiques. . . . .	116
4.15	Déformations macroscopiques des essais sous microscope. . . . .	118
4.16	Influence de l'état initial sur le calcul des déformations . . . . .	119
4.17	Déformations macroscopiques des essais sous microscope et de stéré . . . . .	121
5.1	Déformation de Green-Lagrange macroscopique et microscopique . . . . .	128
5.2	Orientations des fibres expérimentale et théorique dans le plan moyen . . . . .	131
5.3	Orientations des fibres expérimentale et théorique dans le maillage EF . . . . .	134
B.1	Image test pour la détermination des paramètres du calcul d'orientation. . . . .	149
B.2	Résultats des différentes méthodes de calcul du gradient. . . . .	151
B.3	Influence de la taille de la fenêtre gaussienne. . . . .	153
B.4	Influence du filtrage par l'énergie et la cohérence . . . . .	154

---

---

---

# Liste des tableaux

1.1	Classification AIS des blessures hépatiques, d'après (Moore et al., 1995) . . . . .	9
1.2	Conséquences des blessures abdominales, d'après (Tinkoff et al., 2008) . . . . .	9
1.3	Propriétés mécaniques des fibres de collagène, d'après (Susilo et al., 2010). . . . .	21
2.1	Valeurs moyennes et écarts types associés des distances inter-courbes. . . . .	55
2.2	Algorithme de recalage des déplacements pour la corrélation d'images . . . . .	69
3.1	Origine et géométrie des échantillons testés par gonflement . . . . .	78
3.2	Paramètre à pseudo-rupture des échantillons de capsule de foie . . . . .	84
4.1	Coefficients des lois polynomiales pour l'identification du comportement. . . . .	112
4.2	Paramètres à rupture de la capsule de foie. . . . .	112

---

---

---

# Introduction

Le développement de modèles numériques personnalisables d'organes du corps humain présente un intérêt majeur dans la recherche en biomécanique pour améliorer la prédiction du risque de blessures, dans les domaines du transport, du médical ou du sport. Dans ces domaines d'applications, ces modèles numériques apparaissent de plus en plus comme des outils indispensables dans les phases de conception et d'évaluation de produits.

Dans le domaine de la sécurité dans les transports par exemple, les essais virtuels sont voués à entrer dans un cadre réglementaire pour la validation des choix de conception des véhicules et de leurs dispositifs de sécurité. A terme, les mannequins anthropomorphiques utilisés couramment laisseront petit à petit leur place à des modèles numériques présentant une bio-fidélité supérieure, et ayant l'avantage de pouvoir décliner les scénarios et représenter la variabilité inter-individu à moindre coût.

En chirurgie, les modèles numériques d'organes permettent de tester virtuellement des prototypes d'outils médicaux, ainsi que de créer des simulateurs d'apprentissage très réalistes, facilitant et modernisant de ce fait considérablement la formation des médecins. La capacité de ces modèles à pouvoir représenter la variabilité inter-individus est basée sur un potentiel de personnalisation (géométrique et des propriétés) largement exploité dans le domaine médical. La reconstruction 3D personnalisée des organes à partir de l'imagerie est, par exemple, un atout majeur à la planification d'opérations chirurgicales ou à l'aide au diagnostic.

La personnalisation des propriétés mécaniques représente également un formidable avantage de la simulation par modèle numériques. Elle permet notamment de dégrader les propriétés mécaniques des tissus afin de prendre en compte l'influence de pathologies ou du vieillissement lors d'une application donnée.

Les modèles numériques personnalisables se déclinent alors en une multitude de configurations différentes, en fonction de l'application désirée. Le niveau de détails à inclure dans le modèle, et l'échelle de travail seront justement déterminés par le domaine d'application et la finalité recherchée à la simulation. Par exemple, dans le domaine du transport, une modélisation à l'échelle du corps entier ou de l'organe global isolé, est souvent suffisante aux applications, lorsqu'il s'agit d'évaluer la cinématique globale des organes les uns par rapport aux autres, ou de localiser des zones de blessures potentielles à l'échelle macroscopique. Pour la chirurgie, une échelle inférieure au niveau du tissu peut paraître plus adéquate pour la planification de chirurgie ou le test de nouveaux outils. Une description plus fine du

comportement est alors nécessaire si l'on s'intéresse à des phénomènes plus locaux. Enfin, dans le domaine de l'ingénierie tissulaire, une modélisation des tissus en lien avec leur microstructure peut permettre de comprendre très finement les phénomènes macroscopiques, en les reliant aux transformations subies par les composants même du tissu.

Dans toutes ces applications, les modèles numériques doivent être alimentés par des propriétés mécaniques et des informations structurelles préalablement identifiées sur les tissus. La prédiction du risque de blessures d'un organe passe notamment par l'identification de paramètres à ruptures et de mécanismes lésionnels permettant de connaître la réaction d'un tissu à une sollicitation donnée.

Parmi les travaux du domaine de la biomécanique on trouve donc la caractérisation des tissus au sens large du terme, incluant la détermination des propriétés mécanique des organes, des interactions entre organes ou entre composants, des réactions structurelles à une sollicitation mécanique, etc... Tous ces travaux se heurtent alors aux problématiques inhérentes aux études sur tissus biologiques, notamment la forte variabilité des paramètres identifiés provenant de la variabilité inter individus, ainsi que les problèmes de validations induits par le travail obligatoire sur modèle cadavre pour des raisons éthiques.

Depuis plusieurs années, beaucoup d'études ont porté sur la caractérisation du foie humain (Brunon, 2011; Dan, 1999; Sparks, 2007), dans la mesure où, de par sa localisation et ses caractéristiques, il s'agit d'un organe relativement exposé et vulnérable. Dans le contexte de la sécurité dans les transports, les décélérations, les chocs directs mais aussi des chargements sévères appliqués par les dispositifs de retenue peuvent conduire à des lésions du foie, de types hématomes, lacérations plus ou moins profondes ou arrachements de gros vaisseaux. Ces lésions conduisent rapidement à des risques hémorragiques importants. Dans le domaine médical, les pathologies conduisant à des besoins de chirurgie sont généralement associées à des conditions physiologiques du foie qui le rendent fragile, telle que la stéatose. Par ailleurs, malgré l'évolution des moyens médicaux, que ce soit en imagerie ou en chirurgie, les lésions du foie restent extrêmement difficiles à réparer, et les plus profondes peuvent rapidement engager le pronostic vital du patient.

Le travail de thèse présenté ici s'est focalisé sur la capsule du foie, et plus précisément sur la caractérisation de ses propriétés microstructurales et mécaniques. Cette capsule est impliquée lors de blessures sérieuses du foie intervenant en cas de choc : les lacérations superficielles, qui débutent par un déchirement de cette membrane fibreuse. D'autre part, la composition et la structure de la capsule hépatique (réseaux de fibres de collagène et d'élastine entremêlées) en font un cas d'étude intéressant pour la caractérisation des membranes fibreuses. Ce type de tissus, composés d'une microstructure similaire, est en effet très présent dans le corps humain (peau, artère, cornée, amnion...), et fait l'objet de recherches intensives pour diverses applications. Or, les méthodes et analyses qui sont développées pour un tissu fibreux donné sont très souvent transposables et adaptables aux autres tissus de composition ou d'organisation similaires.

La caractérisation complète des propriétés mécaniques à rupture de ce type de tissu nécessite d'établir le lien entre l'organisation microstructurale et le comportement mécanique macroscopique. Ces connaissances permettent alors de créer des modèles analytiques constitutifs basés sur la microstructure, qui s'avèrent précieux pour les applications nécessitant une description très fine du comportement, notamment en ingénierie tissulaire, ou pour

modéliser la variabilité de comportement induite par une modification de la composition des tissus liée à une pathologie.

De nombreux modèles analytiques de tissus fibreux existent, plus ou moins élaborés qui tiennent compte de différents phénomènes tels que la réorientation des fibres, leur dépliement, leur recrutement, leur endommagement, etc, à différentes échelles (Gasser, 2011; Hill et al., 2012; Holzapfel et al., 2000; Lanir, 1983; Robertson et al., 2012). Tous ces modèles reposent usuellement sur des hypothèses sur la façon dont ces réseaux de fibres réagiraient face à un chargement mécanique. Des modèles assez complexes sont alors élaborés, très paramétrables pour rendre compte de cette « physique ». Dans la mesure où la variabilité du comportement mécanique est assez grande, on trouve souvent les paramètres permettant l'identification du comportement à celui observé en moyenne expérimentalement (compte tenu du fait que la barre d'erreur se situe dans le domaine de variabilité du comportement mécanique des échantillons). Il est donc très difficile de valider ces modèles convenablement.

Les objectifs du travail présenté ici sont donc de proposer une étude expérimentale, visant à observer les phénomènes microstructuraux qui entrent réellement en jeu lors du chargement mécanique de la capsule de foie. On souhaite évaluer qualitativement et quantitativement la manière dont le chargement mécanique macroscopique est perçu à l'échelle des fibres, et identifier quels phénomènes sont prédominants. Pour cela, le développement de méthodes expérimentales fiables, combinant le chargement et l'observation de la microstructure des tissus fibreux sera nécessaire. Les données issues de ces méthodes permettront alors d'alimenter et de valider les modèles constitutifs de tissus fibreux. Les hypothèses usuellement adoptées dans les approches de modélisation seront également testées et confrontées aux données expérimentales obtenues, qui permettront de préciser ces hypothèses et d'en apporter de nouvelles.

Le premier chapitre du mémoire présente tout d'abord le contexte du travail vis-à-vis de la traumatologie du foie, en particulier dans le domaine du transport, ainsi que les enjeux d'une approche de modélisation du comportement mécanique des tissus fibreux, basée sur la microstructure. Ensuite, une synthèse de l'état de l'art, relatif aux essais mécaniques couplés à des techniques d'observations de la microstructure, notamment la microscopie confocale multiphotonique, est donnée. L'état de connaissance et les différentes approches utilisées dans les modèles constitutifs sont également abordés.

Le deuxième chapitre décrit l'élaboration d'une technique de mesure de champs de déformations locaux par photoblanchiment, et son implémentation lors d'essais de traction uniaxiale sous microscope. L'utilisation de cette technique pour étudier la propagation de rupture sur la capsule de foie, ainsi qu'une technique alternative de mesure par corrélation d'images sont aussi présentées. Ces premières observations sous microscope sont également l'occasion de fournir une description de l'organisation de la microstructure de la capsule de foie.

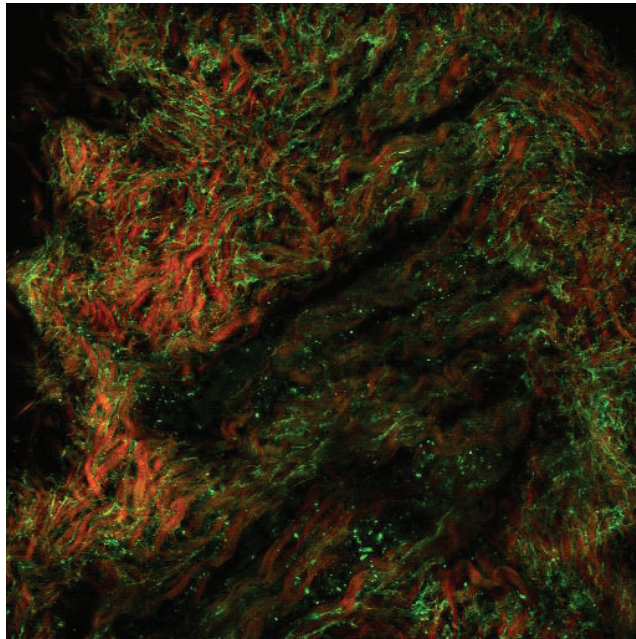
Le troisième chapitre présente un protocole expérimental également développé dans le cadre de cette thèse, qui consiste en des essais de gonflement de la capsule de foie sous microscope confocal biphotonique. La méthode de mesure de champs de déformations, décrite au chapitre précédent, est alors utilisée pour décrire l'état micromécanique locale de la capsule à son sommet. Une méthode de mesure d'orientation des fibres de collagène est également proposée pour décrire la réorientation du réseau de fibre au cours du chargement.

Le quatrième chapitre présente l'analyse des essais de gonflement de capsule à l'échelle macroscopique. Le protocole de gonflement décrit dans le chapitre précédent est repris, en le

couplant à une méthode de mesure de champs de déplacements par stéréocorrélation. Il permet alors d'identifier les propriétés mécaniques de la membrane via des modèles de comportements hyperélastiques. Ces résultats sont aussi mis en relation avec les essais sous microscope, via le calcul d'une déformation macroscopique en prenant une hypothèse de forme ellipsoïdale pour le dôme de gonflement.

Le cinquième chapitre propose enfin de tester une hypothèse largement utilisée dans les modèles constitutifs : la transformation affine. La confrontation entre le modèle dérivé de cette hypothèse, et les données expérimentales acquises au cours des essais de gonflement, permet de conclure quant à la validité de cette hypothèse pour le cas de la capsule de foie.





---

---

---

# Chapitre 1

## Contexte et état de l'art

*Dans ce chapitre, le contexte de la thèse est présenté en exposant les enjeux de l'étude du foie humain vis-à-vis de données de traumatologie, ainsi que l'intérêt des modèles constitutifs pour décrire finement le comportement mécanique des tissus. Après quelques précisions anatomiques sur le foie, ses composants et son comportement mécanique, un état de l'art est aussi dressé sur les essais sur tissus mous fibreux et les techniques d'imagerie microscopiques associées. Enfin une présentation des modèles analytiques constitutifs existants est donnée.*

### Sommaire

---

<b>1.1</b>	<b>Contexte de l'étude.....</b>	<b>8</b>
1.1.1	Traumatologie du foie .....	8
1.1.2	Intérêts et enjeux des modèles constitutifs .....	10
<b>1.2</b>	<b>Foie et tissus hépatiques.....</b>	<b>12</b>
1.2.1	Le foie humain .....	12
1.2.2	La capsule de Glisson.....	15
1.2.3	Comportement mécanique macroscopique.....	16
<b>1.3</b>	<b>Caractérisation des tissus conjonctifs fibreux .....</b>	<b>18</b>
1.3.1	Comportement mécanique lié aux fibres .....	18
1.3.2	Fibres de collagène et d'élastine .....	19
1.3.3	Essais mécaniques couplés à l'observation microstructurale .....	23
1.3.4	Microscopie confocale multiphotonique .....	26
<b>1.4</b>	<b>Modèles analytiques constitutifs de tissus fibreux.....</b>	<b>31</b>
1.4.1	Formalisme usuel .....	31
1.4.2	Intégration de la réorientation, du dépliement et de l'endommagement .....	35

---

## 1.1 Contexte de l'étude

### 1.1.1 Traumatologie du foie

La plupart des études recensant la localisation, le type, la sévérité et les conséquences des blessures occasionnées lors d'accidents de la route mettent en évidence que les lésions abdominales engagent très sérieusement le pronostic vital des accidentés. Si celles-ci ne représentent qu'un faible pourcentage de toutes les blessures engendrées lors des accidents de la route (entre 3 et 5%), elles représentent toutefois une grande partie des blessures sérieuses (Augenstein et al., 2000; Elhagediab and Rouhana, 1998; Ricci, 1980; Rouhana and Foster, 1985).

Augenstein *et al.* (Augenstein et al., 2000) par exemple reportent, en analysant la base de données de la National Automobile Sampling System / Crashworthiness Database System (NASS/CDS), que 49% des AIS3+\* concerne des blessures à l'abdomen et au thorax. Elhagediab et Rouhana (Elhagediab and Rouhana, 1998), à partir des données de la National Automotive Sampling System (NASS), remarquent que l'implication de l'abdomen augmente avec la sévérité des blessures. Ainsi, dans cette étude, les blessures de l'abdomen correspondent à 8% des AIS  $\geq 3$ , 16.5% des AIS  $\geq 4$  et 20.5% des AIS  $\geq 5$ .

Parmi les organes touchés lors de ces lésions de l'abdomen, les reins, la rate et le foie sont très nettement impliqués (Elhagediab and Rouhana, 1998; Rouhana and Foster, 1985). Le foie en particulier se trouve être un organe relativement vulnérable dans les accidents de voiture, de par sa localisation (face au volant) et son important volume ce qui fait de lui une cible statistiquement privilégiée. Les types de lésions du foie sont principalement de 3 sortes : les hématomes, les lacérations et les ruptures vasculaires. Une classification des types de blessures associée à leur gravité et leur score AIS a été proposée par Moore *et al.* (Moore et al., 1995) et est présentée dans le tableau 1.1.

La prévention de ces blessures hépatiques, comme les lésions abdominales en générale, apparait alors comme un enjeu important dans la mesure où même si elles se trouvent être moins fréquentes, elles entraînent très souvent des complications sérieuses et aboutissent régulièrement à une nécessité d'opérations chirurgicales, voire au décès. Tinkoff *et al.* (Tinkoff et al., 2008) souligne la gravité que revêtent les blessures au foie, à la rate et aux reins en analysant les données issues de la National Trauma Data Bank (NTDB). En triant les différents cas et différentes blessures, ils isolent les cas où seul ces organes particuliers ont été blessés et analysent l'incidence de la gravité des blessures sur le taux de mortalité, le taux d'opération, la durée d'hospitalisation et estiment alors un coût pour chaque type de blessures. Ces résultats sont reportés ici dans le tableau 1.2 et mettent clairement en évidence l'impact sociétal important de ce type de traumatisme.

---

\*AIS : Abbreviated Injury Scale, indicateur permettant de quantifier la gravité d'une blessure sur une échelle de 1 à 6. La définition complète est fournie dans (AIS 2008)

Grade	Type de blessure	Description de la blessure	AIS
I	Hématome	Sous-capsulaire, < 10% de la surface	2
	Lacération	Déchirement de capsule, < 1 cm de profondeur dans le parenchyme	2
II	Hématome	Sous-capsulaire, 10%-50% de la surface ; intraparenchyme < 10 cm de diamètre	2
	Lacération	Déchirement de capsule de 1 à 3 cm de profondeur dans le parenchyme, < 10 cm de longueur	2
III	Hématome	Sous-capsulaire, > 50% de la surface ou en expansion ; Rupture sous-capsulaire ou hématome parenchymal ; Hématome intra parenchymal > 10 cm ou en expansion	3
	Lacération	> 3 cm de profondeur dans le parenchyme	3
IV	Lacération	Rupture du parenchyme impliquant 25-75% d'un lobe hépatique ou 1-3 segments de Couinaud dans un seul lobe	4
V	Lacération	Rupture du parenchyme impliquant > 75% d'un lobe hépatique ou > 3 segments de Couinaud dans un seul lobe	5
	Vasculaire	Blessure des veines juxtahépatiques ; i.e. veine cave/centrale rétrohépatique ou veine hépatique majeure	5
VI	Vasculaire	Avulsion hépatique	6

**Tableau 1.1 :** Classification des blessures hépatiques et score AIS associés d'après Moore *et al.* (Moore et al., 1995)

OIS grade	n	Mortality (%)	OR (%)	LOS (d)	ICU (d)	Charges (\$)
Spleen						
I and II	7,942	4.1	10.2	8.1	3.5	52,194
III	2,931	4.7	27.3*	8.8*	4.0*	61,977
IV	1,978	6.0	53.1*	9.7*	4.6*	59,320
V	895	17.4*	77.3*	11.7*	6.1*	79,796*
Total	13,746	5.3	24.0	8.7	3.9	56,503
Liver						
I and II	9,086	7.0	9.0	7.9	3.4	52,337
III	2,558	9.7*	21.5*	9.0*	4.2*	57,825*
IV	1,310	20.8*	27.8*	11.3*	6.1*	86,246*
V	379	59.6*	38.8*	9.4*	5.7	72,302*
VI	40	92.5*	47.5*	1.6*	1.1*	87,749*
Total	13,373	10.5	14.1	8.5	3.9	57,692
Kidney						
I and II	3,365	3.6	4.0	7.9	3.1	54,660
III	412	5.6*	16.0*	8.2	2.8	48,161*
IV	257	12.5*	38.5*	12.4*	5.2*	76,993*
V	93	28.0*	69.9*	13.7	7.1*	88,506*
Total	4,127	4.9	8.6	8.3	3.3	55,676

\*Statistically significant change from the previous grade (either an increase or decrease).  
AIS, Abbreviated Injury Scale; LOS, length of stay; OIS, Organ Injury Scale; OR, operative rate.

**Tableau 1.2 :** Conséquences des blessures isolées à la rate, au foie et aux reins en fonction de la gravité de la blessure (OIS Grade). Le taux de mortalité (Mortality), le taux d'opération (OR), la durée d'hospitalisation (LOS), la durée de soins intensifs (ICU) et le coût (Charges) sont indiqués pour chaque gravité de blessure. Tableau extrait de Tinkoff *et al.* (Tinkoff et al., 2008)

Le tableau 1.2 illustre aussi la nécessité de prédire la gravité des lacérations. Celles-ci interviennent lors des chocs qu'est susceptible de subir le foie. En effet, sous l'effet d'un impact, une surpression vient se créer à l'intérieur des tissus hépatiques fortement vascularisés et peut ainsi entraîner le déchirement de la capsule et du parenchyme.

Sparks (Sparks, 2007) met en évidence ce mécanisme lésionnel via des essais de compression sur foies entiers pressurisés. En comprimant à différentes vitesses des foies pressurisés, elle engendre des lacérations plus ou moins profondes dans les tissus et identifie une corrélation entre la pression interne et la gravité de la blessure observée.

### 1.1.2 Intérêts et enjeux des modèles constitutifs

La gravité des blessures abdominales et l'impact sociétal de leurs conséquences, mettent en évidence le besoin grandissant de modèles numériques bio-fidèles des organes humains, permettant de développer des dispositifs de sécurité efficaces dans le contexte de chocs automobiles par exemple, ou d'optimiser le design d'outils chirurgicaux dans le domaine médical. Dans le cadre de la sécurité routière, la prédiction de l'occurrence des blessures abdominales via simulation numérique améliorerait la sécurité des usagers, en permettant le développement ou l'amélioration des systèmes de sécurité actifs ou passifs. Dans le domaine chirurgical, la planification de chirurgies personnalisées pourrait permettre d'anticiper d'éventuelles complications lors d'opérations, et représenterait un formidable outil de formation pour les médecins.

La compréhension des mécanismes lésionnels des tissus mous apparaît donc comme un enjeu important afin d'améliorer notre connaissance du comportement des organes mous, que ce soit dans un cadre physiologique ou pathologique. Comme pour la plupart des solides, le comportement mécanique macroscopique des tissus biologiques mous est intimement corrélé à l'organisation de leurs microstructures internes (Gasser et al., 2006; Humphrey, 2003). Pour cette raison, l'obtention d'équations analytiques constitutives basées sur la mécanique des milieux continus a été un domaine de recherche particulièrement actif, afin d'obtenir des modèles structuraux décrivant le comportement des tissus, à partir de considérations basées sur leurs structures internes (Gasser et al., 2006).

Humphrey (Humphrey, 2003) donne une revue extensive des diverses applications de la biomécanique et de l'apport des modèles constitutifs au domaine médical. La prévention de blessures cérébrales lors d'opérations du cerveau en est un exemple. Le développement de robots assistant l'intervention, nécessite impérativement de connaître précisément le comportement des tissus alentours et le seuil lésionnel, ces données étant nécessaires au feedback permettant de contrôler le robot ou les outils médicaux guidés par ordinateurs (Kyriacou et al., 2002). Ces modèles constitutifs peuvent aussi permettre d'améliorer et d'optimiser les procédures de rééducation suite à des blessures ou des chirurgies, en suggérant des efforts optimaux à appliquer aux tissus. C'est le cas pour le traitement de lésions ligamentaires ou tendineuses, où Akeson *et al.* (Akeson et al., 1980, 1973) ont montré que l'immobilisation de structures collagèneuses induisait des changements histologiques délétères en terme de propriétés mécaniques et de raideur des tissus.

Les modèles constitutifs se trouvent également utiles dans la prédiction du risque de rupture d'anévrisme de l'aorte abdominale, pour permettre une planification efficace du traitement (Gasser, 2011), ou aider à la compréhension de techniques chirurgicales connues comme l'angioplastie (Holzapfel et al., 2002), et ainsi contribuer à leur amélioration.

Enfin, ces modèles ont un fort potentiel d'applications dans le domaine d'ingénierie tissulaire, où ils s'avèrent précieux dans de nombreux aspects. Ils ont en effet dans ce domaine un rôle important, que ce soit pour évaluer des seuils lésionnels *in vivo* des tissus que doivent reproduire les tissus artificiels créés, ou bien aider à hiérarchiser les propriétés structurelles importantes à reproduire (Butler et al., 2001).

Le fort potentiel de personnalisation des modèles de comportement constitutifs provient de la possibilité d'y intégrer de nombreux phénomènes et composants de la structure variés, ce qui représente un atout majeur. Il devient alors plus facile de reproduire des processus qui agissent directement sur la microstructure comme le vieillissement ou des pathologies, en dégradant simplement les paramètres liés à la composition ou à la structure du tissu. Par exemple, pour le cas du vieillissement, un modèle basé sur la microstructure peut très aisément intégrer des considérations relatives à la dégradation de l'élastine, qui survient avec l'âge (Robert, 2002).

Cependant, ces nombreuses et diverses applications mettent en évidence le fait que les modèles basés sur la microstructure développés aujourd'hui ont une gamme d'application restreinte. En effet ces modèles s'appliquent d'avantage à un matériau soumis à des conditions particulières dans un état particulier (chargement, conditions limites etc...) et ne représentent pas le comportement d'un matériau donné dans n'importe quelle configuration (Humphrey, 2003). Ainsi, les hypothèses simplificatrices d'un modèle peuvent être valables dans certaines situations, pour un matériau donné, et peuvent être absurdes pour le même matériau dans une autre situation. L'enjeu est donc d'identifier les propriétés et hypothèses pertinentes à inclure dans le modèle du matériau pour l'application considérée.

La principale difficulté dans le développement de modèles structuraux constitutifs des tissus mous, réside dans l'acquisition de paramètres microstructuraux réalistes par rapport à une configuration *in-vivo*, ainsi que des valeurs quantitatives pertinentes de ces paramètres (Robertson et al., 2012). En effet la plupart du temps, les paramètres identifiés proviennent d'études histologiques sur tissus fixés, découpés ou marqués chimiquement. Ces étapes de préparation, souvent nécessaires pour permettre d'imager les tissus sont néanmoins plus ou moins délétères en termes de propriétés mécaniques, et ont une influence sur les paramètres mesurés. Pour résoudre ces difficultés, des techniques d'imagerie ne nécessitant pas de préparations spécifiques des échantillons ont été développées comme la microscopie confocale multiphotonique. Ces techniques permettent alors d'identifier les données structurales nécessaires aux modèles dans des situations un peu plus réalistes, et mettent en avant un des grands avantages des modèles constitutifs, à savoir que les paramètres identifiés ont une réalité physique concrète et facilement appréhendable.



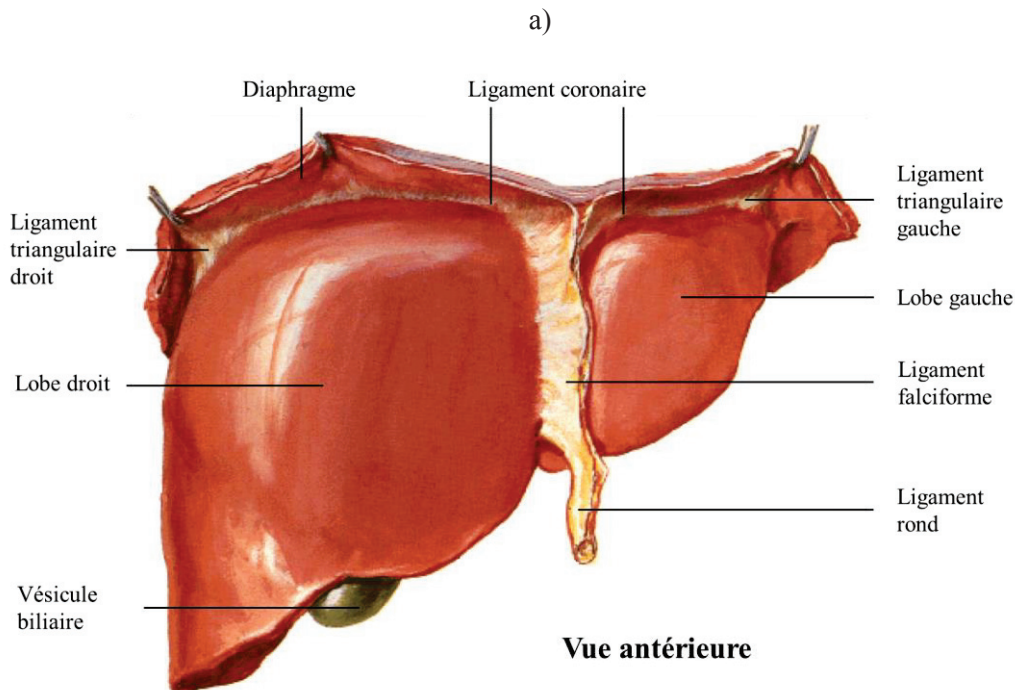
## 1.2 Foie et tissus hépatiques

### 1.2.1 Le foie humain

Le foie est un organe très important du corps humain de par son volume et ses fonctions. C'est l'organe plein le plus volumineux du corps humain puisqu'à lui seul il constitue en moyenne 2% de la masse du corps. Il assure trois principales fonctions vitales que sont l'épuration du sang, la synthèse et le stockage de nombreux composants. Le foie est situé en dessous du diaphragme, dans la partie droite de l'abdomen derrière les dernières côtes (l'hypocondre droit).

Il apparaît sous la forme de 2 lobes principaux asymétriques (lobes droit et gauche) et de deux petits lobes (lobe carré et lobe de Spiegel) qu'on peut inclure dans le lobe droit dans un souci de simplification. Le lobe droit est plus volumineux que le lobe gauche et représente usuellement environ les 2/3 du volume du foie, comme le montre la figure 1.1. Il existe néanmoins certaines variations anatomiques modifiant ce rapport de volume entre les deux lobes (figure 1.2). Une segmentation plus fine a été définie, notamment pour la chirurgie, où l'on décompose le foie en 8 segments délimités par les sous divisions de la veine porte.

De par ses fonctions, le foie est un organe très fortement vascularisé. La figure 1.3 montre une représentation de la vascularisation du foie d'après Netter (Netter, 2010). L'artère hépatique propre apporte le sang chargé en oxygène, qui se mélangera au sang chargé de nutriments apporté par la veine porte hépatique dans les sinusoides jusqu'aux veines centrolobulaires. L'élimination se fait via les veines sublobulaires (veines sus-hépatiques) qui se rejoignent pour former la veine cave inférieure.





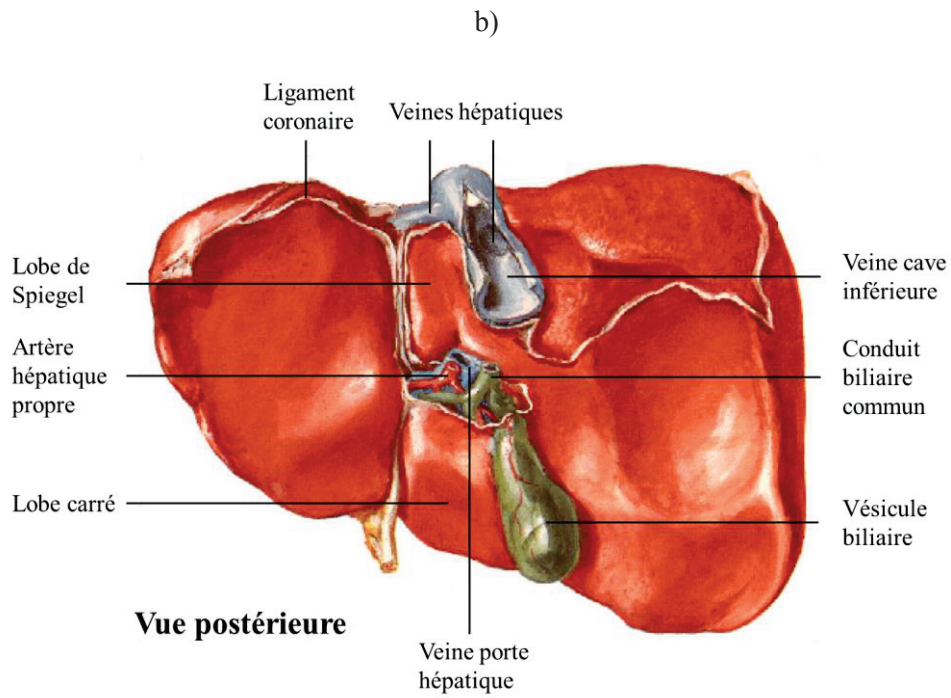


Figure 1.1 : Schéma global du foie d'après Netter (Netter, 2010)

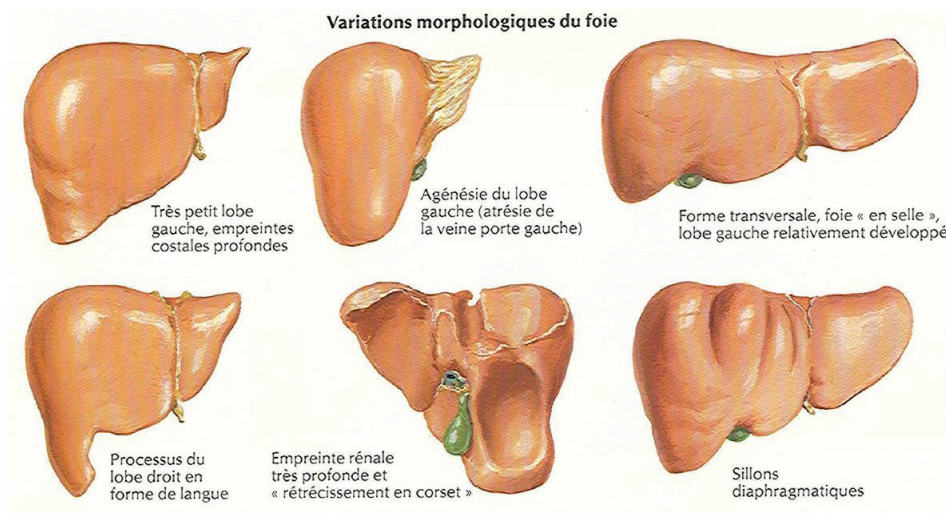
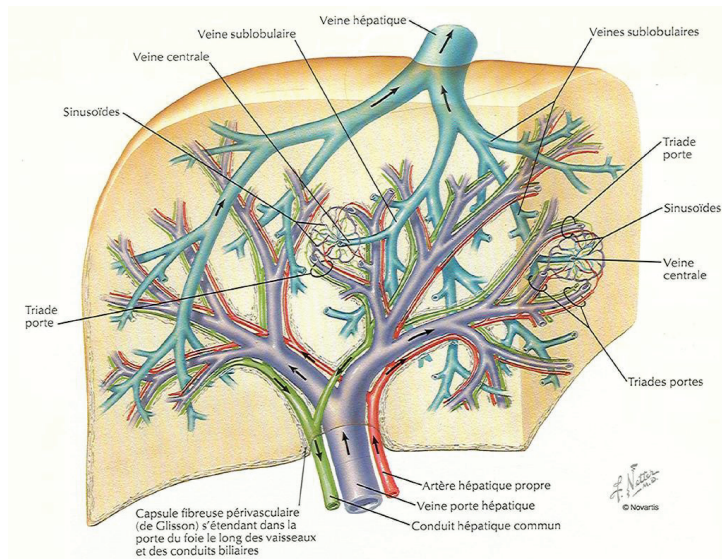
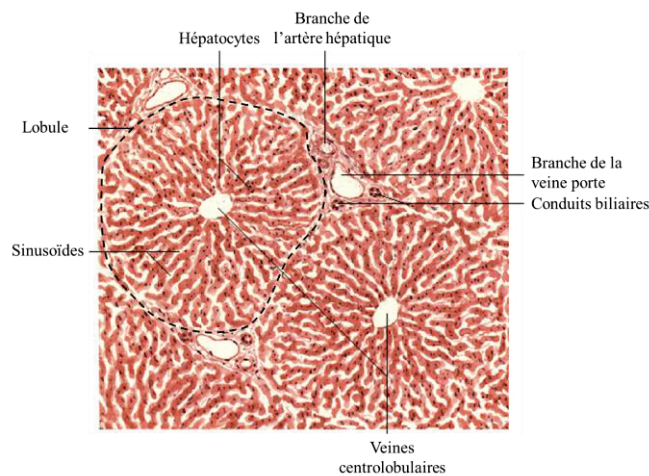


Figure 1.2 : Variations morphologiques du foie. Illustration issue de Netter (Netter, 2010)



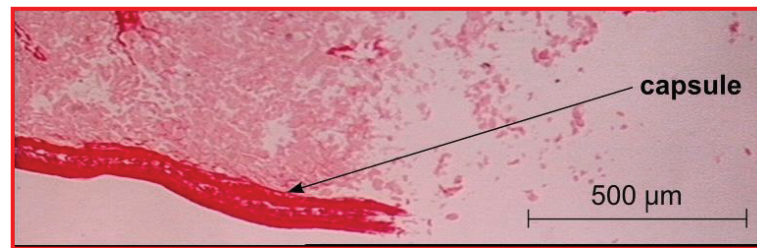
**Figure 1.3 :** Schéma de la vascularisation du foie. Illustration issue de Netter (Netter, 2010)

Les divers échanges ont lieu au niveau des cellules hépatiques, les hépatocytes, qui sont organisées sous forme de lobules hépatiques (figure 1.4) autour des veines centrolobulaires du foie. Ces lobules étroitement liés les uns aux autres sont délimités par un tissu conjonctif qui définit l'espace porte où les vaisseaux vont pouvoir transporter les différents fluides.



**Figure 1.4 :** Unité fonctionnelle du foie montrant l'organisation des hépatocytes en lobules autour des veines centrolobulaires et juxtaposés aux espaces portes. Illustration d'après Netter (Netter, 2010).

A l'échelle macroscopique, ces lobules de quelques mm de diamètre ne se distinguent pas des capillaires qui sont étroitement liée au reste de la structure. Le tout forme ainsi une chair appelé parenchyme hépatique. Ce parenchyme est englobé dans une membrane fibreuse de quelques dizaines de microns d'épaisseur à laquelle il adhère, appelée capsule de Glisson, qui recouvre la totalité du foie (figure 1.5).



**Figure 1.5 :** Coupe histologique de tissu hépatique humain montrant la capsule de Glisson adhérant au parenchyme hépatique. Image issue de travaux réalisés au LBMC.

## 1.2.2 La capsule de Glisson

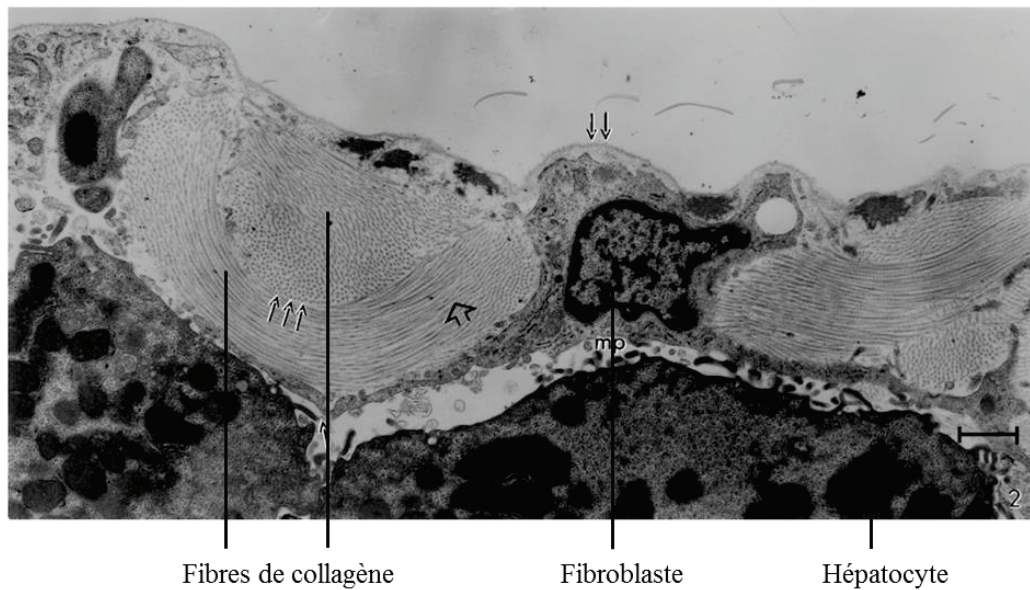
La capsule de Glisson, ou capsule hépatique, est un tissu conjonctif fibreux englobant le foie qui lui assure sa cohérence. En effet, la proportion importante de tissus vasculaires et de sinusoides dans le parenchyme hépatique rend cet ensemble relativement fragile et incohérent. C'est donc la capsule de Glisson qui assure l'intégrité de l'organe en empêchant le désagrègement des cellules hépatiques (Chapman and Eagles, 2007). Elle doit son nom au médecin britannique Francis Glisson, qui en donna le premier une description exhaustive dans son *Anatomia Hepatis* publié en 1654.

La capsule de Glisson est étroitement attachée au parenchyme hépatique auquel elle adhère plus ou moins suivant la localisation, mais reste toutefois clairement dissociable de celui-ci chez l'humain. D'un point de vue structurel, elle rigidifie l'ensemble du foie – si on considère la comparaison entre les propriétés mécaniques de la capsule et du parenchyme (Brunon et al., 2010; Hollenstein et al., 2006), et a donc un impact déterminant sur le comportement mécanique de cet organe.

D'un point de vue microscopique, la capsule de Glisson est composée de fibres de collagène de type I et III principalement (ainsi que de type IV localement) (Gelse et al., 2003; Voss et al., 1980) et de fibres d'élastine. Ces deux réseaux de fibres distincts sont étroitement entremêlés et déterminent la réponse du tissu à un chargement mécanique qui présente un comportement non linéaire de type hyperélastique. Ces différentes fibres possèdent leurs caractéristiques propres et sont nettement distinguables, puisque les fibres de collagène de la capsule humaine présentent un diamètre variant de 2 à 10  $\mu\text{m}$ , alors que les fibres d'élastine apparaissent beaucoup plus petites, avec un diamètre moyen variant entre 0.2 et 0.8  $\mu\text{m}$ .

Très peu de travaux portent sur la description de la microstructure de cette membrane fibreuse. Chapman et Eagles (Chapman and Eagles, 2007) y consacrent une étude en proposant une analyse structurale de la capsule de Glisson issue de rat, de singe et de carpe, observée par microscopie électronique en transmission (figure 1.6). Ils donnent alors des informations histologiques sur la composition de ces trois types de capsule, en soulignant les différences existantes entre elles. A notre connaissance, la description exhaustive de la composition 3D de la microstructure de la capsule de Glisson humaine n'a pas été encore reportée dans la littérature.





**Figure 1.6 :** Capsule de Glisson de rat observée par microscopie électronique en transmission. Image issue de Chapman et Eagles (Chapman and Eagles, 2007)

### 1.2.3 Comportement mécanique macroscopique

Beaucoup d'études portent sur la caractérisation des propriétés mécaniques du foie à l'échelle macroscopique. Notamment, des essais non lésionnels par indentation (Carter et al., 2001), aspiration (Mazza et al., 2007) ou élastographie (Klatt et al., 2006) ont permis d'obtenir des paramètres mécaniques permettant l'identification de modèles de comportement plus ou moins sophistiqués des tissus. Hollenstein et Mazza (Hollenstein and Mazza, 2012) reprennent le protocole d'aspiration de Mazza *et al.* (Mazza et al., 2007) et identifient les propriétés mécaniques du parenchyme de foie humain in-vivo via une méthode inverse. D'autre part, des essais lésionnels ont été développés pour acquérir des connaissances sur le processus de rupture des tissus hépatiques et notamment de la capsule. Des essais de compression sur foies entiers (Sparks, 2007), ou d'impact (Lau et al., 1987) permettent d'observer le phénomène de lacérations superficielles. Mays (Mays, 1966) réalise des essais d'impact afin de reproduire des ruptures vasculaires profondes. Il met en évidence la nécessité de perfuser les organes et de les soumettre à des chocs à très haut niveau d'énergie pour permettre de léser la structure vasculaire interne, au-delà de l'obtention d'une simple lacération superficielle.

Parallèlement à ces études, des essais sur échantillons isolés ont été menés afin de décrire un comportement moins global de l'organe, pour se focaliser d'avantage sur la caractérisation des tissus, en s'affranchissant des effets de structure. Ainsi, un essai de gonflement de la capsule développé par Brunon (Brunon et al., 2011), ainsi qu'un essai de traction sur capsule de foie mené par Umale (Umale et al., 2011) ont permis de déterminer les paramètres mécaniques à rupture de cette membrane. Hollenstein *et al.* (Hollenstein et al., 2006) conduisent aussi des essais de traction uniaxiale sur capsule de foie bovin, parallèlement à des tests d'aspiration sur échantillons de parenchyme + capsule et parenchyme seul, et mettent en évidence le rôle important de la capsule de foie dans les propriétés mécaniques de l'organe. Ces essais de traction, réalisés parallèlement à des essais de gonflement de capsule (Hollenstein and Mazza, 2012), leur permettent de construire un modèle numérique de la capsule de foie, nécessaire à l'identification du comportement du parenchyme par les essais d'aspiration in-vivo (Hollenstein and Mazza, 2012).

Des essais sur échantillons de parenchyme hépatique sont également largement reportés dans la littérature, et décrivent le comportement visco-élastique non linéaire de ce matériau. Outre la caractérisation du comportement, Dan (Dan, 1999), via des essais de compression sur échantillons de parenchyme hépatique humain, met en avant la forte variabilité des propriétés mécaniques des échantillons en fonction de leur localisation au sein d'un même foie. Elle constate d'ailleurs que cette variabilité inter-échantillon est supérieure à celle inter-individu. Gao et Desai (Gao and Desai, 2010) mènent des essais de traction uniaxiale sur du parenchyme hépatique porcine dont ils déterminent les propriétés mécaniques en se focalisant notamment sur la détermination de l'état de déformation nulle. Des essais de compression sur parenchyme hépatique perfusés ont également été réalisés dans le but de développer des modèles porohyperviscoélastiques permettant d'améliorer la compréhension des écoulements de fluide dans les organes pleins (Moran et al., 2012).

Cependant, l'étude des mécanismes de rupture, notamment de la capsule de foie est encore peu présente dans la littérature. De plus, tous ces essais se situent à l'échelle macroscopique, sans considération apportée aux changements s'opérant au niveau de la microstructure, lors d'une sollicitation mécanique.

Hollenstein et Mazza (Hollenstein and Mazza, 2012) proposent une analyse histopathologique de biopsies réalisées après les essais mécaniques pour intégrer des considérations relatives à la microstructure (notamment pour les tumeurs), mais la répercussion du chargement mécanique sur la microstructure au cours des essais n'est pas évaluée. Chapman et Eagles (Chapman and Eagles, 2007), dans leur analyse de la microstructure de la capsule de Glisson du rat, du singe et de la carpe via l'utilisation de la microscopie électronique en transmission (TEM), ne s'intéressent pas aux propriétés mécaniques de la membrane, et n'envisagent donc pas le couplage de l'observation avec des essais mécaniques.

## 1.3 Caractérisation des tissus conjonctifs fibreux

### 1.3.1 Comportement mécanique lié aux fibres

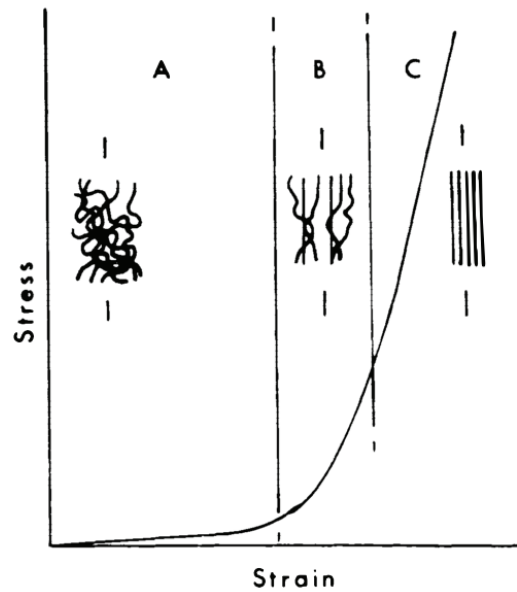
Comme pour la plupart des solides, les propriétés mécaniques des tissus fibreux sont intrinsèquement liées à la composition et l'organisation de leur microstructure. Afin d'assurer les fonctions spécifiques de chaque tissu, la matrice extracellulaire (ECM) est structurée et construite par les cellules de manière à respecter les contraintes physiologiques que va subir ce tissu pendant sa durée de vie. L'ECM est donc constituée de protéines fibreuses que sont le collagène et l'élastine liées entre elles par du protéoglycane, des glycoprotéines et de l'eau.

L'organisation particulière des fibres va conditionner la raideur et la fonctionnalité des tissus dans la mesure où les fibres de collagène et d'élastine vont être principalement responsables respectivement de la résistance aux charges et du maintien de la forme. Les fibres de collagène, de diamètre et longueur en moyenne supérieurs aux fibres d'élastine, vont assurer la raideur du tissu, lorsqu'elles sont recrutées, pour supporter la charge aux grandes déformations. Les fibres d'élastine, quant à elles, vont assurer l'élasticité du tissu aux petites déformations (Roach and Burton, 1957; Tower et al., 2002; Weisbecker et al., 2013).

Des changements de la microstructure peuvent ainsi influencer grandement les propriétés mécaniques du tissu, et par conséquent les fonctions biologiques mêmes, en affectant l'environnement cellulaire, entraînant ainsi des dysfonctionnements du tissu ou des pathologies (Engler et al., 2006; Koch et al., 2014; Pizzo et al., 2005; Robertson et al., 2012).

Les tissus fibreux présentent un comportement mécanique caractéristique lorsqu'ils sont soumis à de la traction uniaxiale, qui découle directement de l'organisation du réseau de fibre. Usuellement, lors d'un essai de traction uniaxiale, on observe différentes zones sur la courbe contrainte/déformation, qui correspondent à différents mécanismes cinématiques des fibres de collagène (Daly, 1982; Tower et al., 2002). Ce comportement typique est résumé schématiquement sur la figure 1.7.

Aux faibles déformations (zone A), une zone palier (« toe-region ») apparaît où le comportement est linéaire et la contrainte limitée. Ce palier, plus ou moins large, est dû à l'organisation initiale tortueuse des fibres qui ne sont pas alignées dans la direction de traction, et donc pas recrutées pour participer à la réponse mécanique du tissu. Puis on observe un fort raidissement de la structure aux grandes déformations (zone C), où le comportement est lui aussi plus ou moins linéaire. Dans cette zone, les fibres de collagène sont dépliées et réorientées dans la direction de traction, elles participent donc activement à la réponse mécanique du tissu en lui conférant une raideur importante. Entre ces deux zones, une zone de transition (zone B) de largeur variable apparaît, durant laquelle s'effectue le changement de raideur. Cette transition correspond au dépliement et à la réorientation des fibres, qui vont progressivement être recrutées pour résister à la charge mécanique imposée.



**Figure 1.7 :** Courbe contrainte/déformation typique de traction uniaxiale pour un tissu conjonctif lâche. L'organisation des fibres de collagène diffère selon la zone considérée. Illustration issue de Daly (Daly, 1982).

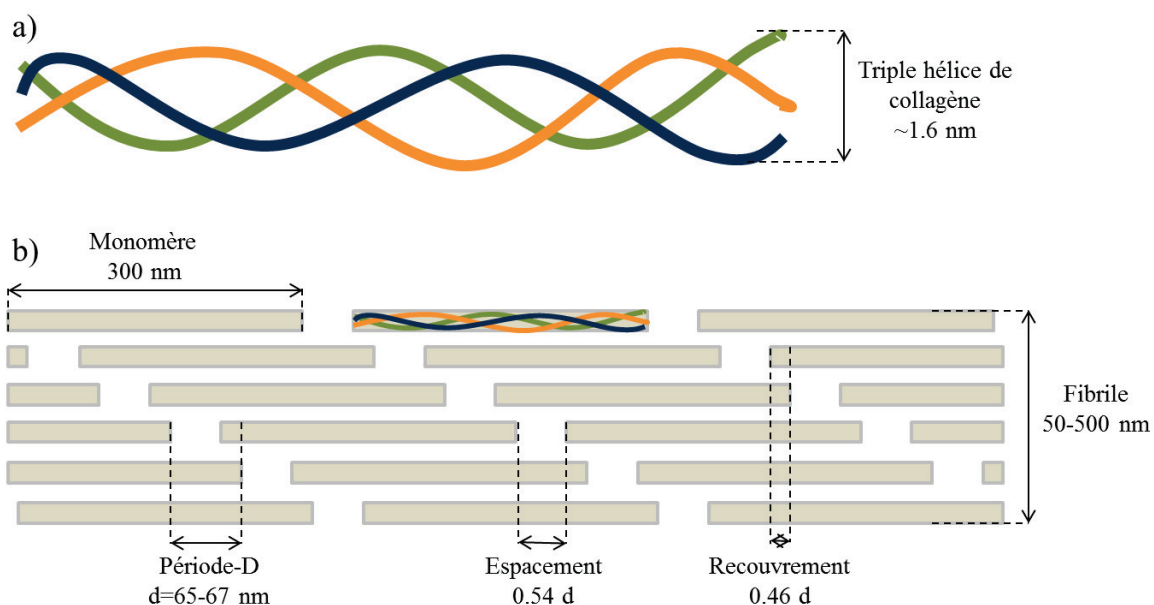
## 1.3.2 Fibres de collagène et d'élastine

### 1.3.2.1 Le collagène

Le collagène présent dans la capsule de Glisson est principalement de type I (Gelse et al., 2003) qui possède la capacité de polymériser et ainsi de créer des structures 3D complexes. C'est la distribution des caractéristiques de ces fibres de collagène (longueur, diamètre, orientation...) qui détermine majoritairement les propriétés mécaniques observées à l'échelle macroscopique (Roeder et al., 2002).

Le comportement des fibres de collagène soumis à des chargements (principalement en traction) est très documenté dans la littérature, notamment au travers de nombreuses études portant sur le tendon, qui est majoritairement composé de collagène de type I. Ce collagène a une structure hiérarchique comme le montre la figure 1.8. Les molécules de collagène s'assemblent autour d'un axe commun pour former de longues fibrilles de 10 à 500 nm de diamètre, pour une longueur allant de 1 à plusieurs centaines de  $\mu\text{m}$  en fonction du tissu considéré (Gelse et al., 2003; Hulmes et al., 1995; Poissant and Barthelat, 2012). A cette échelle, les liaisons entre molécules sont assurées par des « crosslinks » entre résidus de lysine (Fratzl et al., 1998; Screen et al., 2004). Ces fibrilles s'assemblent ensuite en fibres, elles-mêmes se regroupant en faisceaux qui forment alors les tissus et leur confèrent des propriétés mécaniques particulières. Une matrice non-collagèneuse est alors responsable de la cohésion des fibres et faisceaux à cette échelle. L'arrangement des fibrilles pour former les fibres de collagène peut se faire suivant deux configurations : une juxtaposition parallèle des fibrilles conférant ainsi à la fibre une forte résistance aux charges axiales, et qu'on retrouve principalement dans les structures très orientées comme les tendons, ligaments ou os. Le second

arrangement prend la forme d'une intrication hélicoïdale des fibrilles, formant ainsi des fibres résistantes aux chargements multiaxiaux que l'on retrouve dans des tissus comme la peau ou les vaisseaux sanguins (Ottani et al., 2001).



**Figure 1.8 :** a) Tropocollagène, molécule de collagène présentant la triple hélice. b) Formation d'une fibrille de collagène présentant une construction périodique à partir des molécules de collagène (monomère). Adapté de Sherman *et al.* (Sherman et al., 2015).

Sasaki et Odajima (Sasaki and Odajima, 1995) ont travaillé sur la caractérisation du tendon à différentes échelles, à savoir celle de la molécule de collagène, de la fibrille de collagène et enfin de la fibre. Par des mesures de diffraction de rayons X, ils identifient la contribution à la déformation globale, de chaque mode d'élongation et de réarrangement des fibres, proposés dans le modèle de Hodge-Petruska 1962. Ils concluent que la structure macroscopique qu'est la fibre de collagène présente une rigidité moindre que la molécule qui la compose, et démontrent ainsi que la déformation d'une fibre prend déjà en compte un réarrangement/glissement de molécules. Screen et al. (Screen and Evans, 2009; Screen, 2008; Screen et al., 2004) parviennent à des conclusions similaires suite à des essais de traction sur tendon en utilisant la microscopie confocale pour imager et calculer la déformation au cours du chargement. Ces essais mettent en évidence que l'extension du tendon provient de deux mécanismes différents : l'extension des fibres de collagène (qui n'est pas majoritairement importante) et le glissement. Le glissement peut apparaître alors à toutes les échelles (fibre, fibrille, molécule) mais il est le plus important à l'échelle où le lien est le moins fort, *i.e.* à l'échelle des faisceaux de fibres qui sont liés par des ponts de protéoglycane et non à l'échelle moléculaire où les liaisons covalentes sont plus fortes (Screen et al., 2004).



De nombreuses études ont également porté sur la caractérisation mécanique de fibres de collagène isolées. Des essais de traction uniaxiale sur fibre de collagène individuelle ont pu être réalisés suite aux développements de techniques par AFM et MEMS (Liu et al., 2006; Poissant and Barthelat, 2012), permettant ainsi d'accéder aux propriétés mécaniques d'une fibre seule, et notamment à son module d'Young. Le tableau 1.3 regroupe des données reportées dans la littérature sur les propriétés des fibres de collagène et rassemblées par Susilo *et al.* (Susilo et al., 2010). Loin d'être un inventaire exhaustif de toutes les études portant sur le sujet, il permet néanmoins de constater qu'une grande variation existe dans les propriétés mécaniques des fibres étudiées, qui dépendent grandement de leurs paramètres géométriques ainsi que de leur origine biologique. Mis à part le biais expérimental qui peut exister dû à la complexité de travailler sur des structures à l'échelle microscopique, cette dispersion des valeurs de module met en évidence le fait que la fonction des tissus crée la propriété, et donc que les fibres de collagène, omniprésentes dans les tissus biologiques, ont un comportement mécanique très différent suivant leurs localisations et leurs fonctions.

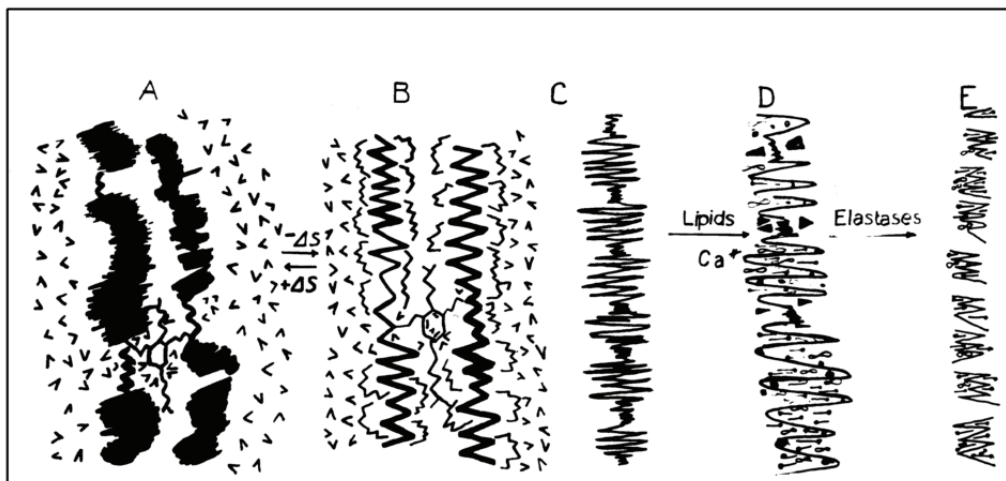
Réf	Origine	Module	Diamètre	Longueur	Vitesse de chargement
(Susilo et al., 2010)	Type I, peau de veau	$1.62 \pm 0.88$ MPa	392-490 nm	-	4%/min
(Graham et al., 2004)	Type I, derme humain	32 MPa	10-30 nm	1 $\mu$ m	-
(Pins et al., 1997)	Type I, tendon de queue de rat	1.819-45.97 MPa	147.2-327.1 $\mu$ m	2 cm	50%/min
(Miyazaki and Hayashi, 1999)	Tendon de lapin	$54.3 \pm 25.1$ MPa	1 $\mu$ m	300-500 $\mu$ m	3 $\mu$ m/s
(Gentleman et al., 2003)	Type I, tendon d'Achille de bovin	$269.7 \pm 11.9$ MPa	158 $\mu$ m	7.6 cm	12.7 cm/min
		$359.6 \pm 28.4$ MPa	125 $\mu$ m	7.6 cm	
		$359.6 \pm 28.4$ MPa	59 $\mu$ m	7.6 cm	
(van der Rijt et al., 2006)	Type I, tendon d'Achille de bovin	250-450 MPa	50-100 nm	-	4.6 $\mu$ m/s
(Pins et al., 1997)	Type I, tendon de queue de rat	383.0-766.5 MPa	383.0-766.5 $\mu$ m	2 cm	50%/min
(Kato et al., 1989)	Type I, tendon de queue de rat	478-570 MPa	50 $\mu$ m	3-4 cm	10-100%/min
(Gentleman et al., 2003)	Type I, tendon de queue de rat	$1174.9 \pm 283.3$ MPa	271 $\mu$ m	7.6 cm	12.7 cm/min
(Poissant and Barthelat, 2012)	Type I, écaille de poisson	1.20 GPa	1.4 $\mu$ m	22.5 $\mu$ m	0.67 $\mu$ m/s
(Svensson et al., 2010)	Type I, ligament patellaire humain	2.9 GPa	$122 \pm 22$ nm	$192.8 \pm 6$ $\mu$ m	9.81-314 $\mu$ m/s
(Liu et al., 2006)	Type I, peau d'holothurie	0.4-12.2 GPa	340 – 950 nm	5-20 $\mu$ m	-
(Wenger et al., 2007)	Type I, tendon de queue de rat	3.7-11.5 GPa	50-100 nm	-	-
(van der Rijt et al., 2006)	Type I, tendon d'Achille de bovin	$5 \pm 2$ GPa	~200 nm	100-200 $\mu$ m	4.6 $\mu$ m/s

**Tableau 1.3 :** Propriétés mécaniques des fibres de collagène isolées reportées dans la littérature. Adapté de Susilo *et al.* (Susilo et al., 2010)

### 1.3.2.2 L'élastine

L'élastine quant à elle est une protéine composant à 90% les fibres élastiques présentes dans la matrice extracellulaire et responsable de l'élasticité des tissus. Comme évoqué précédemment, les fibres d'élastine sont notamment responsables du comportement compliant des tissus fibreux aux faibles déformations (Roach and Burton, 1957; Weisbecker et al., 2013), ainsi que du maintien de la forme globale des tissus, notamment en ce qui concerne les vaisseaux sanguins (Dobrin et al., 1984).

Son élasticité provient de considérations entropiques via les changements de structure et d'état cristallin de l'eau durant l'élongation et la relaxation des fibres d'élastine (Robert and Robert, 1980; Robert, 2002). La figure 1.9, issue de Robert (Robert, 2002) illustre ce mécanisme entropique.



**Figure 1.9 :** Nature entropique de l'élasticité de l'élastine. Au repos (A et C), l'eau n'étant pas dans un état cristallin très organisé, l'entropie du système augmente. Lors du processus d'élongation, la structure de l'eau s'organise et l'entropie du système diminue (B), incitant donc au retour du système aux états A et C d'entropie plus importante. La saturation de l'élastine en lipide et en calcium qui intervient avec le vieillissement (D) empêche ces variations d'entropie et contribue à la perte d'élasticité de l'élastine et facilite sa dégradation (E). Illustration issue de Robert (Robert, 2002)

Comparativement aux fibres de collagène, les fibres d'élastine vieillissent très mal, dans la mesure où l'organisme ne synthétise plus (ou presque) d'élastine après la puberté. Les fibres se désagrègent donc avec le temps, provoquant un endommagement des tissus qui se reporte progressivement sur le réseau de fibre de collagène, provoquant ainsi la rigidification des tissus (Robertson et al., 2012). Ce mécanisme de vieillissement provient de la saturation progressive des fibres d'élastine en lipide et calcium qui, à terme, leur font perdre leur élasticité (Robert and Robert, 1980; Robert, 2002).

### 1.3.3 Essais mécaniques couplés à l'observation microstructurale

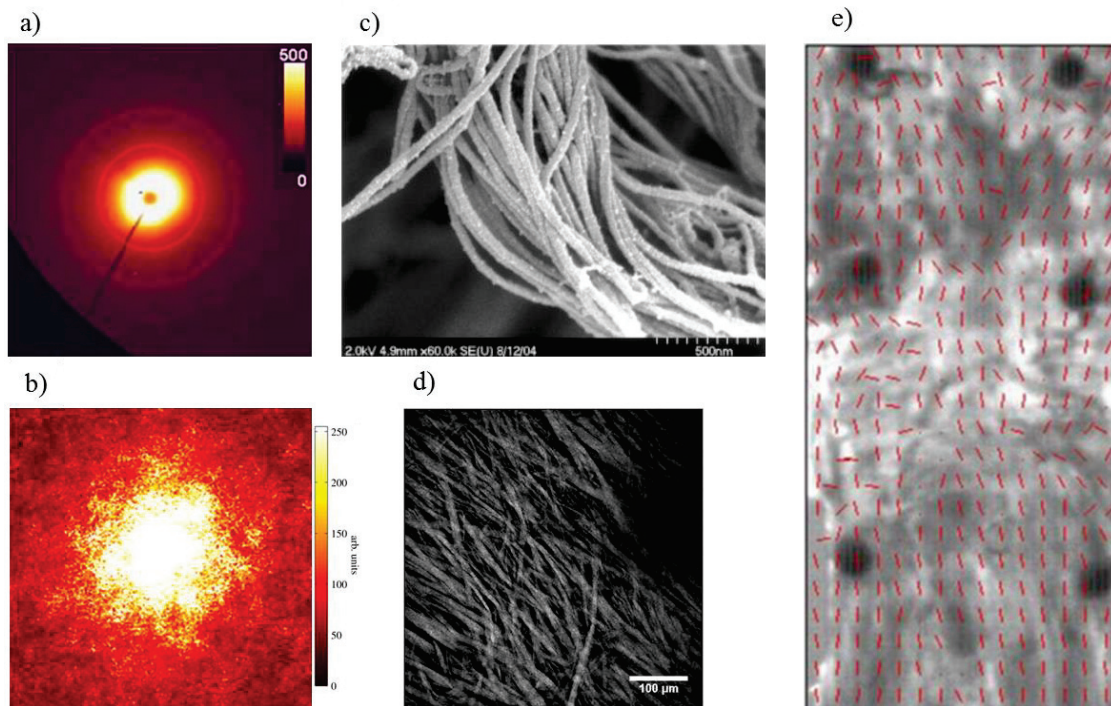
Si les propriétés mécaniques macroscopiques des tissus commencent à être bien connues et documentées dans la littérature, comme évoqué précédemment, il y a une nettement moindre compréhension de la micromécanique de ces tissus, et notamment de la façon dont les structures fibreuses composites réagissent aux charges pour aboutir au comportement mécanique observable macroscopiquement. Lors de ses essais sur péricarde bovin, Sacks (Sacks, 2003) met en évidence le fait que la variabilité des propriétés mécaniques et des comportements inter-échantillons provient essentiellement de variations structurales. Il souligne ainsi le rôle clé que joue l'organisation microstructurale des tissus dans l'établissement des propriétés mécaniques, et que la structure détermine essentiellement le comportement du tissu.

Plusieurs études ont déjà été menées dans le but d'observer l'évolution de la microstructure de tissus fibreux au cours d'un chargement en utilisant des techniques d'imagerie variées. Ces études répondent à des problématiques fondamentales sur la caractérisation des tissus et fournissent de précieux détails sur l'état de l'environnement cellulaire. Les études évoquées précédemment sur l'étude du tendon et notamment les travaux menés par Screen *et al.* (Screen and Evans, 2009; Screen, 2008; Screen et al., 2004) en sont un exemple puisqu'elles ont permis d'identifier les mécanismes microscopiques responsables de l'élongation des tendons, et notamment mis en évidence les phénomènes de glissement interfibrillaires dans ces structures.

Le couplage des essais mécaniques à des techniques d'imagerie microscopique, nécessaire à l'identification du lien entre le comportement mécanique et la microstructure peut s'avérer délicat d'un point de vue expérimental. Des essais de traction uniaxiale et biaxiale sont souvent implémentés en association avec l'imagerie de la microstructure. Les moyens d'imagerie utilisés, pour extraire des paramètres structuraux pertinents, diffèrent et dépendent des tissus considérés, ainsi que des applications recherchées. Goulam Houssen et al. (Goulam Houssen et al., 2011) par exemple, observent le comportement des fibres de collagène présentes dans les tendons de queues de rats soumis à un test de traction uniaxiale, grâce à la microscopie par génération de seconde harmonique (SHG). Ils parviennent à imager la microstructure en continue durant le chargement afin d'identifier les mécanismes d'élongation de leur structure, et ainsi mettre en relation les événements à l'échelle de la microstructure avec le comportement mécanique macroscopique. Les rayons X sont aussi utilisés (Liao et al., 2005; Purslow et al., 1998; Sasaki and Odajima, 1995) notamment par Liao *et al.* pour observer le réalignement de fibres de collagène issues de péricarde bovin, et soumis à une sollicitation en traction bi-axiale. Brown (Brown, 1973) examine des échantillons de peau préalablement étirés lors de tests de traction uniaxiale par microscopie électronique à balayage. Billiar et Sacks (Billiar and Sacks, 1997) mettent quant à eux au point des essais de traction biaxiale couplés à l'évaluation de l'orientation des fibres de collagène dans du péricarde bovin et des valves aortiques, grâce à la Small Angle Light Scattering (SALS). Joyce (Joyce, 2009) reprend cette technique afin d'évaluer les propriétés micromécaniques de la membrane fœtale, et notamment d'étudier le phénomène de rupture, à l'échelle des fibres, lorsqu'elle est soumise à un chargement en gonflement. Elle met alors en évidence le caractère catastrophique de la rupture de ces tissus qui survient de manière soudaine systématiquement, ainsi que la prédominance d'un phénomène de déplissement des fibres plutôt que de réorientation.

D'autres études utilisent la microscopie par fluorescence au travers de microscopes confocaux et/ou multiphotoniques pour acquérir ces mêmes informations sur les fibres de collagène et d'élastine, soumises à des chargements en traction, ou de mise sous pression (Briones et al., 2003; Keyes et al., 2013; Rubbens et al., 2009; Screen, 2008; Zoumi et al., 2004). Keyes *et al.* (Keyes et al., 2013, 2011) par exemple développent un montage de traction biaxiale convertible en montage de mise sous pression d'échantillons tubulaires sous microscope confocal multiphotonique, pour étudier la microstructure des tissus vasculaires et notamment des artères coronaires porcines et aortes de souris. Leur expérience leur permet d'étudier les transports de fluides dans les vaisseaux, et de mettre en évidence les variations de raideur et de perméabilité en fonction de l'emplacement sur l'artère. Ils concluent également que le chargement mécanique influe sur la porosité des tissus. Mauri *et al.* (Mauri et al., 2013, 2015a, 2015b) conduisent une série d'essais mécaniques, également couplés à l'imagerie par microscopie confocale multiphotonique, afin d'identifier le comportement de la membrane fœtale, pour expliquer et prédire le risque de rupture prématurée de ce tissu fibreux. La déformation et la cinématique des fibres de collagène sont alors évaluées en imageant les fibres par SHG, lorsqu'elles sont soumises à de la traction uniaxiale.

La littérature reporte donc de nombreux essais mécaniques couplés à l'observation microstructurale, où le comportement des fibres est soigneusement étudié. Parmi ces études de nombreuses techniques d'imagerie sont utilisées suivant les applications. La figure 1.10 montre différents exemples de techniques d'imagerie utilisées pour observer des fibres de collagène. On peut cependant remarquer que la microscopie confocale multiphotonique est très fréquemment employée lorsqu'il s'agit d'observer les fibres de collagène et d'élastine, en raison de ses nombreux avantages.



**Figure 1.10 :** Collagène de type I observé via différentes techniques d'imagerie. a) Péricarde bovin observé par rayons X, image extraite de Liao *et al.* (Liao et al., 2005). b) Cornée bovine observée par Small Angle Light Scattering (SALS), image extraite de Robitaille *et al.* (Robitaille et al., 2011). c) Membrane fœtale humaine observée par microscope électronique à balayage, image extraite de Oyen *et al.* (Oyen et al., 2005). d) Capsule de foie humaine observée par microscopie confocale multiphotonique sur le signal de SHG (source : LBMC). e) Tendon supraspinatus humain observé par lumière polarisée, image extraite de Lake *et al.* (Lake et al., 2009).

### 1.3.4 Microscopie confocale multiphotonique

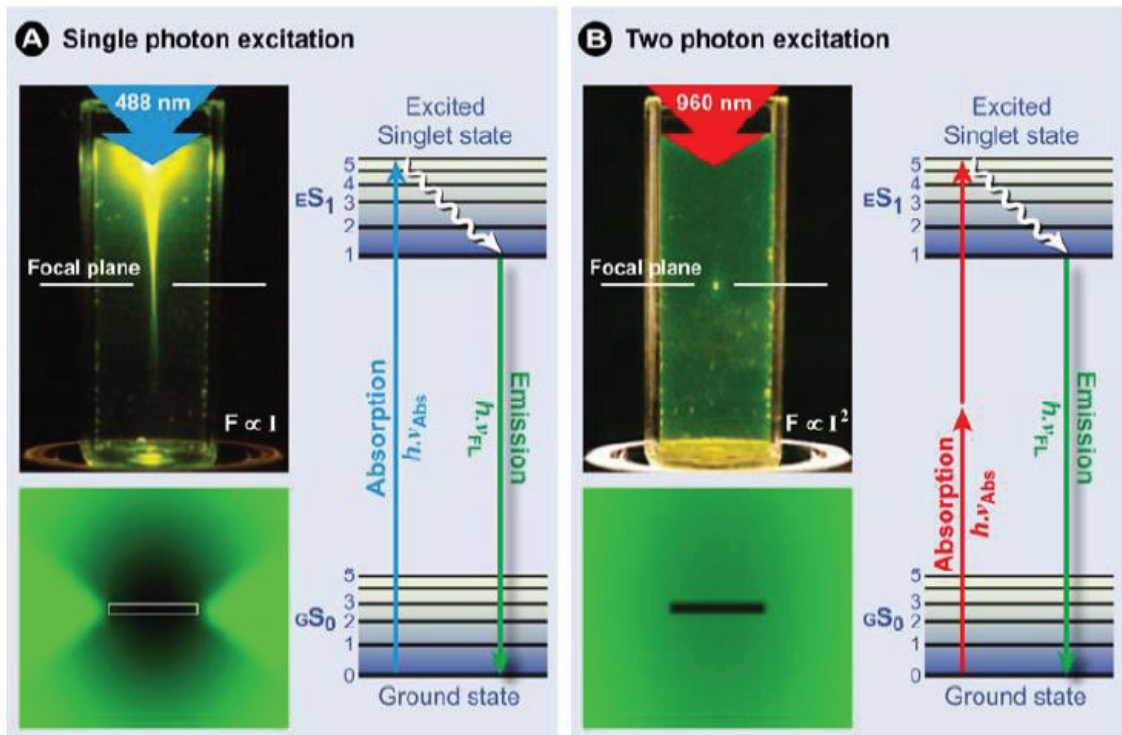
#### 1.3.4.1 *Excitation multiphotonique*

La microscopie confocale multiphotonique est une méthode d'imagerie privilégiée lorsqu'il s'agit d'imager des tissus biologiques fibreux dans la mesure où elle combine deux modes d'imagerie : la microscopie par fluorescence, et la génération de seconde harmonique. Il est donc possible avec le même microscope confocal et la même excitation laser, d'observer des structures différentes. Le microscope confocal permet en outre d'observer l'intérieur des tissus à différents niveaux de profondeur et ainsi d'obtenir une vue 3D de la microstructure.

L'utilisation d'une source laser multiphoton présente de nombreux avantages par rapport à un microscope confocal à excitation laser classique à un photon. L'émergence de la microscopie confocale biphotonique (à deux photons) a notamment été permise par la mise au point de lasers pulsés, permettant d'émettre quasi simultanément deux photons de longueur d'onde équivalentes, qui vont interagir avec la matière au même moment. Ces lasers vont donc permettre d'utiliser des longueurs d'onde d'excitation plus importantes, typiquement celle des infra-rouges à 800-1000 nm, pour obtenir la même énergie d'excitation que les lasers à un photon utilisant les longueurs d'onde ultra-violet. Ainsi, l'excitation multiphoton permet une meilleure pénétration du faisceau laser dans les tissus, dans la mesure où les infra-rouges sont globalement moins diffusés par les tissus biologiques. On peut alors imager des couches plus profondes dans l'échantillon.

Parallèlement à cet avantage permettant d'imager des tissus plus épais, l'excitation biphotonique induit également une meilleure résolution spatiale dans la mesure où le volume focal est confiné dans un espace très limité, qui correspond à l'endroit où les deux photons vont se rencontrer pour exciter la matière (figure 1.11). En effet la probabilité d'absorption simultanée de deux photons par la matière en dehors du volume focal est très faible. Le rapport signal/bruit s'en trouve donc drastiquement augmenté lorsqu'on image dans la profondeur puisque, contrairement à l'excitation à un photon, il n'est plus question d'exciter tout le trajet d'illumination, et que donc la source de bruit provenant de la matière hors focus est ainsi réduite. De plus, cette restriction du volume focal permet de diminuer l'endommagement du tissu provoqué par l'exposition au laser (comme le photoblanchiment, la libération de radicaux libres toxiques pour l'échantillon, etc) puisque seul le volume focal est concerné par l'excitation, et non toute l'épaisseur du trajet d'illumination comme c'est le cas dans l'excitation à un photon. Il est alors possible d'augmenter sensiblement les durées d'acquisition d'image, dans la mesure où la phototoxicité est réduite.

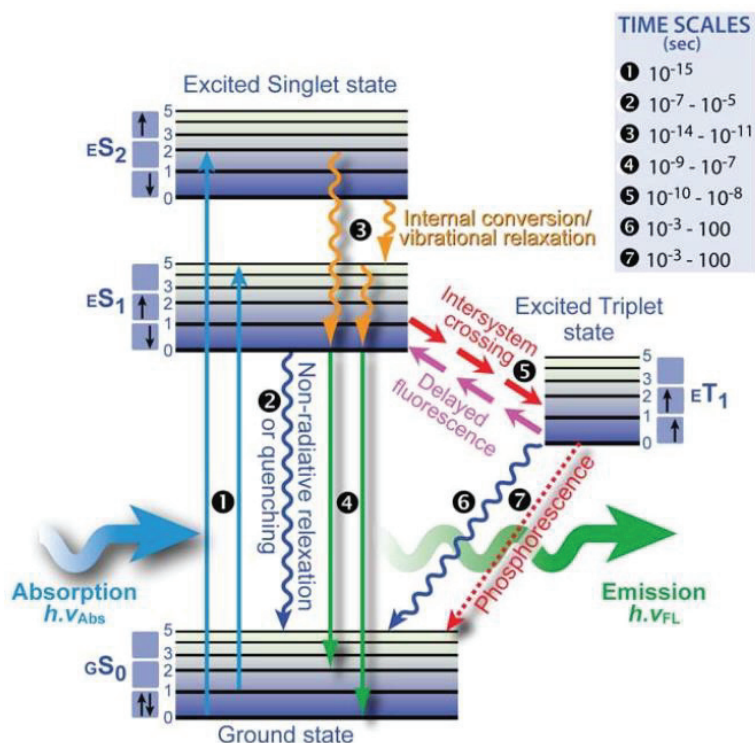




**Figure 1.11 :** Localisation du volume focal pour une excitation à un photon (a) et à deux photons (b). Pour une excitation à deux photons, le volume focal est confiné à un voxel très petit qu'on déplace dans le plan focal et dans l'épaisseur pour réaliser les images. Le rapport signal/bruit est très augmenté dans (b) dans la mesure où on excite plus toute la matière sur tout le trajet lumineux comme c'est le cas dans (a) et donc que le bruit provenant du signal hors plan focal est réduit. Illustration reprise d'Ishikawa-Ankerhold *et al.* (Ishikawa-Ankerhold *et al.*, 2012) issue de Zipfel *et al.* (Zipfel *et al.*, 2003)

#### 1.3.4.2 La fluorescence

La fluorescence provient de substances chimiques présentes dans les molécules appelées fluorophores ou fluorochromes. Lorsqu'on stimule un fluorophore avec une radiation électromagnétique dans son spectre d'excitation, il effectue une transition électronique de son état de repos à un état d'excitation. Après avoir séjourné dans son état d'excitation pendant un moment, l'électron retourne à son état de repos et le fluorophore dissipe l'excédent d'énergie en émettant un photon qui donne le signal de fluorescence. La figure 1.12 résume ce principe d'émission de photon via ces transitions entre états d'énergies électroniques.



**Figure 1.12** : Principe de fluorescence. Diagramme de Jablonski illustrant les transitions entre états électroniques durant la fluorescence : un électron dans un état au repos ( $GS_0$ ) est excité via l'absorption d'un photon (en bleu) et passe dans un état d'excitation plus élevé ( $ES_1$ ,  $ES_2$ ). Il perd alors rapidement de l'énergie pour passer dans un état excité plus faible (en orange) et retourne finalement à son état stable  $GS_0$  en émettant un photon de longueur d'onde plus importante (en vert). Les échelles de temps qualitatives des différentes transitions sont indiquées. Illustration issue de Ishikawa-Ankerhold *et al.* (Ishikawa-Ankerhold *et al.*, 2012).

La microscopie par fluorescence est très utilisée pour l'observation des tissus biologiques et notamment des tissus conjonctifs, puisque les fibres d'élastine et de collagène ont une propriété d'autofluorescence (ou fluorescence endogène), ce qui permet leur observation sans requérir à des techniques de marquages fluorescents spécifiques. En effet, le collagène et l'élastine possèdent plusieurs fluorophores chacun (Deyl *et al.*, 1980; Fujimori, 1985; Fujimoto *et al.*, 1977; Georgakoudi *et al.*, 2002) et donc autofluorescent. Pour le collagène, il semble qu'il s'agisse d'avantage des liaisons covalentes entre molécules qui fluorescent plutôt que les molécules de collagène elles-mêmes (Richards-Kortum and Sevick-Muraca, 1996).

Ces spectres d'émission endogène génèrent en général des signaux relativement faibles et non spécifiques, *i.e.* il est impossible de distinguer la provenance particulière de la fluorescence lorsque plusieurs fluorophores sont présents dans le milieu. C'est le cas pour la matrice extracellulaire, où les spectres d'émission endogène du collagène et de l'élastine se recouvrent de manière significative, empêchant ainsi la distinction des fibres pour une excitation commune (Richards-Kortum and Sevick-Muraca, 1996). L'imagerie du collagène par fluorescence nécessite donc souvent le recours à des techniques de marquage immunofluorescent où l'on



utilise des fluorophores exogènes qui se fixent au collagène et dont les spectres d'émission se distinguent de ceux des autres composants de la matrice extracellulaire. L'observation du collagène via son autofluorescence est d'autant plus délicate que l'autofluorescence de l'élastine et des autres composants de la matrice extracellulaire est globalement plus forte que celle du collagène (figure 1.13).

L'étude de la fluorescence des tissus, et notamment la caractérisation des spectres d'excitation et d'émission des différents matériaux biologiques se trouve être assez complexe dans la mesure où ces propriétés intrinsèques sont susceptibles de varier avec l'évolution de la composition des tissus. Par exemple, Blomfield et Farrar (Blomfield and Farrar, 1969) mettent notamment en évidence les changements qui interviennent dans le spectre d'émission de l'élastine avec l'âge.

### 1.3.4.3 Génération de seconde harmonique

Parallèlement à l'absorption de photons qui crée le signal de fluorescence, une molécule peut également diffuser instantanément deux photons incidents en un seul photon, à l'origine du signal de génération de seconde harmonique (SHG). L'énergie du photon émis se trouve alors être exactement le double de celle des photons incidents. L'absorption et la diffusion pouvant avoir lieu simultanément et indépendamment, il est alors possible de récupérer les deux signaux avec la même excitation. On peut alors, en s'arrangeant pour que l'énergie d'émission du photon par SHG soit distincte du spectre d'émission de fluorescence, distinguer les différents composants d'un matériau.

Pour qu'une molécule génère un signal de SHG, il faut que sa structure électronique ne présente pas de centre de symétrie. De plus, la SHG étant un phénomène cohérent, l'organisation spatiale de ces molécules doit également être asymétrique de manière à ce que les ondes harmoniques rayonnées par les différentes molécules interfèrent positivement et n'annulent pas le signal.

Le collagène possède une telle organisation moléculaire génératrice de secondes harmoniques (Campagnola et al., 2002; Goulam Houssen et al., 2011; Zoumi et al., 2002). Les mécanismes de génération d'un signal SHG par le collagène sont complexes et pas encore parfaitement élucidés. Bancelin (Bancelin, 2013) explicite ces mécanismes et donne une revue de littérature exhaustive sur les théories avancées. Il semble y avoir un consensus sur le fait que la SHG du collagène provient de son organisation moléculaire en triple hélice. Cependant, la variabilité des signaux SHG résultant des différents types de collagène indique que l'organisation spatiale relative des molécules de collagène influe grandement sur le signal SHG pouvant être émis par la structure (Strupler et al., 2007), comme le montre la figure 1.13.

Il est donc possible d'observer le collagène par microscopie multiphotonique à exactement la moitié de la longueur d'onde d'excitation. Ces propriétés permettent alors d'imager et de distinguer les fibres de collagène et d'élastine grâce aux microscopes biphotoniques, en séparant les canaux de SHG et de fluorescence. Certaines études utilisent cette propriété de la microscopie multiphotonique, en combinant SHG pour le collagène et autofluorescence pour l'élastine afin de pouvoir observer séparément chacun de ces composants de la matrice extracellulaire (Keyes et al., 2013; Zoumi et al., 2004, 2002).



## 1.4 Modèles analytiques constitutifs de tissus fibreux

### 1.4.1 Formalisme usuel

#### 1.4.1.1 Potentiel d'énergie de déformation

Il existe de nombreux modèles analytiques de tissus biologiques plan fibreux dans la littérature, dont beaucoup sont basés sur la théorie développée dans le modèle de Lanir (Lanir, 1983), où il fait l'hypothèse que l'énergie de déformation totale du tissu correspond à la somme de l'énergie de déformation de chaque fibre individuelle. Sous l'hypothèse de transformation affine, la déformation locale des fibres est alors considérée comme égale à la transformation tensorielle des déformations du tissu globale. Il décrit alors le premier modèle tridimensionnel de la microstructure d'un tissu composé de fibres incluant directement les orientations des fibres comme paramètres du modèle.

Depuis, de nombreuses études ont fait évoluer ce formalisme en intégrant de plus en plus de considérations structurelles, pour prendre notamment en compte l'anisotropie des tissus due à d'éventuelles orientations privilégiées des fibres. Ces modèles reposent sur la méthode de superposition pour modéliser les matériaux composites constitués de plusieurs familles de fibres. Le potentiel d'énergie de déformation élastique est obtenu par la somme d'un terme isotrope représentant la matrice et des termes anisotropes représentant chacun une famille de fibres (Chuong and Fung, 1983). On a alors :

$$\Psi = \Psi_m + \Psi_f \quad (1.1)$$

Différentes formes d'énergie de déformation sont alors proposées pour modéliser le comportement hyperélastique des tissus. On retrouve souvent le choix d'un modèle néo-Hookéen pour modéliser la matrice entourant les fibres de collagène  $\Psi_m$  (et donc comprenant l'élastine responsable de l'élasticité des tissus). Pour la contribution des fibres, plusieurs modèles ont été proposés, dont certains sont présentés ci-dessous :

$$\text{- (Chuong and Fung, 1983) : } \quad \Psi_f = \frac{1}{2} c [\exp(Q) - 1] \quad (1.2)$$

où  $c$  est un paramètre matériau et  $Q$  dépend de paramètres matériaux  $b_i$  et des composantes du tenseur des déformations de Green-Lagrange  $E_{ij}$ , donné par :

$$Q = b_1 E_{\theta\theta}^2 + b_2 E_{ZZ}^2 + b_3 E_{RR}^2 + 2b_4 E_{\theta\theta}E_{ZZ} + 2b_5 E_{RR}E_{ZZ} + 2b_6 E_{\theta\theta}E_{RR} + b_7 E_{\theta Z}^2 + b_8 E_{RZ}^2 + b_9 E_{R\theta}^2 \quad (1.3)$$

- (Takamizawa and Hayashi, 1987) :  $\Psi_f = -c \ln(1 - \psi)$  (1.4)

avec 
$$\psi = \frac{1}{2} b_1 E_{\theta\theta}^2 + \frac{1}{2} b_2 E_{ZZ}^2 + b_4 E_{\theta\theta} E_{ZZ}$$
 (1.5)

où les  $b_i$  sont des paramètres matériaux et les  $E_{ij}$  sont les composantes du tenseur de déformation de Green-Lagrange.

- (Holzapfel et al., 2000) : 
$$\Psi_f = \frac{k_1}{2k_2} \sum_{i=4,6} \{\exp[k_2 (I_i - 1)^2] - 1\}$$
 (1.6)

avec  $k_1$  et  $k_2$  des paramètres strictement positifs à déterminer à partir de la réponse contrainte-élongation du matériau.  $I_4$  et  $I_6$  sont les pseudo-invariants du système de tenseurs composé par  $C$  (le tenseur des déformations de Cauchy-Green droit),  $A_1$  et  $A_2$  (qui correspondent à des tenseurs directionnels associés aux deux directions principales  $\mathbf{a}_1$  et  $\mathbf{a}_2$  de deux familles de fibres).

On définit alors :

et 
$$\begin{aligned} I_4 &= \underline{\underline{C}} : \underline{\underline{A}}_1 \\ I_6 &= \underline{\underline{C}} : \underline{\underline{A}}_2 \end{aligned}$$
 (1.7)

avec 
$$\underline{\underline{A}}_i = \mathbf{a}_i \otimes \mathbf{a}_i$$
 (1.8)

- (Federico and Gasser, 2010) : 
$$\Psi_f = \Psi_{fiso}(\underline{\underline{C}}) + \mathcal{H}(I_4 - 1) \Psi_{fani}(\underline{\underline{C}}, \underline{\underline{A}})$$
 (1.9)

où ici, pour prendre en compte la compression des fibres, on décompose l'énergie en une partie isotrope ne dépendant que de  $\underline{\underline{C}}$  et une partie anisotrope qui intervient uniquement lorsque la fibre est en tension (*i.e.* lorsque  $I_4 > 1$  d'où l'emploi de la fonction de Heaviside  $\mathcal{H}$ ). Les formes choisies pour les énergies de déformation isotrope et anisotrope sont alors :

$$\Psi_{fiso}(\underline{\underline{C}}) = \frac{1}{2} c_{fi} (I_1 - 3) \quad (1.10)$$

$$\Psi_{fani}(\underline{\underline{C}}, \underline{\underline{A}}) = \frac{1}{2} c_{fa} (I_4 - 1)^2 \quad (1.11)$$

Cette méthode de superposition des potentiels d'énergie de déformation présuppose cependant que les différentes familles de fibres et la matrice non collagèneuse réagissent indépendamment les unes des autres, ce qui va à l'encontre des observations expérimentales qui mettent en évidence les liaisons existantes entre fibre/fibre et fibres/matrice. A partir de ce formalisme simplifié, beaucoup de travaux ont portés sur l'amélioration des modèles. Guo *et al.* (Guo et al., 2006) par exemple, intègrent des considérations pour prendre en compte ces interactions des fibres avec la matrice. Pour ce faire, ils décomposent le tenseur gradient de la transformation  $F$  en une partie uniaxiale dans la direction des fibres, et une partie en cisaillement modélisant les liaisons des fibres avec leur environnement.

#### 1.4.1.2 Distribution d'orientations des fibres

Il est à noter que tous ces développements de modèles ont été motivés par la modélisation des artères dont la structure organisée par couches de fibres orientées nécessite l'intégration de l'anisotropie dans les modèles (Gasser et al., 2006; Holzapfel et al., 2002, 2000). Cependant, ces modèles étant très paramétrables, ils s'avèrent particulièrement efficaces pour modéliser d'autres types de tissus fibreux comme la cornée (Nguyen et al., 2008; Pandolfi and Holzapfel, 2008) ou la peau (Tonge et al., 2013).

Ces modèles reposent sur l'addition de la contribution d'un nombre fini de familles de fibres ayant une orientation dominante particulière (Holzapfel et al., 2000) ou une faible dispersion autour d'une orientation dominante (Gasser et al., 2006). Cette idée a été généralisée dans une approche par Federico et Herzog (Federico and Herzog, 2008) qui prend le cas de fibres orientées statistiquement. Ils proposent alors une expression du potentiel d'énergie de déformation élastique pour une orientation quelconque décrite statistiquement par une fonction de distribution. En revanche, ils ne peuvent plus calculer analytiquement l'énergie de déformation et proposent de tester leur modèle en intégrant cette expression numériquement (Federico and Gasser, 2010).

Dans les modèles avec des familles de fibres aux orientations continues et non discrètes, l'arrangement des fibres est alors décrit par des fonctions de distributions angulaires. On remarque que la distribution  $\pi$ -périodique de von Mises normalisée est souvent utilisée (Federico and Gasser, 2010; Gasser et al., 2006; Gizzi et al., 2014; Raina and Linder, 2014; Rezakhaniha et al., 2012) pour l'implémentation numérique, puisqu'elle permet de rendre compte facilement d'une configuration isotrope à une anisotropie prononcée via un paramètre de concentration  $b$ . Elle est définie par :

$$\rho(\theta) = \frac{\exp(b \cos(2\theta))}{2\pi I_0(b)} \quad (1.12)$$

avec

$$I_0(b) = \frac{1}{\pi} \int_0^\pi \exp(b \cos \theta) d\theta \quad (1.13)$$

où  $b > 0$  est un paramètre influant sur la plus ou moins grande concentration d'orientation.

D'autres études incluent directement dans les modèles des distributions angulaires mesurées à partir de données expérimentales sur les images de la microstructure (Hill et al., 2012; Sacks, 2003).

### 1.4.1.3 Homogénéisation du comportement

Deux approches pour homogénéiser la contribution des fibres sont principalement envisagées : l'intégration angulaire (AI) ou le tenseur de structure (GST) développé par Gasser *et al.* (Gasser et al., 2006). L'approche AI consiste à exprimer les paramètres mécaniques (comme l'énergie de déformation ou la contrainte) par des intégrales angulaires, ce qui la rend précise mais lourde en terme de temps de calcul. Le postulat de départ repose sur l'idée que l'énergie de déformation totale du tissu est égale à la somme des contributions individuelles de chaque fibre. On a alors :

$$\Psi_f = \int_{\omega} \rho(\mathbf{M}) \bar{\Psi} d\omega \quad (1.14)$$

où  $\rho$  est la densité de fibres dans la direction du vecteur unitaire de l'espace  $\mathbf{M}$ ,  $\bar{\Psi}$  est l'énergie de déformation d'une fibre individuelle et  $\omega$  la sphère unité (ou le disque unité dans le plan).

L'approche GST consiste à utiliser des tenseurs de structure qui contiennent les informations géométriques. La formulation est donc beaucoup plus simple, mais moins précise et valable uniquement pour des fibres en tension et présentant une faible dispersion angulaire. On calcule alors le tenseur :

$$\underline{\underline{H}} = \frac{1}{4\pi} \int_{\omega} \rho(\mathbf{M}) \mathbf{M} \otimes \mathbf{M} d\omega \quad (1.15)$$

Et on a :

$$\Psi_f = \bar{\Psi}(E_i) \quad (1.16)$$

avec

$$E_i = \underline{\underline{H}}_i : \underline{\underline{C}} - 1 \quad (1.17)$$

Cortes *et al.* (Cortes et al., 2010) proposent une comparaison des performances de ces deux méthodes d'homogénéisation et précisent les gammes de validité pour la méthode des tenseurs de structure. Ils quantifient notamment les valeurs de distributions angulaires pour lesquelles l'homogénéisation par tenseurs de structure provoquent un écart inférieur à 10% par rapport à la méthode AI, et mettent en évidence qu'une bonne précision n'est atteinte que pour une faible dispersion angulaire autour d'une direction principale.

Pandolfi et Vasta (Pandolfi and Vasta, 2012) reprennent le modèle de Gasser *et al.* (Gasser et al., 2006) qu'ils considèrent plus précis puis l'étendent en modifiant le calcul des tenseurs de



structure. Ils incluent notamment une dépendance dans la variance du quatrième pseudo-invariant (alors que seule la moyenne était considérée par Gasser *et al.*) et montrent que le modèle ainsi obtenu résulte en une homogénéisation par tenseur de structure plus précise que celle considérée initialement.

### 1.4.2 Intégration de la réorientation, du dépliement et de l'endommagement

Dernièrement, beaucoup d'études visent à intégrer à ces modèles analytiques des extensions permettant de prendre en compte des phénomènes physiques, notamment la réorientation, le dépliement et l'endommagement des fibres avec le chargement. Le but étant de pouvoir donner un sens physique aux paramètres matériaux introduits, et de les rendre mesurables a priori. Ainsi on trouve dans la littérature différents modèles de réorientation, très souvent basés sur des considérations géométriques (Aspden, 1986; Chaudhry *et al.*, 2012; Purslow, 1989), où les fibres se réorientent dans la direction de chargement principale. Toutes ces considérations reposent sur l'hypothèse de transformation affine, à savoir que la déformation macroscopique est directement retransmise aux fibres, et donc que la déformation locale des fibres est égale à la transformation tensorielle des déformations globales du tissu.

Hill *et al.* (Hill *et al.*, 2012) testent différents modèles de dépliement et de recrutement progressifs ou non des fibres pendant le chargement. Ils confrontent les réponses des modèles aux observations, qu'ils mènent en mesurant le dépliement des fibres de collagène d'artère de lapin soumise à de la traction uniaxiale sous microscope biphotonique. Ils concluent alors que le dépliement correspond assez bien à la fin de la toe-region sur les courbes de contrainte-déformations, et donc qu'un modèle avec une élongation d'activation pour le dépliement semble le plus pertinent. Raina *et Linder* (Raina and Linder, 2014) combinent pour leur part la réorientation et le dépliement en proposant une élongation d'activation pour les fibres, et une actualisation de la distribution d'orientation en fonction de l'intensité du chargement. La réponse du matériau est donc définie en deux parties avec un comportement spécifique avant et après l'élongation d'activation. Ils valident leur modélisation en identifiant leurs paramètres matériaux sur des essais issus de la littérature.

En ce qui concerne l'endommagement, la pratique usuelle consiste à introduire un rapport de réduction ( $I-D$ ) mis en facteur devant le potentiel d'énergie des fibres et/ou de la matrice. L'énergie de déformation totale du tissu devient donc :

$$\Psi = (1 - D_m)\Psi_m + \sum_i (1 - D_{fi})\Psi_{fi} \quad (1.18)$$

C'est ce que fait Robertson *et al.* (Robertson *et al.*, 2012) en proposant différentes formulations pour  $D$ , la variable d'endommagement, en fonction du type d'endommagement voulu. Dans cette étude, ils considèrent un endommagement global de la structure, et non juste des fibres de collagène, dans la mesure où l'endommagement est un phénomène critique essentiellement pour les fibres d'élastine. En effet, ces fibres ne se régénèrent pas au cours du vieillissement, contrairement à celles de collagène, et se désagrègent avec le temps. Ils intègrent alors à leur modèle trois origines d'endommagement différentes : l'endommagement provenant de la fatigue au faible nombre de cycle mais à un chargement important, l'endommagement

provenant de la fatigue au grand nombre de cycle sous un chargement physiologique et l'endommagement dû à la biodégradation de l'élastine. Ces variations de type d'endommagement sont prises en compte dans la définition de la variable  $D$ .

Gasser (Gasser, 2011) et Schimdt *et al.* (Schmidt et al., 2014) proposent quant à eux un modèle d'endommagement des fibres de collagène. Ils essayent de donner un sens plus physique à cette variable d'endommagement  $D$  en la reliant à l'endommagement des ponts de protéoglycane qui lient les fibrilles de collagène entre elles pour former des fibres. Ils proposent donc des modèles basés sur des paramètres matériaux « physiques » et potentiellement mesurables. L'endommagement est alors perçu comme une élongation rémanente des ponts de protéoglycane, et on crée donc une dépendance explicite de la variable  $D$  à la valeur limite à partir de laquelle les ponts sortent du domaine élastique. Afin de prendre en compte les variabilités des propriétés mécaniques des fibres, Schmidt *et al.* (Schmidt et al., 2014) considèrent une distribution statistique de ces valeurs limites d'élongation des ponts de protéoglycanes. Ces modèles présentent l'avantage de considérer l'endommagement comme provenant de phénomènes microstructuraux, et donc proposent une possible explication de ce phénomène associé à la rupture, observée à l'échelle macroscopique, mais dont les mécanismes sont encore méconnus.

Une alternative à cette définition de l'endommagement via un rapport de réduction est de considérer les modèles macromoléculaires, particulièrement utilisés pour décrire le comportement d'élastomères et notamment prendre en compte l'effet Mullins. Ces modèles proposés par exemple par Diani *et al.* (Diani et al., 2006) et Merckel *et al.* (Merckel et al., 2011) permettent de modéliser un endommagement anisotrope dans un autre formalisme que celui décrit précédemment. Dans ces modèles qui reprennent le formalisme introduit par Marckmann *et al.* (Marckmann et al., 2002), la longueur de chaînes et la fraction de chaîne qui supportent la contrainte dépendent de l'histoire du chargement. L'endommagement est alors perçu comme une rupture des liaisons entre chaînes, résultant en une augmentation de la longueur moyenne de chaîne dans une direction particulière.

Bel-Brunon *et al.* (Bel-Brunon et al., 2013) proposent également un modèle alternatif d'endommagement de tissu plan fibreux en considérant la rupture progressive des fibres en fonction de la déformation vue par chaque direction. Ces fibres, au comportement fragile ou endommageable, vont donc participer ou non à la réponse du tissu suivant l'intensité de la déformation dans leur direction d'orientation. L'évolution de l'endommagement macroscopique du tissu est alors donnée par l'évolution de deux angles délimitant le domaine où les fibres sont cassées.

De nombreuses études ont donc été menées afin de développer des modèles intégrant des considérations sur la microstructure des tissus afin de décrire finement leur comportement et expliquer certains mécanismes observés à l'échelle macroscopique. Cependant, l'intégration de données expérimentales quantitatives dans ces modèles n'est pas encore parfaite et se trouve être peu présente dans la littérature (Sacks, 2003). L'absence d'intégration de données expérimentales structurelles observées directement représente une limitation des modèles existants qui nécessitent d'être validés par confrontation à ces données expérimentales, ou bien qui en ont besoin comme paramètres d'entrée pour alimenter les simulations numériques.

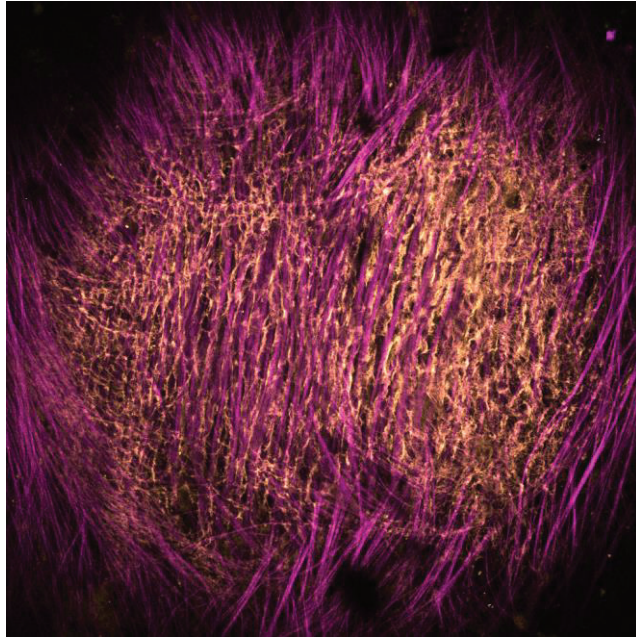


***Bilan du contexte et état de l'art :***

*L'étude de la rupture des tissus fibreux et notamment de la capsule de foie est un enjeu important au vue des données extraites de l'analyse de la traumatologie du foie. Les blessures au foie, si elles ne sont pas les plus fréquentes, représentent une grande partie des lésions graves et mortelles. Leur prévention représente donc un enjeu sociétal majeur.*

*Pour comprendre ces blessures, les prédire, aider à leur traitement ou fabriquer des tissus artificiels bio-fidèles, les modèles structuraux constitutifs apparaissent comme un outil indispensable. De nombreux modèles basés sur la microstructure existent déjà dans la littérature et intègrent des phénomènes variés tels de la réorientation de fibres ou l'endommagement. Cependant ces modèles nécessitent de s'appuyer sur des données expérimentales qui peuvent s'avérer délicates à obtenir au vue de l'échelle de travail microscopique.*

*Il apparait donc nécessaire de développer des protocoles expérimentaux couplant des essais mécaniques à l'observation de la microstructure pour fournir les données nécessaires à l'élaboration et la validation des modèles structuraux constitutifs.*



---

# Chapitre 2

## Mesure de champs de déformation locaux lors d'essais de traction uniaxiale

*Ce chapitre décrit la mise en œuvre d'une mesure de champs de déformation à l'échelle de la microstructure via le suivi de marqueurs créés sur le tissu par photoblanchiment. Des essais de tractions sous microscope confocal multiphoton sont alors développés pour tester la faisabilité de la méthode ainsi que son caractère non destructif. Des résultats préliminaires de corrélation d'images sur les images obtenues par microscopie sont également présentés, ainsi que des considérations sur l'analyse locale de la rupture.*

### Sommaire

---

<b>2.1</b>	<b>Introduction .....</b>	<b>40</b>
<b>2.2</b>	<b>Matériels et méthodes .....</b>	<b>42</b>
2.2.1	Préparation des échantillons .....	42
2.2.2	Paramètres d'imagerie .....	43
2.2.3	Photoblanchiment .....	43
2.2.4	Conditions de chargement .....	46
2.2.5	Essai de propagation d'une déchirure .....	49
<b>2.3</b>	<b>Résultats .....</b>	<b>50</b>
2.3.1	Organisation microstructurale de la capsule de foie .....	50
2.3.2	Caractère non destructif du photoblanchiment .....	52
2.3.3	Champs de déformations locaux .....	55
2.3.4	Observation locale de la rupture .....	60
<b>2.4</b>	<b>Discussion .....</b>	<b>62</b>
2.4.1	Organisation et évolution de la microstructure au cours du chargement .....	62
2.4.2	Méthode de mesure par photoblanchiment .....	63
2.4.3	Analyse du mécanisme de déchirement .....	66
<b>2.5</b>	<b>Mesures par corrélation d'images .....</b>	<b>67</b>

---

### 2.1 Introduction

L'état de l'art a montré l'intérêt de l'identification de paramètres micromécaniques pour l'élaboration de modèles structuraux constitutifs. Comme mentionné précédemment (Keyes et al., 2013; Robertson et al., 2012; Rubbens et al., 2009), les essais mécaniques standards couplés à l'observation des fibres par fluorescence et SHG présentent un fort potentiel pour étudier la contribution de la microstructure au comportement mécanique macroscopique des tissus conjonctifs fibreux.

Dans cette optique, un essai de traction uniaxiale sous microscope confocal multiphotonique a été mis en place pour caractériser le comportement de la capsule de foie humaine, et mettre plus directement en relation des déformations du tissu et la cinématique de la microstructure. En outre, il est important d'évaluer les champs de déformations à l'échelle microscopique afin d'obtenir des informations sur l'environnement cellulaire.

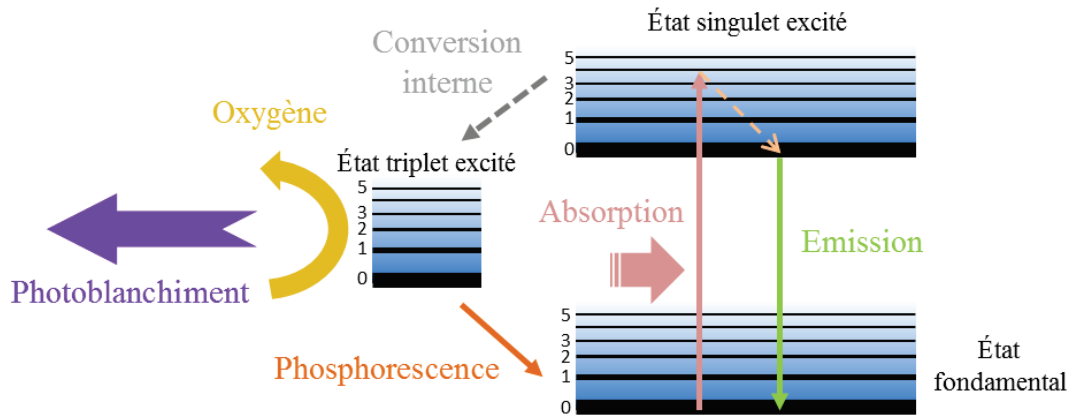
Screen et Evans (Screen and Evans, 2009) réalisent ces mesures en appliquant une approche par éléments finis pour calculer les champs de déformations en utilisant les cellules présentes dans les tendons comme marqueurs. Malheureusement, de tels marqueurs intrinsèques ne sont pas présents dans tous types de tissus, et plus particulièrement, on remarque qu'ils sont absents de la capsule de foie. En reprenant une approche similaire à celle de Screen et Evans (Screen and Evans, 2009), nous proposons ici d'utiliser un effet secondaire de la microscopie par fluorescence appelé photoblanchiment, pour créer des marqueurs intrinsèques sur la structure qui serviront à la mesure de champs de déformation.

Le photoblanchiment est usuellement un phénomène néfaste de la microscopie par fluorescence qui se caractérise par une perte de fluorescence des fluorophores qui induit une diminution du rapport signal/bruit et ainsi réduit la qualité des images (Pawley, 2006; Stelzer, 1998). La figure 2.1 illustre les mécanismes physiques à l'origine du photoblanchiment. Pendant la phase d'excitation du fluorophore, les molécules peuvent subir des changements structuraux permanents en réagissant et formant des liaisons covalentes avec d'autres espèces, notamment l'oxygène présent dans le milieu. Ces changements structuraux conduisent alors souvent à une perte irréversible de fluorescence (Bernas et al., 2004; Diaspro et al., 2006). Les mécanismes du photoblanchiment ne sont toujours pas très bien connus, cependant de nombreuses études se sont penchées sur l'identification des facteurs influant sur celui-ci. Parmi ces facteurs reportés dans littérature, on trouve la nature du fluorophore considéré, l'intensité du flux de photon d'excitation, le temps d'irradiation, la richesse en oxygène du milieu et plus globalement la nature de l'environnement (Bernas et al., 2004; Kuang et al., 2013; Marcu et al., 1999; Song et al., 1995; Vicente et al., 2007; Zhang et al., 1996).

Cependant, le photoblanchiment n'est pas nécessairement un problème dans toutes les applications. En effet certaines techniques de microscopie utilisent cette perte de fluorescence avantageusement, comme la FRAP (Fluorescence recovery after photobleaching) par exemple, qui consiste à utiliser le photoblanchiment pour mesurer des coefficients de diffusion ou des vitesses de molécules entre autre (Axelrod et al., 1976; Ishikawa-Ankerhold et al., 2012). La FLAP (Fluorescence localization after photobleaching) est une autre technique, développée par Dunn *et al.* (Dunn et al., 2002), qui utilise le photoblanchiment afin de marquer et suivre des molécules. Enfin Cheng et Screen (Cheng and Screen, 2007) proposent d'utiliser le photoblanchiment pour mesurer la déformation locale sur la microstructure de tendons imagés

## 2. Mesure de champs de déformation locaux lors d'essais de traction uniaxiale

via un marquage fluorescent sous un microscope confocal. Pour ce faire, ils créent des lignes photoblanchies sur la structure pour réaliser un quadrillage. Ils mesurent alors différents paramètres sur ce quadrillage pour évaluer la déformation locale de leurs échantillons.



**Figure 2.1 :** Diagramme de Jablonski représentant le mécanisme du photoblanchiment vis-à-vis de la fluorescence. Adapté d'Ishikawa-Ankerhold *et al.* (Ishikawa-Ankerhold *et al.*, 2012).

Il existe plusieurs différences entre le photoblanchiment induit par une excitation mono ou multiphoton. En effet, dans la mesure où l'excitation multiphoton (TPEF) nécessite une plus grande intensité d'excitation que l'excitation monophoton, le photoblanchiment est plus fort avec la TPEF (Diaspro *et al.*, 2006; Patterson and Piston, 2000). Avec la TPEF, le photoblanchiment est également plus localisé, dû au confinement de l'excitation dans un volume focal restreint. Par conséquent, la TPEF provoque un photo-endommagement limité au sein de l'échantillon et permet la réalisation d'un photoblanchiment moins diffus avec un meilleur contrôle des limites des zones photoblanchies (Diaspro *et al.*, 2006).

Nous proposons donc le développement d'une méthode de mesure de champs de déformation locaux sur tissus fibreux par photoblanchiment afin de quantifier l'état de l'environnement micromécanique des tissus et fournir des informations sur le comportement. Ces tests sont menés via l'implémentation d'un essai de traction uniaxiale couplé à l'observation microscopique. La microscopie confocale multiphotonique nous permet également dans un premier temps de décrire l'organisation de la microstructure de la capsule de foie humaine et notamment d'apporter des précisions sur l'arrangement relatif des fibres de collagène et d'élastine pour construire ce réseau fibreux complexe, chose qui, à notre connaissance, n'a pas encore été reportée dans la littérature.

Les essais de traction sous microscope que nous avons développé permettent la compréhension et la caractérisation du comportement mécanique de la capsule de foie durant le chargement. Parallèlement à ces considérations, l'observation du mécanisme de rupture à l'échelle des fibres apporterait de précieuses informations pour les modèles et plus généralement

## 2. Mesure de champs de déformation locaux lors d'essais de traction uniaxiale

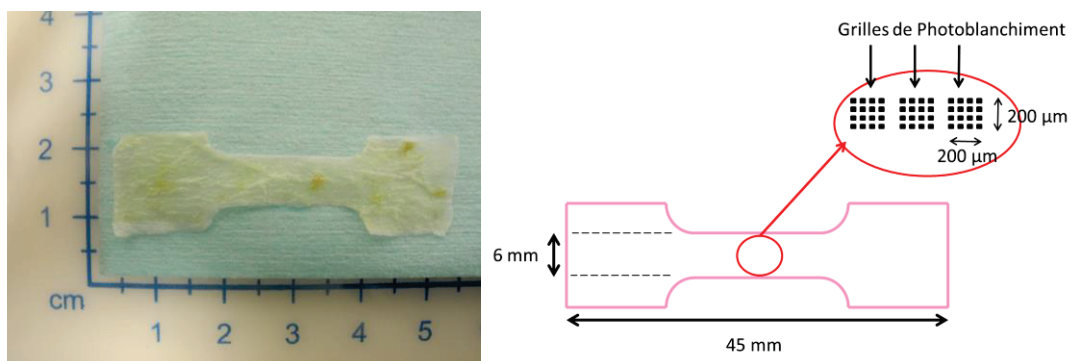
---

pour la compréhension des mécanismes lésionnels des tissus. Malheureusement il est très difficile d'observer ce phénomène sous microscope dans la mesure où la rupture se trouve être particulièrement brutale et locale. Afin de lever certaines interrogations sur la caractérisation de ce mécanisme, des essais préliminaires visant à observer la propagation d'une déchirure à l'échelle des fibres, ont été réalisés.

## 2.2 Matériels et méthodes

### 2.2.1 Préparation des échantillons

La capsule a été retirée d'un foie humain prélevé au laboratoire d'anatomie de la faculté de médecine de l'Université Lyon 1 via le programme français de don volontaire de corps à la science. La capsule a été délicatement détachée du parenchyme en utilisant une seringue et de l'eau pour créer un hématome sous capsulaire, conformément à la méthode décrite dans Dan (Dan, 1999). Les échantillons ont été découpés en forme de I grâce à un emporte-pièce donnant une longueur totale d'échantillon de 45 mm pour 17 mm de longueur utile, avec une section réduite de largeur 6 mm. La figure 2.2 présente la forme et les dimensions des éprouvettes de traction. 4 échantillons ont été testés. Les échantillons ont été stockés à 4°C jusqu'au test, qui est intervenu dans les 2 jours suivant le prélèvement, de manière à ce que les échantillons ne soient jamais congelés. Durant toute cette période, ils ont été conservés dans du sérum physiologique pour maintenir leur hydratation.



**Figure 2.2 :** Géométrie des échantillons présentant une forme d'éprouvette de traction en I. La position des grilles de photoblanchiment réalisée pendant le cyclage est indiquée.

## 2.2.2 Paramètres d'imagerie

Les images ont été acquises grâce au microscope confocal multiphoton (NIKON, A1R MP PLUS®) de la plateforme IVTV (Ingénierie et Vieillessement des Tissus Vivants ANR-10-EQPX-06-01). Des essais préliminaires ont été réalisés pour déterminer les spectres d'émissions et d'excitation des fibres de collagène et d'élastine de la capsule de foie humaine. La longueur d'onde d'excitation a été réglée à 850 nm, ce qui est légèrement au-dessus des valeurs reportées dans la littérature, à savoir 780 nm pour Keyes *et al.* (Keyes et al., 2013) et 800 nm pour Zoumi *et al.* (Zoumi et al., 2004). Cette valeur élevée a spécifiquement été choisie car elle permet d'exciter le collagène en dehors de son spectre d'excitation, et ainsi éviter de collecter le signal d'autofluorescence du collagène, tout en excitant l'élastine dans la partie haute de son spectre d'excitation. Ainsi le signal de fluorescence est quelque peu filtré en excluant les composants autofluorescents dont l'excitation est basse comme le collagène afin de conserver exclusivement la fluorescence provenant des fibres d'élastine.

Le signal de seconde harmonique (SHG) provenant des fibres de collagène et la fluorescence des fibres d'élastine ont été collectés via deux canaux différents. A cet effet, deux filtres à bande passante ont été utilisés : 400-492 nm pour la SHG et 500-550 nm pour la fluorescence.

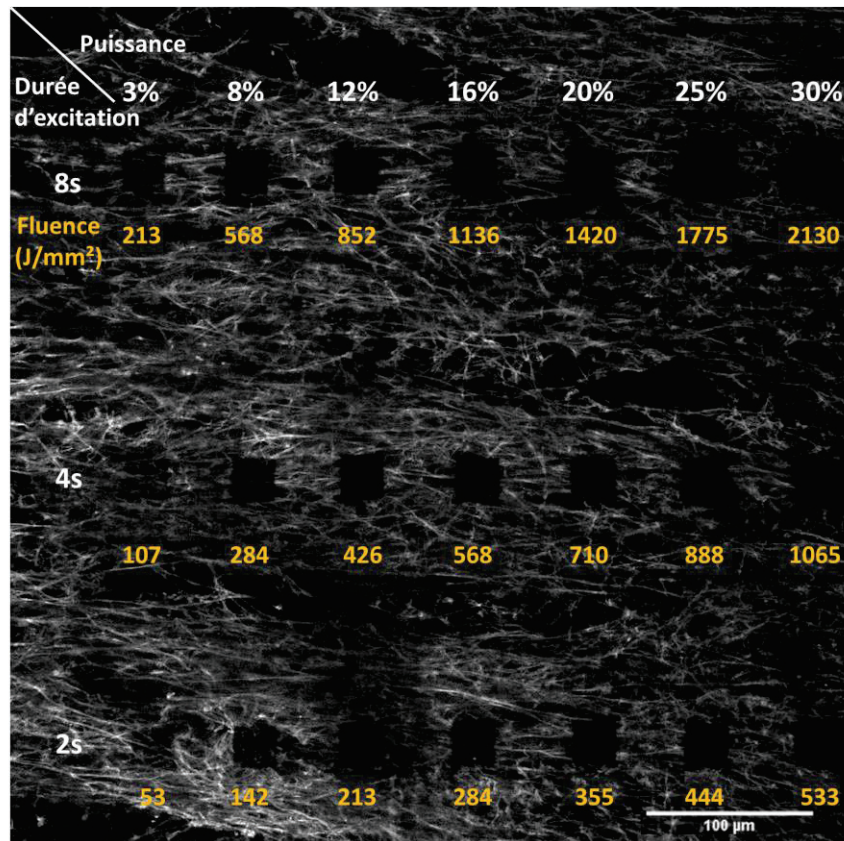
Un champ de  $507 \times 507 \mu\text{m}^2$  a pu être observé sur les échantillons. La vitesse d'acquisition a été réglée à 2s par image pour obtenir une résolution de  $0.99 \mu\text{m}/\text{pix}$ . Pour observer les changements de la microstructure dans l'épaisseur de la capsule, des piles d'images, d'environ  $60\text{-}80 \mu\text{m}$  suivant l'épaisseur de la capsule, ont été acquises avec un pas dans l'épaisseur (pas en Z) de  $1 \mu\text{m}$ . La relative transparence de la capsule de foie ainsi que sa faible épaisseur nous permet d'imager toute l'épaisseur de la capsule à chaque étape du chargement. La grande pénétration du microscope biphotonique permet d'obtenir des images de qualité sur toute la pile, même s'il est à noter que les images acquises loin dans la profondeur apparaissent légèrement plus bruitées que celles de la surface externe.

## 2.2.3 Photoblanchiment

### 2.2.3.1 Définition des paramètres pour le photoblanchiment

Pour définir les paramètres d'excitation optimaux pour le photoblanchiment, ainsi que pour étudier le potentiel effet destructif de la méthode, une grille test de carrés photoblanchis avec une puissance laser variable et une durée d'excitation variable, a été réalisée. Cette grille est présentée en figure 2.3. Afin de comparer les différents degrés de photoblanchiment sur cette grille, la fluence est calculée, telle que définie par Marcu *et al.* (Marcu et al., 1999), à savoir comme l'énergie reçue par unité d'aire. Ainsi, la grille présente des carrés très faiblement photoblanchis à  $53 \text{ J}\cdot\text{mm}^{-2}$  jusqu'à des carrés avec un photoblanchiment plus prononcé à  $2130 \text{ J}\cdot\text{mm}^{-2}$ .





**Figure 2.3 :** Grille de test de photoblanchiment vue sur le canal de fluorescence.

Horizontalement sont présentées différentes puissances de laser variant de 3% à 30% de la puissance nominale (600mW). Plusieurs durées d'excitation sont testées (verticalement) entre 2s et 8s. Les dimensions des carrés photoblanchis sont de  $26 \mu\text{m} \times 26 \mu\text{m}$ . La fluence (en jaune) est calculée pour chaque carré par : puissance x durée d'exposition / aire du carré.

### 2.2.3.2 Grille de photoblanchiment

Afin de pouvoir calculer les déformations, une grille régulière de carrés photoblanchis a été réalisée sur la structure dans le champ d'observation. Cette grille est composée de 16 carrés ( $4 \times 4$ ) de  $20 \mu\text{m}$  de cotés espacés de  $40 \mu\text{m}$ . On obtient ainsi une grille de  $200 \mu\text{m} \times 200 \mu\text{m}$  positionnée sur la microstructure permettant de mesurer les déplacements du réseau de fibres au sein de la grille et également de suivre et repositionner notre zone d'intérêt au cours du chargement afin d'être sûr de toujours imager la même zone sur l'échantillon.

Le photoblanchiment est obtenu via des paramètres choisis à partir de la grille de test précédemment réalisée. La puissance laser a été réglée à 50% de la puissance totale du laser, qui correspond à 600 mW à 850 nm pour le laser associé à ce microscope. La durée d'exposition a été choisie à 4s, et cette séquence a été répétée 3 fois pour obtenir un photoblanchiment acceptable. La fluence associée à tout ce procédé est de  $90 \text{ J} \cdot \text{mm}^{-2}$ . Ce choix conservatif permet de réaliser une grille au contraste suffisant pour la segmentation des carrés tout au long de l'essai en restant éloigné des valeurs de fluence potentiellement délétères pour la capsule.



Tout ce processus a été réalisé dans deux plans différents espacés d'environ 20  $\mu\text{m}$ , afin de marquer la structure à plusieurs endroits dans l'épaisseur, et ainsi évaluer la déformation dans la direction normale au plan de la capsule. Il n'a pas été possible de mesurer le changement d'épaisseur total de la capsule au cours du chargement avec précision, car les limites supérieure et inférieure de l'échantillon sont difficilement identifiables. En effet, suivant les valeurs des paramètres de gain et d'offset, l'identification des premier et dernier plans où l'on enregistre un signal peut varier, et il est alors impossible d'avoir une bonne estimation de l'épaisseur totale de la capsule de foie. En suivant l'évolution de la position des deux plans marqués par photoblanchiment, il est possible d'estimer un ordre de grandeur de la déformation de l'échantillon dans son épaisseur.

### 2.2.3.3 Calcul du tenseur des déformations de Green-Lagrange

Afin de calculer le champ de déformation local dans la grille de photoblanchiment, les positions des centres des carrés photoblanchis ont été collectées par segmentation d'image via ImageJ, tout au long du chargement. Le bon contraste entre les carrés et le reste de l'image permet une segmentation précise au pixel près.

Un script Matlab a ensuite été développé pour calculer les composantes du tenseur des déformations de Green-Lagrange, en utilisant une interpolation par éléments finis. Les centres des carrés photoblanchis ont servis de nœuds à l'élaboration d'un maillage carré, comme le montre la figure 2.4a. Pour chaque image de la pile, les déplacements dans le plan des nœuds ( $u_k$  et  $v_k$ ) sont mesurés. A partir des dérivées des fonctions d'interpolation bilinéaires, on calcule alors le gradient du déplacement  $\mathbf{U}$  par :

$$\overrightarrow{\text{grad}}(\mathbf{U}) = \begin{pmatrix} u_{,x} & u_{,y} \\ v_{,x} & v_{,y} \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} \sum_k N_{k,x} u_k & \sum_k N_{k,y} u_k \\ \sum_k N_{k,x} v_k & \sum_k N_{k,y} v_k \end{pmatrix} \quad (2.1)$$

où  $N_{k,x}$  et  $N_{k,y}$  sont les dérivées des fonctions d'interpolations par rapport aux directions  $x$  et  $y$  respectivement, données par :

$$\begin{aligned} \begin{bmatrix} N_{1,x} \\ N_{1,y} \end{bmatrix} &= \frac{1}{2A} \begin{bmatrix} -a + t * a \\ -a + s * a \end{bmatrix} \\ \begin{bmatrix} N_{2,x} \\ N_{2,y} \end{bmatrix} &= \frac{1}{2A} \begin{bmatrix} a - t * a \\ -a - s * a \end{bmatrix} \\ \begin{bmatrix} N_{3,x} \\ N_{3,y} \end{bmatrix} &= \frac{1}{2A} \begin{bmatrix} a + t * a \\ a + s * a \end{bmatrix} \\ \begin{bmatrix} N_{4,x} \\ N_{4,y} \end{bmatrix} &= \frac{1}{2A} \begin{bmatrix} -a - t * a \\ a - s * a \end{bmatrix} \end{aligned} \quad (2.2)$$

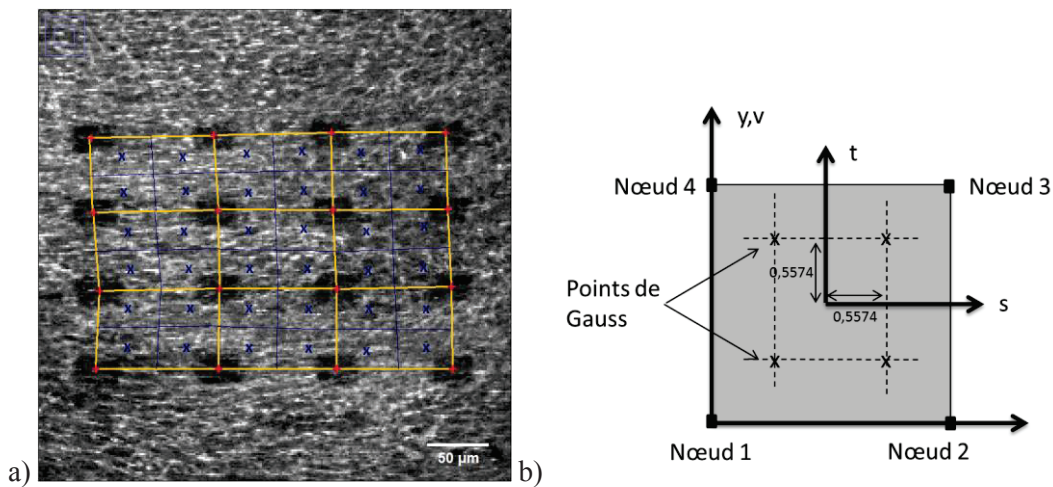
avec  $s$  et  $t$ , les coordonnées locales et  $a$  et  $A$ , le coté et l'aire de l'élément de référence, comme le montre la figure 2.4b.

## 2. Mesure de champs de déformation locaux lors d'essais de traction uniaxiale

On calcule alors ce gradient aux quatre points de Gauss définis par  $[s,t] = [\pm 0.5774 \pm 0.5774]$  et on obtient finalement le tenseur des déformations de Green-Lagrange par :

$$\underline{\underline{E}} = \frac{1}{2} [\overline{\text{grad}}(\mathbf{U}) + \overline{\text{grad}}(\mathbf{U})^T + \overline{\text{grad}}(\mathbf{U})^T \cdot \overline{\text{grad}}(\mathbf{U})] \quad (2.3)$$

Finalement, 4 tenseurs de déformations sont calculés par éléments et donc 36 par grille pour chaque image de la pile. Dans la mesure où, au sein d'une même pile d'images, les coordonnées en x,y de chaque carrés photoblanchis diffèrent très peu d'une image à l'autre, on calcule une moyenne de chaque composante du tenseur pour chaque carré entre les deux plans photoblanchis.



**Figure 2.4 :** a) Maillage plan d'éléments carrés créé sur la grille de photoblanchiment. Les centres des carrés (en rouge) correspondent aux nœuds du maillage de 9 éléments. Les positions des points de Gauss où sont calculés les gradients de déplacement sont indiqués en bleu.

b) Positions des points d'intégration dans l'élément de référence.

En ce qui concerne la déformation dans l'épaisseur, *i.e.* normale au plan de la capsule, la déformation au sens de Green-Lagrange est calculée dans cette direction à partir de la mesure de la distance entre les deux plans photoblanchis à chaque étape du chargement.

### 2.2.4 Conditions de chargement

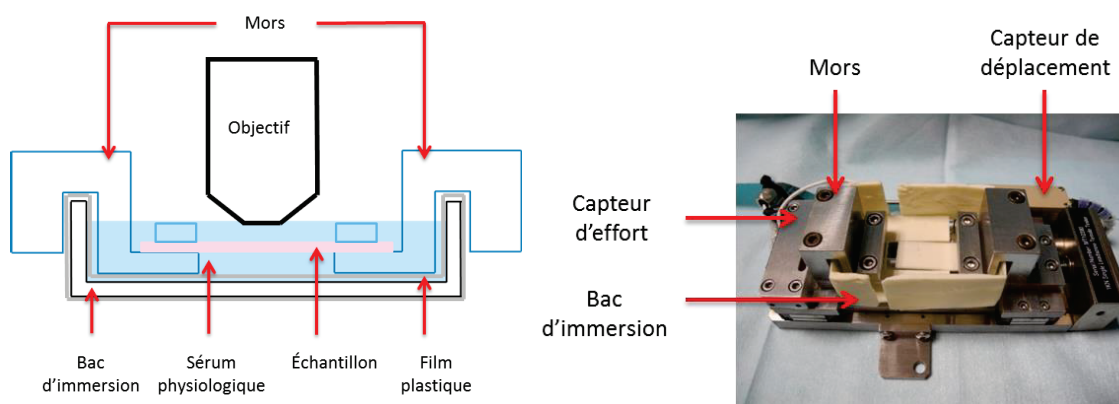
#### 2.2.4.1 Profil de chargement

Une micro machine de traction in situ (DEBEN, UK) a été utilisée pour mener des essais de traction uniaxiale. Cette machine est équipée d'un capteur d'effort de 150 N et d'un capteur de déplacement. Dans la mesure où les deux mors sont mobiles, la zone d'intérêt choisie est

## 2. Mesure de champs de déformation locaux lors d'essais de traction uniaxiale

positionnée au milieu de l'échantillon, de manière à ce qu'elle ne bouge pas pendant l'essai et ainsi pouvoir toujours imager la même zone. Cependant, il existe toujours un déplacement limité de cette zone, qui a pu être recalée grâce à la grille de photoblanchiment.

Un bac d'immersion ainsi que des mors sur mesure adaptés à la machine ont été conçus et réalisés afin de pouvoir mener l'essai dans un environnement hydraté. La figure 2.5 présente le dispositif expérimental. L'immersion complète de l'échantillon répond à plusieurs problématiques, la première étant d'assurer la présence d'une goutte d'eau entre l'objectif à eau du microscope et l'échantillon. Cela permet également de réaliser les essais dans des conditions plus réalistes par rapport à l'in-vivo, ainsi que de manipuler plus facilement la capsule de foie qui a tendance à s'enrouler sur elle-même lorsqu'elle n'est plus hydratée.

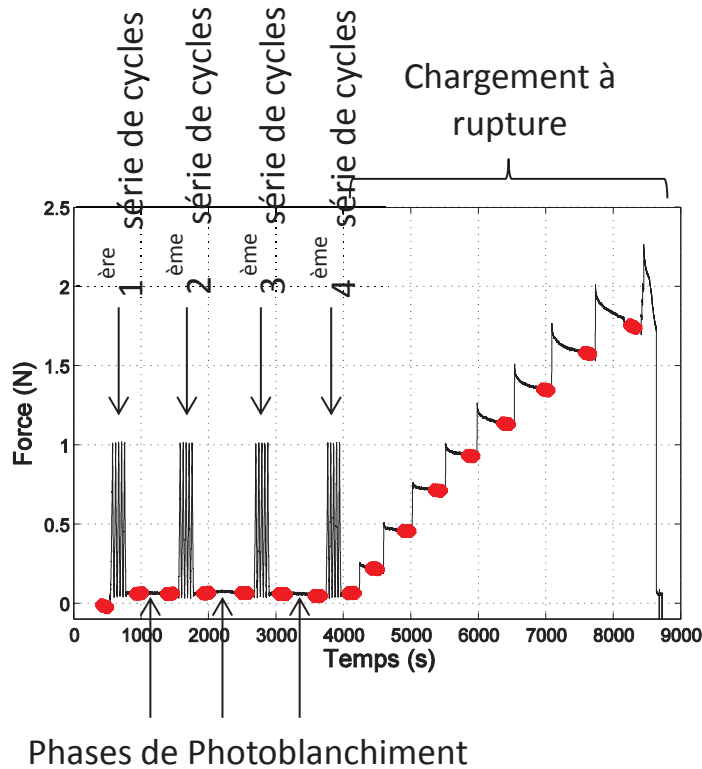


**Figure 2.5 :** Dispositif expérimental de traction. Les mors et le bac d'immersion sont fixés à la micro machine de traction in situ (DEBEN, UK). Le bac d'immersion est en deux parties coulissantes afin de suivre les déplacements des deux mors mobiles. L'étanchéité est assurée par du film plastique (non représenté sur la photo)

Le chargement a été mené à une vitesse de  $1 \text{ mm.min}^{-1}$ , soit un taux de déformation de l'ordre de  $10^{-3} \text{ s}^{-1}$ . Les échantillons ont tout d'abord été soumis à une précharge de  $0.05 \text{ N}$  afin d'assurer un état initial plat. Ensuite, un chargement cyclique comprenant 5 cycles de charges-décharges entre  $0.05 \text{ N}$  et  $1 \text{ N}$  a été appliqué, afin de rester dans la partie quasi-linéaire du comportement du matériau. Suite à ce premier cyclage, une pause d'environ 15 min a été effectuée pour permettre d'imager l'échantillon et de réaliser la grille de photoblanchiment. Une nouvelle série de 5 cycles a alors été réalisée. Ce schéma de chargement/pause d'imagerie et de photoblanchiment a été répété 2 fois en changeant à chaque fois de zone photoblanchie, afin d'évaluer l'influence du photoblanchiment sur les propriétés mécaniques macroscopiques dans la partie quasi-linéaire de la réponse du matériau. Le chargement a ensuite été mené jusqu'à la rupture par incrément de  $0.25 \text{ N}$  comprenant des pauses à chaque pas pour l'imagerie d'une des grilles de photoblanchiment. La figure 2.6 illustre ce profil de chargement pour un échantillon particulier, indiquant les phases de cyclage, de photoblanchiment, puis le chargement à rupture sur la courbe d'évolution de la force en fonction du temps. Les sections en rouge correspondent aux temps d'acquisitions d'image. A partir des courbes force-déplacement obtenues via les capteurs de la machine de traction, la contrainte et la déformation au sens de l'ingénieur sont

## 2. Mesure de champs de déformation locaux lors d'essais de traction uniaxiale

calculées en divisant la force et le déplacement des mors par la section initiale et la longueur initiale respectivement. Le montage sous microscope ne permet pas de mesurer l'évolution de la section en continu à l'échelle macroscopique, il est donc impossible de calculer une contrainte vraie.



**Figure 2.6 :** Profil de chargement (échantillon n°4) commençant par 4 séries de 5 cycles de charges/décharges entre 0.05 N et 1 N. Des pauses d'environ 15 min sont réalisées entre les séries de cycles pour réaliser les grilles de photoblanchiment. L'échantillon est ensuite chargé jusqu'à rupture par incréments de force de 0.25 N pour permettre d'imager la dernière grille de photoblanchiment. Les sections surlignées en rouge correspondent aux durées d'acquisition d'images.

### 2.2.4.2 Analyse de l'influence du photoblanchiment sur le comportement macroscopique

Afin d'étudier l'impact des grilles de photoblanchiment sur les propriétés mécaniques macroscopiques de la capsule, les cycles de charges/décharges, avant et après photoblanchiment ont été comparés. Pour ce faire, les différentes courbes contrainte/déformation sont comparées en calculant la distance moyenne et l'écart type associé entre les courbes, via une projection orthogonale de la courbe comparée sur celle de référence.

Pour chaque série de 5 cycles de charge/décharge, on compare chaque cycle au 5<sup>ème</sup> de la série afin d'obtenir une valeur de référence de distance inter-courbe acceptable. On considère en effet que les différences inter-courbes au sein d'une même série de cycle sont dues à de la réorganisation normale de la structure, indépendante du photoblanchiment.

Pour chaque série, on compare ensuite chaque cycle au dernier cycle de la 1<sup>ère</sup> série, *i.e.* celui qui a été réalisé avant la première phase de photoblanchiment. En considérant la valeur de distance inter-courbe au sein de chaque série comme référence de courbes identiques, on juge alors des effets du photoblanchiment en comparant les valeurs de distance inter-courbes entre différentes séries, à ces valeurs de référence.

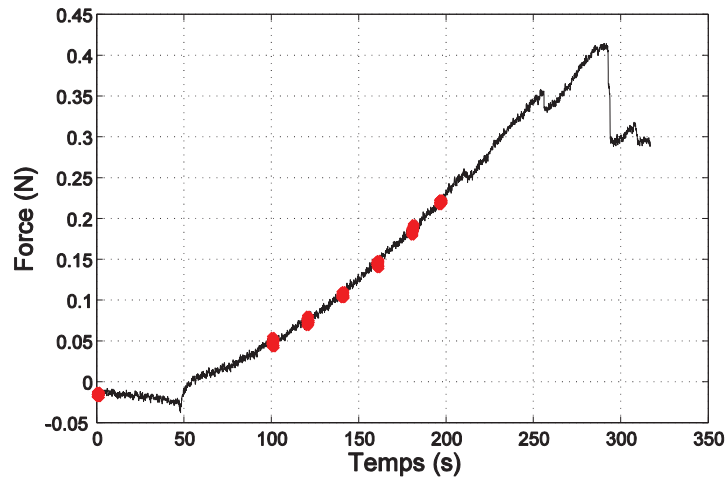
En utilisant le 5<sup>ème</sup> cycle de la première série comme référence pour chaque échantillon, on s'affranchi des biais liés au montage expérimental tels que le glissement initial ou l'existence de microfissures initiales. Cela permet alors de comparer les cycles lorsqu'ils deviennent réellement répétables.

### 2.2.5 Essai de propagation d'une déchirure

Dans les conditions expérimentales évoquées précédemment, il est statistiquement très improbable d'obtenir une rupture dans le champ d'observation du microscope qui est très réduit vis-à-vis des dimensions macroscopiques de l'échantillon. De plus, la faible vitesse d'acquisition des images ne permettrait pas de capter ce phénomène.

Afin d'étudier la rupture, une entaille d'environ 2 mm dans la direction normale à l'axe de traction a été créée à l'aide d'un scalpel dans la section réduite de l'échantillon. On mène alors l'essai de traction en suivant la propagation de cette déchirure via un déplacement dans le plan de la platine du microscope. Faire évoluer la zone d'intérêt en temps réel nécessite d'augmenter la vitesse d'acquisition d'images. Les paramètres d'imagerie ont donc évolués en ce sens en passant à une vitesse de scan de 1 image/s, au détriment de la qualité des images.

Une grille de photoblanchiment a été réalisée sur un des essais autour de l'entaille afin de mesurer le champ de déformations au cours de la propagation. Cette grille de 6 x 4 carrés photoblanchis a été créée en reprenant les paramètres précédemment utilisés. La grille est alors imagée en continu au cours de l'essai mené jusqu'à rupture complète de l'échantillon. La déformation est calculée à différents niveaux de force (figure 2.7) avant que l'entaille n'atteigne la grille de photoblanchiment et que les carrés ne soient plus identifiables.



**Figure 2.7 :** Profil de chargement à rupture de l'échantillon entaillé. La microstructure est imagée en continue. Les sections rouges correspondent aux instants de calcul de la déformation dans la grille de photoblanchiment.

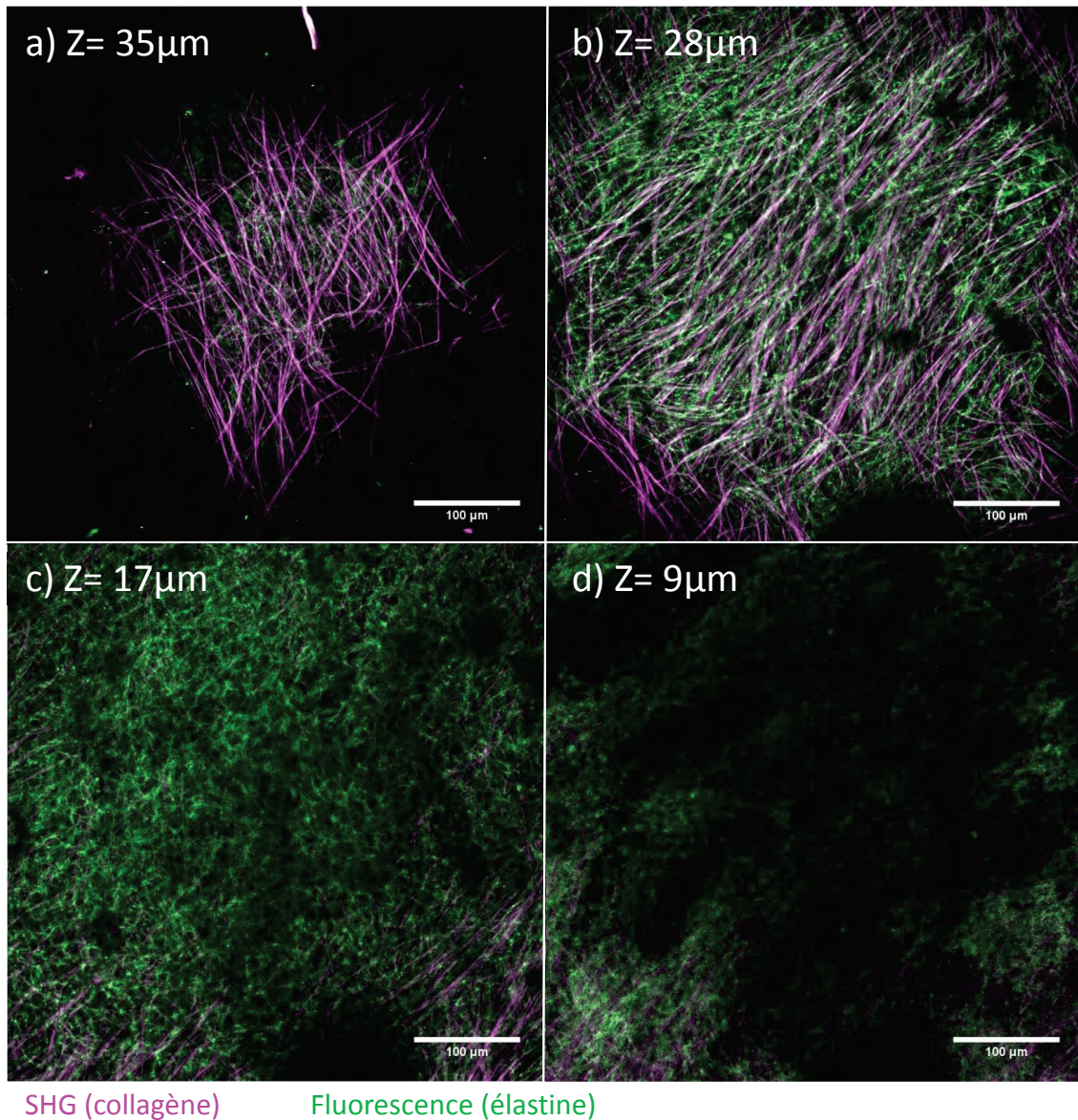
## 2.3 Résultats

### 2.3.1 Organisation microstructurale de la capsule de foie

La figure 2.8 présente un exemple de la microstructure de la capsule de foie avant chargement mécanique à différents niveaux dans l'épaisseur. Ces images, prises dans l'optique de décrire la microstructure, ont été réalisées avec une meilleure résolution que les images prises pendant l'essai de traction ( $0.5 \mu\text{m}/\text{pix}$  contre  $0.99 \mu\text{m}/\text{pix}$ ). Les fibres de collagène, dont le diamètre varie entre  $2$  et  $5 \mu\text{m}$  sont entourées de fibres d'élastine de diamètre plus petit (entre  $0.2$ - $0.8 \mu\text{m}$ ). Ces fibres d'élastine joignent les fibres de collagène entre elles de manière complètement stochastique, le tout créant ainsi un réseau fibreux très complexe.

Le type de structure et l'organisation observée dépend légèrement de l'emplacement choisi de prélèvement sur le foie. Cependant, d'un point de vue global, quelle que soit la zone choisie, on retrouve toujours ce réseau complexe avec sensiblement les mêmes tendances dans les proportions collagène/élastine ainsi que les mêmes variations d'organisation dans l'épaisseur.





**Figure 2.8 :** Variation de la composition en collagène et élastine dans l'épaisseur de la capsule de foie humaine observée par microscopie confocale biphotonique. Le vert correspond au canal de fluorescence montrant les fibres d'élastine. Le signal de SHG révélant les fibres de collagène est présenté en magenta. a) Plan proche de la surface externe de la capsule situé à 35  $\mu\text{m}$  de la surface interne. Cette première couche est principalement composée de fibres de collagène orientées. b) Plan situé à 28  $\mu\text{m}$  de la surface interne présentant la seconde couche du matériau composé de fibres de collagène très orientées et liées par des fibres d'élastine. c) Plan situé à 17  $\mu\text{m}$  de la surface interne présentant une forte concentration de matière autofluorescente et des fibres de collagène désordonnées. d) Plan proche de la surface interne (9 $\mu\text{m}$ ) coté parenchyme présentant la dernière couche composée de faisceaux de fibres de collagène et du reste de la matrice extracellulaire.

Les proportions d'élastine et de collagène ne sont pas homogènes dans l'épaisseur. En effet, sur la surface externe du foie, on observe d'avantage de fibres de collagène distinctes et moins d'élastine qui prend la forme de petites fibres très courtes entourant celles de collagène (figure 2.8 a et b). Cette organisation structurale est visible sur une épaisseur variant de 20 à 40  $\mu\text{m}$ , avec une transition progressive vers l'organisation de la région interne proche du parenchyme. A l'opposé de cette surface externe, proche du parenchyme, on observe une concentration de matière autofluorescente qu'est la matrice extracellulaire, également sur une épaisseur allant de 20 à 40  $\mu\text{m}$ . Dans cette zone, du collagène est aussi présent sous forme de faisceaux de fibres très compacts et continus empêchant de distinguer les fibres individuellement l'une de l'autre (figure 2.8 c et d).

Il n'y a pas (ou alors très peu) de fibres de collagène orientées dans la direction de l'épaisseur. Les fibres et faisceaux de fibres de collagène restent principalement contenus dans les plans parallèles à celui de la capsule. Elles peuvent être tortueuses ou non et lorsqu'elles le sont, elles restent tout de même dans ces plans parallèles.

Ce matériau est donc construit à partir de « couches » de fibres de collagène superposées et liées entre elle par la matrice et notamment les fibres d'élastine. Ces couches présentent souvent une certaine anisotropie avec une direction principale pour les fibres, qui varient en fonction de la couche considérée. On dénombre en général 4 couches. La toute première située à l'extrême périphérie présente des fibres assez « lâches », souvent sinueuses, et qui présentent une orientation dominante (figure 2.8a). La suivante située juste en dessous dans la profondeur (~5-10  $\mu\text{m}$  en dessous de la surface externe), est souvent orientée entre 45 et 90° rapport à la précédente et présente des fibres très orientées et totalement dépliées (figure 2.8b). Puis en allant dans la profondeur, on trouve une couche plus désordonnée sans orientation particulière et contenant de moins en moins de fibres de collagène individuelles et distinctes (figure 2.8c). Enfin, la dernière couche la plus proche du parenchyme présente de grosses fibres/faisceaux de fibres de collagène très orientés dans une direction dominante (figure 2.8d).

### 2.3.2 Caractère non destructif du photoblanchiment

#### 2.3.2.1 Analyse qualitative des images

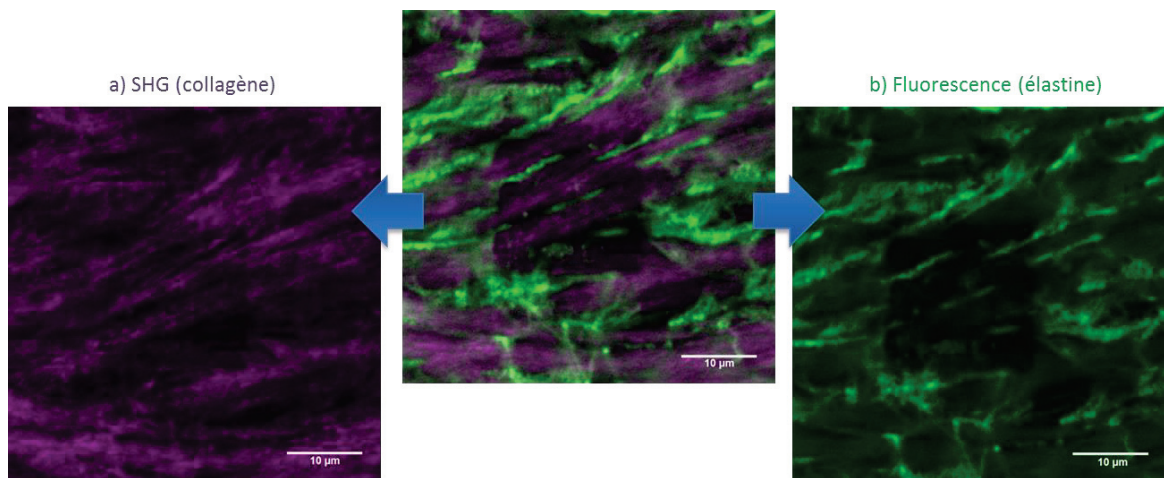
La figure 2.3 montre la grille de test de photoblanchiment, vue sur le canal de fluorescence, où les valeurs de fluence pour chaque carré photoblanchis sont indiquées en jaune. On ne remarque pas d'endommagement de l'échantillon après réalisation de cette grille de carrés à fluence variable. Dans la mesure où le photoblanchiment n'affecte que la fluorescence et non le signal de SHG, il est toujours possible d'observer les fibres de collagène dans la grille après photoblanchiment via les images du canal de SHG. Pour une fluence inférieure à 890  $\text{J}\cdot\text{mm}^{-2}$ , le signal de SHG est toujours nettement présent dans les carrés photoblanchis. Il commence à disparaître pour les carrés avec une fluence au-delà de cette valeur limite, pouvant ainsi indiquer la création d'un trou dans la structure. Cependant, pour ces valeurs extrêmes, le signal SHG ne disparaît jamais totalement mais uniquement sur quelques coupes, indiquant que la destruction du tissu n'est pas totale, même pour les plus grandes valeurs de fluence testées.



## 2. Mesure de champs de déformation locaux lors d'essais de traction uniaxiale

---

Pour les paramètres de photoblanchiment choisis (fluence de  $90 \text{ J}\cdot\text{mm}^{-2}$ ), la figure 2.9 présente à la fois les canaux de SHG (a) et de fluorescence (b) d'un zoom réalisé sur un carré photoblanchi. On remarque que le signal de SHG est toujours présent dans le carré, indiquant que les fibres de collagène n'ont à priori pas souffert du photoblanchiment et apparaissent intactes structurellement parlant. La géométrie du réseau de fibres d'élastine ne semble pas non plus modifiée par ce processus, dans la mesure où, même si la fluorescence a en partie disparue, il est toujours possible d'apercevoir une partie des fibres d'élastine qui semblent avoir conservées leur continuité, comme le montre la figure 2.9b. D'autre part, les fibres d'élastine présentes sur le bord du carré ne sont pas modifiées. Cette opération de zoom a été répétée plusieurs fois au cours du chargement afin de s'assurer que le photoblanchiment n'affectait pas la cinématique des fibres, en observant qualitativement le comportement des fibres de collagène et d'élastine. Les extrémités des fibres d'élastine qui apparaissent sur les bords du carré semblent avoir une cinématique cohérente les unes par rapport aux autres puisque leurs déplacements semblent être corrélés. En ce qui concerne les fibres de collagène, leur comportement n'est pas différent de ce qui avait été observé précédemment sans photoblanchiment.



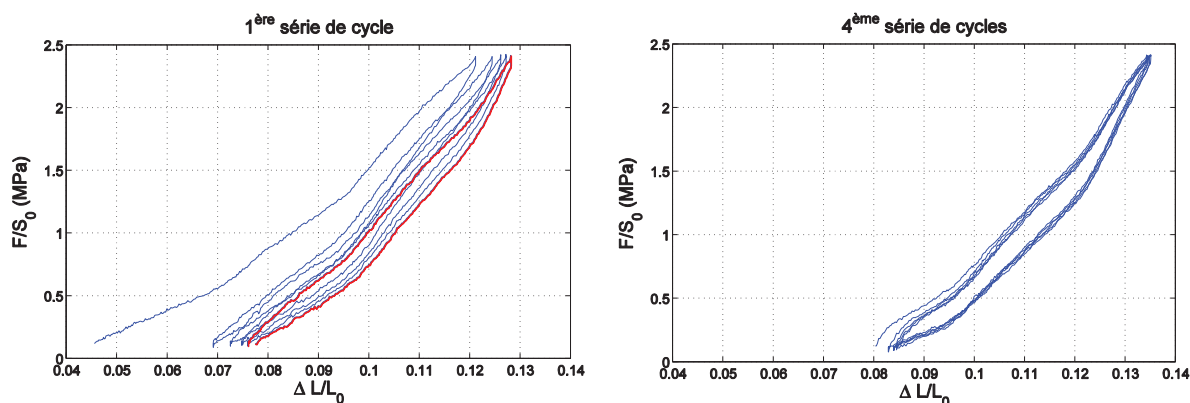
**Figure 2.9 :** Zoom (x10) sur un carré photoblanchi avant chargement ( $F=0.01 \text{ N}$ ). Le champ d'observation est de  $51.2 \mu\text{m} \times 51.2 \mu\text{m}$  pour une résolution de  $0.05 \mu\text{m}/\text{pix}$ . a) Canal de SHG montrant les fibres de collagène. b) Canal de fluorescence montrant principalement les fibres d'élastine et sur lequel apparaît le carré photoblanchi.

## 2. Mesure de champs de déformation locaux lors d'essais de traction uniaxiale

### 2.3.2.2 Impact sur le comportement macroscopique

La figure 2.10 donne un exemple de la première série de 5 cycles avant photoblanchiment (a) et de la série après 3 phases de photoblanchiment (b). Les 5 cycles au sein d'une même série présentent une grande répétabilité. La comparaison des cycles entre différentes séries révèle que les cycles sont également répétables d'une série à l'autre. Le tableau 2.1 présente les valeurs moyennes des distances inter-courbes avec les écarts relatifs associés. La ligne de « référence » correspond au calcul de distance inter-courbe au sein d'une même série. En moyennant les résultats sur les différents essais effectués, on trouve une distance moyenne de 4.0 kPa ( $\pm 0.7$ ) avec un écart relatif de 3.0 kPa ( $\pm 5$ ), que l'on considère comme valeur de référence pour des courbes quasiment identiques.

Excepté le tout premier cycle de la première série de cycles, qui inclue des problèmes de défauts du montage (glissement) et des phénomènes de réorientation importante de fibres, les différents cycles sont extrêmement similaires comme le montre les faibles valeurs de distances inter-courbes et écart type, relativement aux valeurs de référence.



**Figure 2.10 :** a) 1<sup>ère</sup> série de 5 cycles de charges/décharges avant photoblanchiment présenté sur la courbe de contrainte-déformation ingénierues. Le chargement est effectué entre 0.05 N et 1 N à 1mm.min<sup>-1</sup>. Chaque cycle de chaque série est comparé au 5<sup>ème</sup> cycle de cette série (indiqué en rouge). b) 4<sup>ème</sup> série de cycles réalisée après 3 phases de photoblanchiment et montrant la répétabilité de la courbe contrainte-déformation nominales.

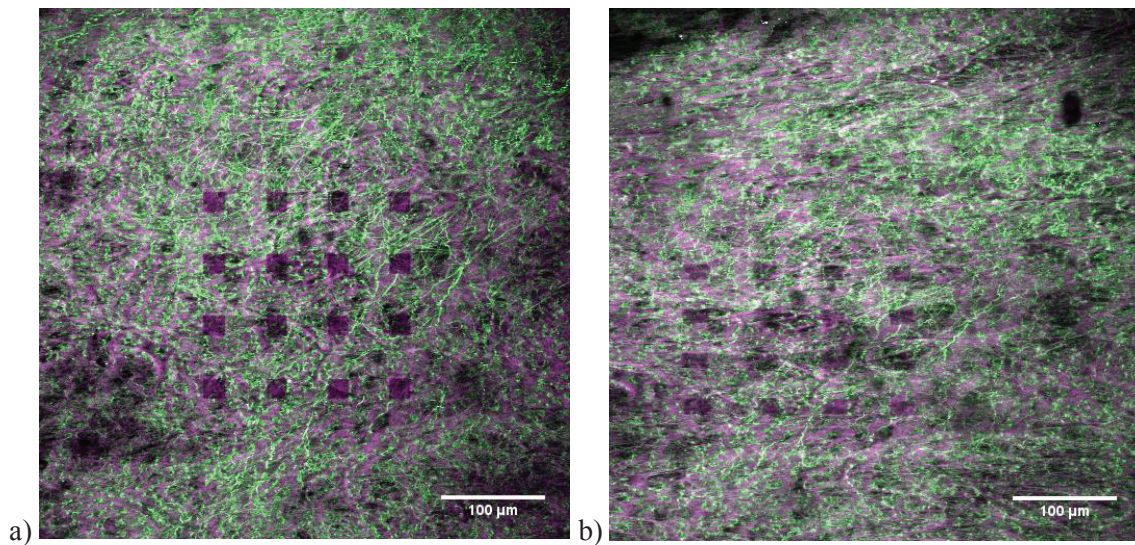
	Distances inter-courbes (kPa)	
	Moyenne (nombre de points≈600, nombre de cycles=5)	Écart relatif (nombre de points≈600, nombre de cycles=5)
<b>Référence</b>	<b>4.0 (SD 0.7) (n=4)</b>	<b>3.0 (SD 0.5) (n=4)</b>
Sans photoblanchiment	5.1 (SD 0.7) (n=4)	3.5 (SD 0.7) (n=4)
1 <sup>ère</sup> grille de photoblanchiment	4.3 (SD 0.5) (n=4)	2.7 (SD 0.1) (n=4)
2 <sup>ème</sup> grille de photoblanchiment	4.2 (SD 0.4) (n=4)	2.7 (SD 0.1) (n=4)
3 <sup>ème</sup> grille de photoblanchiment	4.8 (SD 1.4) (n=4)	2.8 (SD 0.2) (n=4)

**Tableau 2.1 :** Valeurs moyennes et écarts types associés des distances inter-courbes. La ligne référence correspond aux distances inter-courbes au sein d'une même série de cycle et qui représente donc une valeur quantitative typique de distance entre courbes similaires. Les valeurs sont données avec un écart relatif (SD) vis-à-vis de la variabilité inter-échantillons (n=4). Les moyennes et écarts relatifs sont des valeurs moyennes calculées sur  $\approx 600$  points et moyennés sur les 5 cycles au sein d'une même série.

### 2.3.3 Champs de déformations locaux

La figure 2.11 présente un exemple de la grille de photoblanchiment obtenue avant (a), et après chargement (b). On y voit comment la grille de photoblanchiment apparaît sur les images et notamment la présence du signal de SHG (en magenta) dans les carrés photoblanchis. On remarque que le contraste des carrés photoblanchis diminue au cours du chargement et qu'il est donc important de réaliser un photoblanchiment suffisamment contrasté avant de procéder à l'essai de traction.

La figure 2.12 illustre un exemple des champs de déformation locaux durant le chargement. On remarque que la déformation transverse dépasse la déformation longitudinale (dans l'axe de traction) en valeur absolue, avec une déformation transverse maximale de  $-0.311 \pm 0.066$  (n=4), pour une déformation longitudinale maximale de  $0.216 \pm 0.061$  (n=4). La déformation en cisaillement présente quant à elle une grande variabilité parmi les quatre échantillons testés.



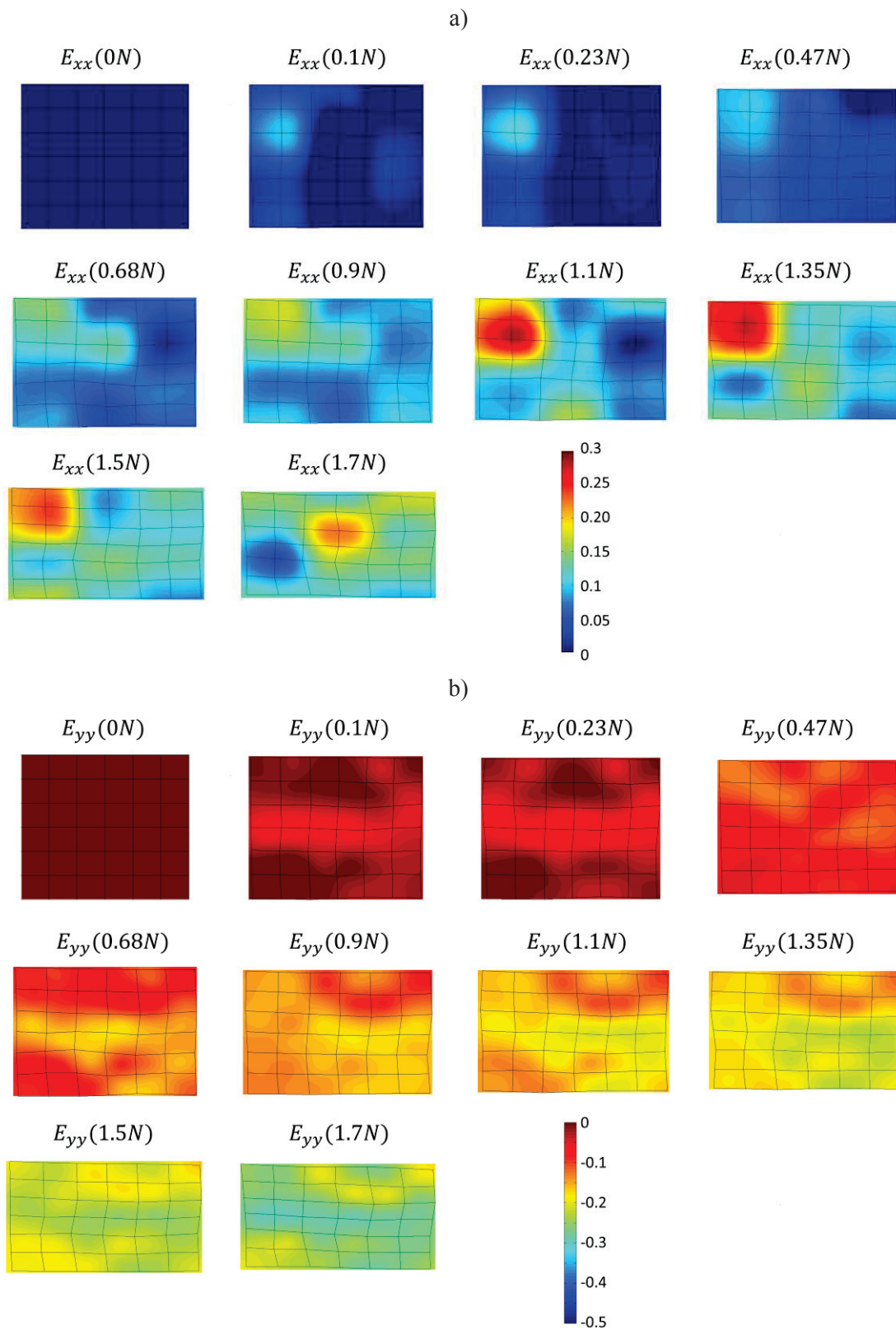
**Figure 2.11** : Grille de photoblanchiment réalisée sur la microstructure de la capsule de foie. a) Avant chargement ( $F=0.06$  N). Dimensions initiales des carrés de la grille :  $20 \mu\text{m} \times 20 \mu\text{m}$  avec  $40 \mu\text{m}$  d'espacement. b) Après chargement ( $F=1.75$  N).

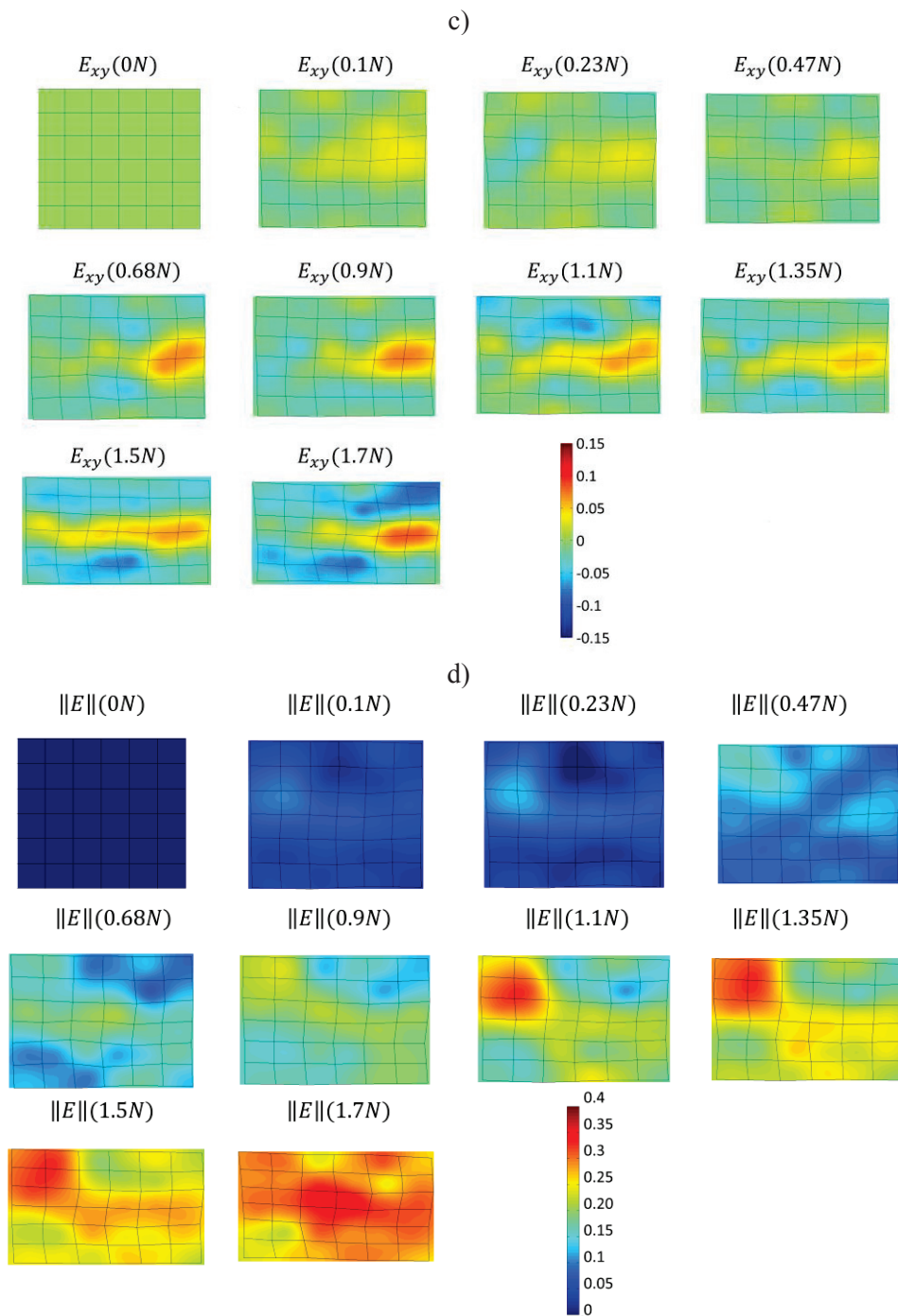
La figure 2.13 présente la comparaison entre les évolutions de la déformation globale (au sens ingénieur) et de la déformation longitudinale locale. Si la tendance est globalement identique pour l'évolution de ces deux déformations avec le chargement, on observe néanmoins un écart entre ces grandeurs, plus ou moins important suivant les échantillons. Cette différence entre déformations globale et locale varie de 1.1% à 40%, indiquant que suivant la localisation, la déformation locale peut être très représentative ou très différente de la déformation globale.

En ce qui concerne le calcul de la déformation dans la direction de l'épaisseur,  $E_{zz}$  (normale au plan de la capsule), les résultats ne sont pas réellement concluants. La figure 2.14 montre l'évolution de  $E_{zz}$  avec le chargement pour les 4 échantillons testés, et met en évidence la forte incertitude sur la mesure. Afin de calculer cette déformation précisément, il est nécessaire de repérer et suivre deux plans distincts dans la pile d'images au cours du chargement mécanique. Malheureusement, le photoblanchiment n'est pas suffisamment localisé et ne marque pas un plan unique dans l'épaisseur, mais une pile d'environ  $6 \mu\text{m}$  de hauteur. Les carrés photoblanchis sont donc finalement des cubes de dimensions  $20 \times 20 \times 6 \mu\text{m}^3$ . Il n'est donc pas possible de se reposer uniquement sur le marquage par photoblanchiment pour repérer des plans particuliers dans l'épaisseur. Par conséquent, ces plans particuliers sont identifiés en relevant des structures ou arrangements de fibres remarquables, afin de s'assurer que l'on considère les mêmes plans à chaque étape du chargement. Cependant, dans la mesure où la résolution en  $Z$  est de 1 image/micron, il est impossible d'atteindre une bonne précision sur la mesure de la position de ces plans. On n'observe donc pas de tendance particulière dans les variations d' $E_{zz}$  mesurées, mais la précision médiocre de nos mesures ne permet pas de conclure sur le comportement véritable du matériau en déformation dans cette direction.



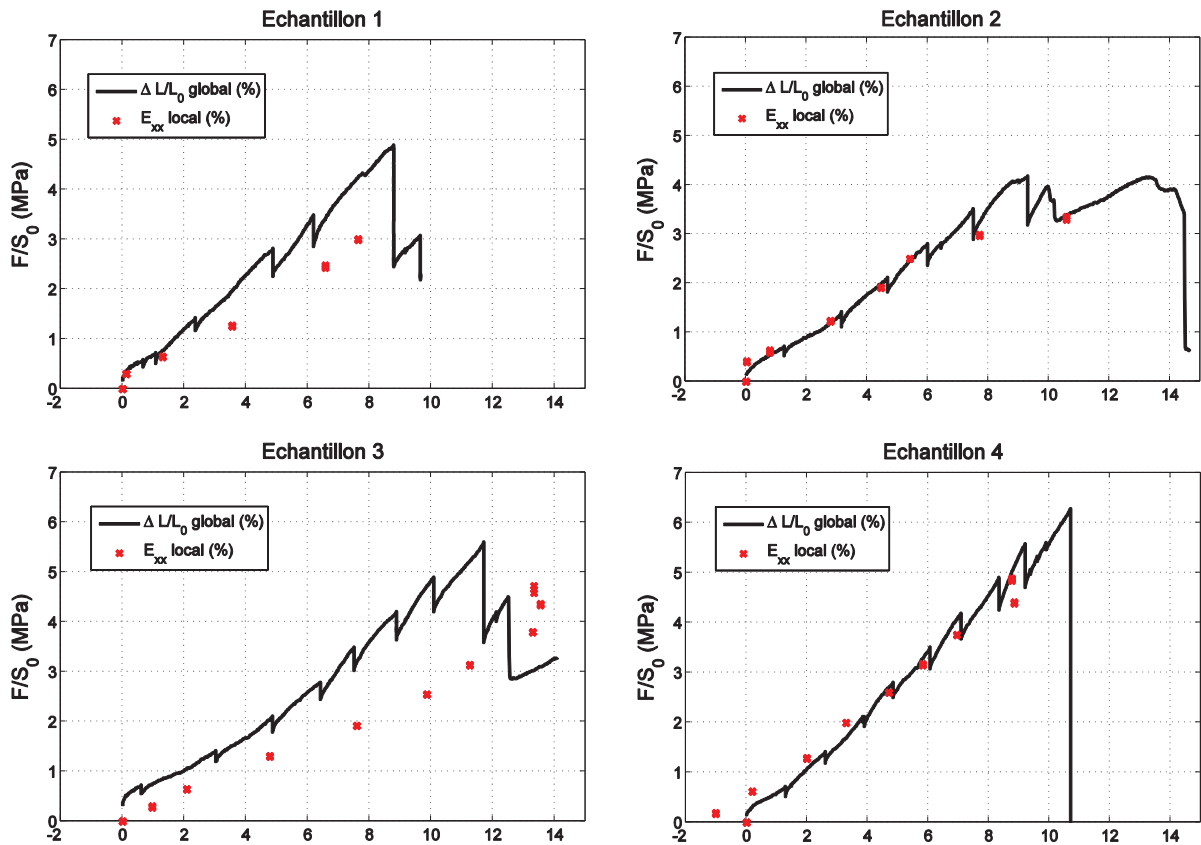
## 2. Mesure de champs de déformation locaux lors d'essais de traction uniaxiale



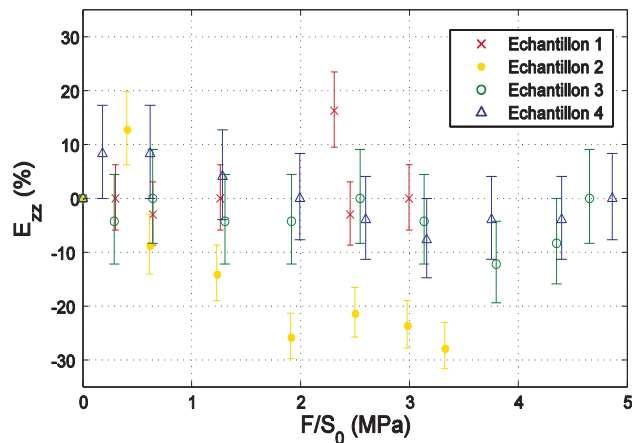


**Figure 2.12 :** Évolution du champ de déformations de Green-Lagrange pendant le chargement illustrant l'hétérogénéité de la déformation locale dans la capsule de foie humaine (échantillon n°3). Chaque grille est associée à un niveau de chargement indiqué par la force moyenne mesurée pendant l'acquisition d'image. Chaque carré représente la valeur de la déformation de Green-Lagrange calculée à un point de Gauss spécifique. a) Déformation longitudinale dans l'axe de traction. b) Déformation transverse. c) Déformation de cisaillement. d) Norme de la déformation ( $\|E\| = (E_{ij} E_{ij})^{1/2}$ )

## 2. Mesure de champs de déformation locaux lors d'essais de traction uniaxiale



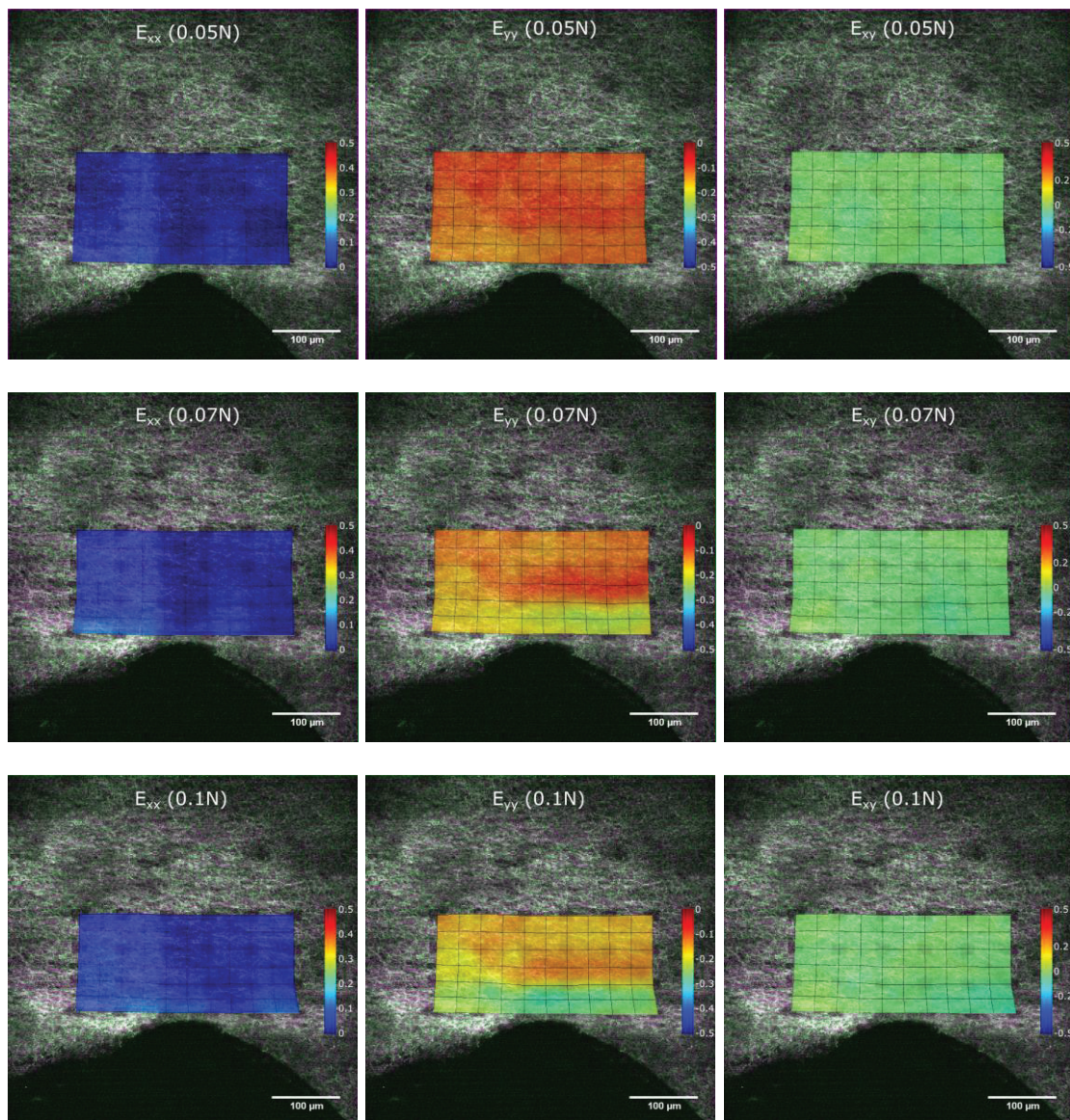
**Figure 2.13 :** Comparaison de la déformation longitudinale globale (en noir) et locale (en rouge) sur les 4 échantillons.  $E_{xx}$  local correspond à la déformation longitudinale locale moyenne calculée sur la grille de photoblanchiment imagée à différents niveaux de chargement.



**Figure 2.14 :** Evolution de la déformation de Green-Lagrange dans la direction de l'épaisseur au cours du chargement pour les 4 échantillons testés. Les barres d'erreur correspondent à l'incertitude sur la mesure.

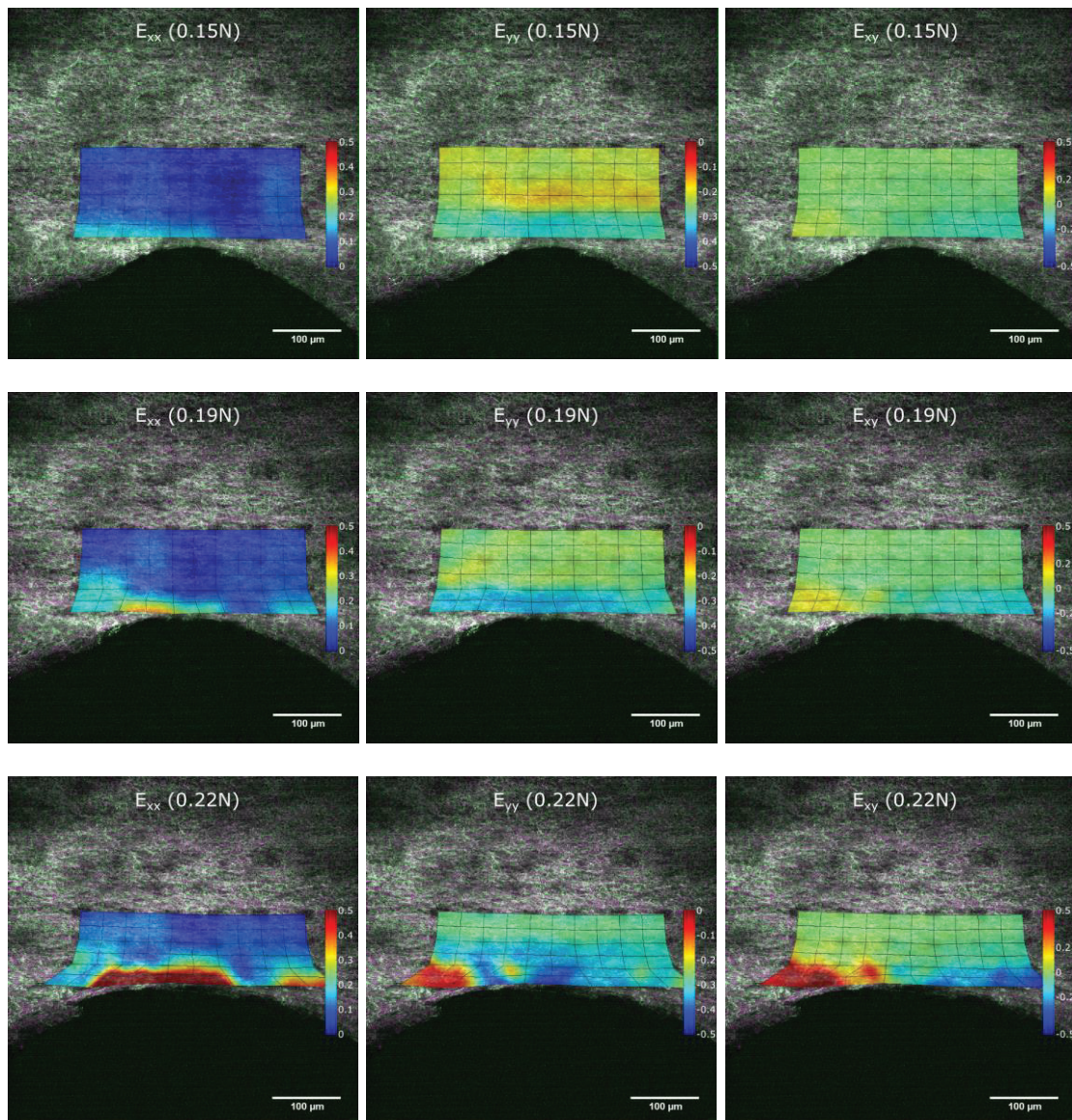
### 2.3.4 Observation locale de la rupture

La figure 2.15 présente l'essai de propagation de déchirure en montrant les déformations de Green-Lagrange calculées à différents instants du chargement et repositionnées sur les images. On constate alors assez naturellement qu'une concentration de déformation se crée au fond de l'entaille. De manière similaire à ce qui avait été observé précédemment, la déformation transverse est plus importante que la déformation longitudinale au cours de l'ouverture de l'entaille, excepté à la fin de l'essai lorsque l'entaille atteint la grille. La déformation longitudinale atteint alors des valeurs critiques au-delà de 100% de déformation, juste avant qu'elle ne soit plus calculable. La déformation en cisaillement permet de localiser l'entaille dans la grille puisqu'elle change de signe de chaque côté de l'entaille.





## 2. Mesure de champs de déformation locaux lors d'essais de traction uniaxiale



**Figure 2.15** : Évolution de la déformation de Green-Lagrange longitudinale (1<sup>ère</sup> colonne), transverse (2<sup>ème</sup> colonne) et de cisaillement (3<sup>ème</sup> colonne), au cours du chargement pour l'essai de propagation de déchirure.

## 2.4 Discussion

L'objectif de cette campagne expérimentale était de développer une méthode de mesure de champs de déformations locaux applicable aux tissus fibreux composés de fibres de collagène et d'élastine. L'observation de la capsule de foie humaine sous microscope confocal biphotonique a aussi permis de fournir une description exhaustive de la microstructure de ce tissu et de l'organisation particulière des deux réseaux de fibres entremêlés.

### 2.4.1 Organisation et évolution de la microstructure au cours du chargement

D'un point de vue microscopique, la capsule de foie est en effet composée de fibres de collagène et d'élastine qui constituent un réseau fibreux très complexe et particulièrement interconnecté. Ceci est observé quel que soit la localisation sur le foie, sauf pour la couche la plus externe où les fibres de collagène ont tendance à apparaître comme « déconnectées » des couches au-dessous formant un ensemble cohérent. Ces fibres présentent souvent un degré de tortuosité très important en formant un amas très « lâche ». Cette déconnexion provient probablement de la faible concentration en fibres d'élastine ou matrice extracellulaire dans cette couche mise en évidence par l'absence de signal de fluorescence. Les connexions entre fibres ne sont donc plus assurées correctement provoquant ainsi le détachement de certaines fibres. Cette faible proportion d'élastine en superficie pourrait s'expliquer par le vieillissement du tissu qui ne renouvelle pas les fibres d'élastine. Ce détachement pourrait également provenir de la friction entre le foie et les organes environnant qui aurait tendance à arracher partiellement certaines fibres de la surface.

Pour les tissus conjonctifs lâches (derme, tendon, etc...), le comportement mécanique aux petites déformations est classiquement défini par les fibres d'élastine, alors que les fibres de collagène et leur dépliement et réorientation progressifs sont responsables du comportement aux grandes déformations (Gizzi et al., 2014; Hill et al., 2012). Cette hypothèse est renforcée par les différentes tailles des fibres qui caractérisent directement leur implication dans le comportement mécanique (Parry, 1988; Roeder et al., 2002). En effet, les fibres d'élastine apparaissent comme des fibres rectilignes courtes qui vont s'engager très rapidement dans le chargement et qui vont être responsables de la connexion des fibres de collagène entre elles et du maintien en position du réseau de fibres de collagène, procurant ainsi au tissu son élasticité. Elles sont également responsables de la résistance aux déformations transverses et en cisaillement par rapport à la direction des fibres de collagène (Henninger et al., 2015).

Le réseau de fibres de collagène présente une structure beaucoup plus rigide qui s'explique par le plus gros diamètre des fibres et à leurs plus grandes raideurs (Poissant and Barthelat, 2012). A cause de leur plus grand degré de tortuosité comparativement aux fibres d'élastine, elles sont impliquées plus tardivement dans le chargement lorsqu'elles sont dépliées et réorientées, et augmente ainsi la raideur globale du tissu aux grandes déformations. Les essais de traction réalisés ici confirment ce mécanisme. La réorganisation du réseau se fait essentiellement aux petites déformations (0-2%) et donc principalement pendant le préconditionnement durant le cyclage. Le comportement par la suite est quasi linéaire (figure 2.13) et correspond au moment où les fibres de collagène sont dépliées et alignées avec la direction de traction, provoquant ainsi une augmentation de la raideur apparente.

## 2.4.2 Méthode de mesure par photoblanchiment

### 2.4.2.1 Influence du photoblanchiment sur la microstructure et le comportement

Les niveaux de fluence utilisés dans cette étude pour le photoblanchiment sont nettement au-dessus des valeurs données dans la littérature pour des expériences de photoblanchiment sur fibres de collagène et d'élastine reportées par Marcu *et al.* (Marcu *et al.*, 1999). Cette différence provient du fait que les études mentionnant le photoblanchiment, se focalisent usuellement sur l'apparition de ce phénomène afin de le détecter et de l'éviter. Dans notre cas, un photoblanchiment plus prononcé est nécessaire à la réalisation de marqueurs présentant un contraste suffisant pour la segmentation. De plus, le type de laser utilisé impact grandement le niveau de fluence. L'excitation multiphotonique est de manière générale plus énergétique et localisée que la microscopie confocale classique à excitation monophotonique (Diaspro *et al.*, 2006; Patterson and Piston, 2000). Les niveaux de fluence à atteindre pour une intensité de photoblanchiment donnée dépendent également des longueurs d'onde utilisées ainsi que du matériau considéré (Marcu *et al.*, 1999).

Malgré ces valeurs de fluence importantes utilisées pour le processus de création de la grille, aucun endommagement apparent de la capsule de foie n'est observé. La présence du signal de SHG dans les carrés photoblanchis indique que les fibres de collagène sont toujours bien présentes dans la zone de photoblanchiment. Nous ne pouvons que supposer que les fibres d'élastine ne sont pas détruites également, même si elles ne sont plus visibles, dans la mesure où les fibres d'élastine présentes sur les bords des carrés ne semblent pas brûlées, coupées ou abimées.

Par ailleurs, aucune initiation de rupture n'a eu lieu dans la grille photoblanchie lors de tous les tests et pré-tests réalisés, ce qui aurait pu être le cas si le laser avait créé des trous ou fragilisé la structure lors du photoblanchiment.

Enfin, la comparaison des formes des cycles de chargements, et notamment le fait que ces cycles ne changent presque pas après chaque phase de photoblanchiment, indique que le comportement global macroscopique du matériau n'est pas modifié par le processus de photoblanchiment. La faible variabilité dans la forme des cycles provient principalement des ajustements du montage et disparaît après quelques répétitions. Aucun effet de la création des grilles de photoblanchiment n'est donc à reporter vis-à-vis de la réponse globale de la capsule, ce qui était principalement attendu, compte tenu du faible volume impliqué dans ce processus.

Les cartes de champs de déformation locaux ne révèlent pas non plus d'endommagement mécanique de la structure lié au photoblanchiment. En effet, l'endommagement provoquerait un motif particulier sur les champs de déformation, notamment en introduisant une différence systématique entre la déformation sur les bords de la grille et à l'intérieur. Si on considère la norme de la déformation, calculée par  $\|\underline{E}\| = (E_{ij}E_{ij})^{1/2}$ , et présentée en figure 2.12d, aucune tendance particulière n'a été relevée pour cette déformation qui apparaît nettement hétérogène sur tous les échantillons. En particulier, la déformation sur les bords de la grille n'est pas systématiquement plus forte qu'à l'intérieur, ce qui aurait été le cas si le tissu avait subi des dégâts mécaniques et que les carrés photoblanchis avaient créé des trous.

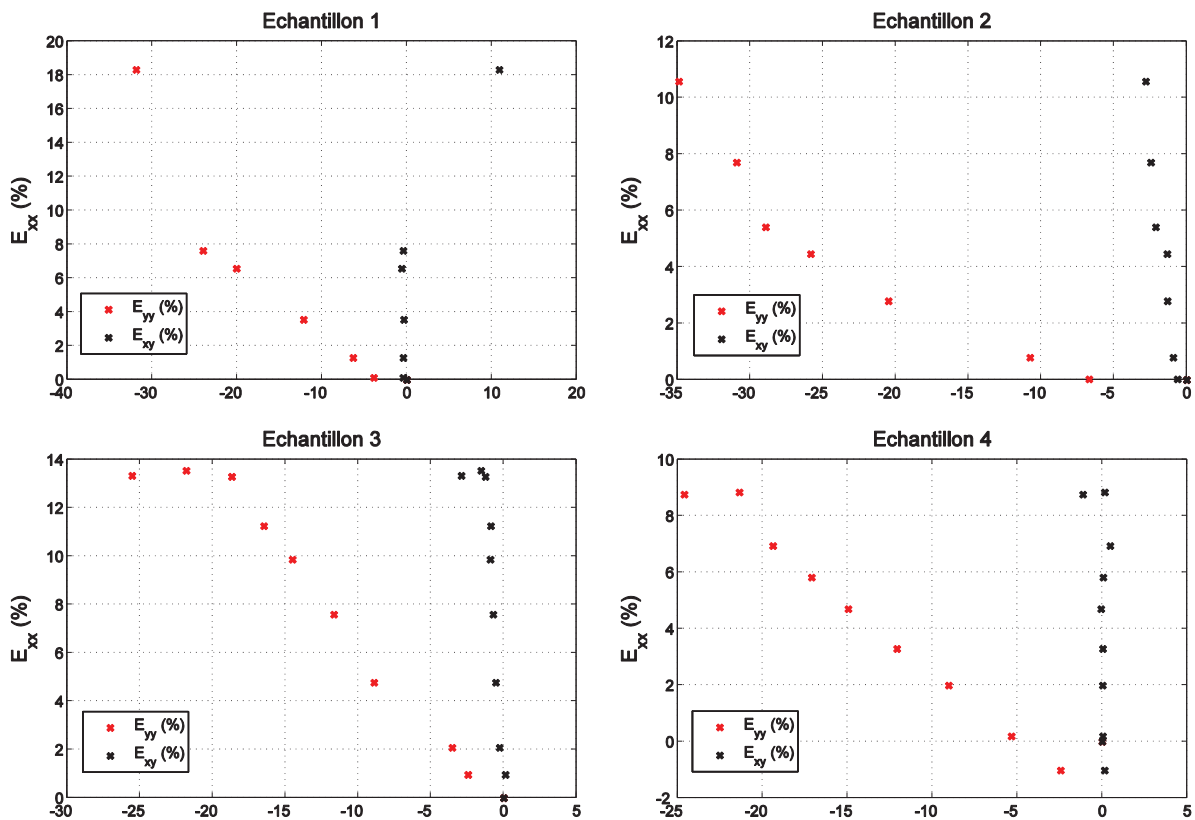
On remarque que les carrés photoblanchis apparaissent quelques fois sur le canal réservé à la SHG à cause de la trop large bande passante du filtre employé pour récupérer ce signal. En effet, ce filtre n'étant pas assez sélectif, une partie du signal d'autofluorescence est captée sur ce canal, révélant ainsi la présence des carrés photoblanchis qui restent toutefois fortement atténués comparativement à leur apparence sur le canal de fluorescence. Cette bande passante trop large cause d'ailleurs d'autres problèmes relatifs à la qualité des images de SHG qui se trouvent légèrement bruitées par le faible signal de fluorescence capté.

### 2.4.2.2 Analyse des champs de déformation locaux

L'analyse des déformations sur les quatre échantillons testés a montré que la déformation transverse  $E_{yy}$  est plus importante que la déformation longitudinale dans la direction de traction  $E_{xx}$  en valeur absolue comme le montre les figures 2.12 et 2.16. Ces résultats soulignent le fait que les effets de structure apparaissent comme prédominants dans le processus d'élongation de la capsule de foie. Ces observations rejoignent les constatations expérimentales faites sur l'étude du mécanisme d'élongation du tendon. Dans ce cas, la cause principale de l'élongation n'est pas l'allongement des fibres. Ainsi, différents auteurs (Goulam Houssen et al., 2011; Sasaki and Odajima, 1995; Screen et al., 2004) soulignent le fait que l'élongation du tendon provient principalement du glissement inter-fibres à différentes échelles, alors que l'allongement propre des fibres ne représente qu'une petite partie dans l'élongation globale. La réorientation et le dépliage des fibres ont aussi un rôle très important dans ce processus d'extension (Goulam Houssen et al., 2011). Il est alors probable de trouver les mêmes mécanismes à l'œuvre pour la capsule de foie qui, contrairement au tendon, présente une anisotropie moins prononcée et un réseau de fibres entremêlées plus complexe et plus « chaotique », induisant ainsi des effets structuraux très difficiles à appréhender.

Ces effets de structures peuvent alors induire des changements locaux de volume. Localement, l'arrangement particulier des fibres avant étirement présente une faible organisation. Durant le chargement, les fibres se réorientent dans la direction de traction, entraînant ainsi une augmentation de la densité de fibre dans le volume considéré. Le volume local peut alors se réduire avec la diminution de l'espace inter-fibres entraîné par la concentration des fibres. Cet espace inter-fibre peut diminuer en considérant le phénomène d'exsudation de fluide, qui correspond à l'expulsion d'eau principalement de la matrice extracellulaire induite par le mouvement des fibres. Plusieurs études (Hannafin and Arnoczky, 1994; Lanir et al., 1988) ont déjà reporté ce phénomène d'exsudation de fluide de la matrice extracellulaire durant le chargement de faisceaux de fibres de collagène, résultant en une perte de fluide par la structure qui entraîne une diminution de l'espace inter-fibrillaire. Screen et Evans (Screen and Evans, 2009) observent eux aussi une forte déformation transverse négative impliquant des changements volumiques pendant le chargement qu'ils associent également à une exsudation continue d'eau en provenance de la matrice extracellulaire. La déformation locale transverse négative se traduit alors par une diminution de la section globale de l'échantillon et induit un état de compression pour les cellules environnantes.

## 2. Mesure de champs de déformation locaux lors d'essais de traction uniaxiale



**Figure 2.16 :** Variation de la déformation moyenne longitudinale locale ( $E_{xx}$ ) par rapport à la déformation transverse moyenne ( $E_{yy}$  en rouge) et la déformation en cisaillement moyenne ( $E_{xy}$  en noir), pour les 4 échantillons testés. Alors que la déformation en cisaillement ne varie pas beaucoup, la déformation transverse augmente et dépasse la déformation longitudinale en valeur absolue.

La déformation en cisaillement  $E_{xy}$  est celle qui présente le plus d'hétérogénéité parmi les différents échantillons testés. Suivant la localisation de la grille de photoblanchiment, les fibres à l'intérieur de la zone d'intérêt peuvent être soumises à du glissement plus ou moins important. Similairement au tendon (Screen et al., 2004), les fibres de collagène ont tendance à glisser les unes par rapport aux autres à l'endroit où les liaisons entre elles sont les moins fortes. La déformation en cisaillement mesurée peut alors atteindre d'importantes valeurs positives ou négatives lorsque le glissement intervient dans la zone de photoblanchiment, ou peut à peine différer de 0 lorsque les liens entre fibres dans cette zone sont suffisamment forts pour empêcher ce glissement.

La déformation locale suivant la direction de traction  $E_{xx}$  ne correspond pas exactement à la déformation globale mesurée via le déplacement des mors, comme le montre la figure 2.13. Ces écarts proviennent en premier lieu de la géométrie de nos échantillons de traction, qui induisent une concentration de déformation dans la section réduite de la forme en I. La déformation locale dans cette région doit alors être plus importante que la déformation globale ce qui est observé sur les échantillons 1 et 3. D'autre part, ces écarts proviennent également des limites de



l'hypothèse de transformation affine qui voudrait que toute la déformation macroscopique soit retransmise de manière homogène aux fibres. Cependant, la complexité de la structure peut induire des irrégularités locales et une inhomogénéité du comportement, qui conduisent à une déformation locale des fibres non-uniforme. Suivant cette même idée, dans la mesure où la méthode de mesure de déformation ne fait pas la distinction entre la déformation issue de l'élongation propre du tissu et celle en provenance de glissement entre fibres, la déformation locale  $E_{xx}$  peut être très importante par endroit. En effet, dans le cas de glissements importants au sein de la grille de photoblanchiment, les déplacements relatifs des carrés augmenteraient significativement par rapport à une zone où la simple élongation des fibres serait mise en œuvre.

Comme le montre la figure 2.14, les résultats de mesure de déformation dans la direction de l'épaisseur  $E_{zz}$  ne permettent pas de conclure quant à une éventuelle évolution particulière de cette déformation au cours du chargement. La méthode consistant à suivre le déplacement de deux plans distincts reste cependant valide et nécessiterait une meilleure résolution en  $Z$  de la pile d'image. Une plus grande densité d'image dans l'épaisseur permettrait alors d'obtenir une plus grande précision sur la mesure de déplacement, jusqu'à la limite optique du microscope. Le problème principal d'une telle approche est qu'elle augmenterait considérablement le temps d'acquisition, entraînant ainsi de plus longues pauses dans le chargement qui mettrait alors en évidence le comportement viscoélastique du matériau en favorisant le fluage.

### 2.4.3 Analyse du mécanisme de déchirement

L'observation des films de rupture réalisés révèle que ce phénomène met principalement en jeu du glissement entre fibres plutôt que de la rupture de fibres à proprement parler. En effet, on constate en suivant la propagation d'entaille que les liens entre fibres de collagène cassent les uns après les autres entraînant des glissements brutaux de fibres. Le réseau de fibres d'élastine est entraîné par les mouvements des fibres de collagène et se morcèle face à ces fortes amplitudes de déplacements soudains. Les fibres d'élastine se rompent donc et suivent la cinématique imposée par les fibres de collagène.

Une des principales difficultés rencontrées lors de ces essais de traction uniaxiale avec propagation d'entaille réside dans les déplacements hors plan. Il s'avère en effet particulièrement difficile de suivre un plan donné tout au long du chargement dans la mesure où même des très faibles variations de la position en  $Z$  de l'échantillon entraînent d'importantes perturbations lors de l'acquisition d'image en temps réel. Il est alors nécessaire de recalibrer la zone d'intérêt en  $Z$  en modifiant la position de l'objectif, en plus du recalage en  $X$   $Y$  de la platine en temps réel, résultant ainsi en une manipulation délicate à réaliser.

Les valeurs des déformations présentées ici, et globalement dans toute cette étude sur les essais de traction sont à considérer de manière qualitative et non quantitative. En effet, la problématique complexe de l'état initial des tissus mous n'a pas été considérée ici. Les déformations sont calculées à partir d'une situation de référence associée à un état de pré-charge faible permettant simplement d'assurer un état plan à l'échantillon de traction, mais ne correspondant en aucun cas à un état de contrainte proche de l'in-vivo. Les conclusions et considérations découlant des comparaisons relatives des déformations restent néanmoins valables. La méthode de mesure par photoblanchiment développée ici permet donc d'étudier les mécanismes de rupture localement en mesurant précisément les déformations dans la zone d'intérêt.

## 2.5 Mesures par corrélation d'images

Les images acquises durant les essais de traction ont également été analysées par corrélation d'images afin de calculer les champs de déplacements et ainsi extraire les champs de déformation locaux de la microstructure. Cette méthode présente alors l'avantage de mesurer des champs de déformations sur la totalité de l'image en se basant sur la texture naturelle des images et ne nécessite donc pas de marquage de la structure.

L'utilisation de techniques de corrélation d'images basées sur le flot optique présente cependant deux difficultés importantes. La première repose sur la nature de la structure imagée qui ne doit pas présenter de périodicité ou de motifs répétitifs. En effet, l'analyse d'une image présentant de tels motifs générerait des erreurs lors du calcul dans la mesure où l'unité élémentaire du motif pourrait être détectée à plusieurs endroits dans l'image déformée et ainsi mener à des champs de déplacement non physiques. Des structures fibreuses présentant une forte anisotropie avec des fibres similaires les unes aux autres rentrent dans cette catégorie d'images inadaptées à la corrélation. Les images SHG de la capsule de foie montrant les fibres de collagène ne sont donc pas particulièrement indiquées pour mener un tel calcul de corrélation dans la mesure où, lorsque les fibres sont réorientées, les images ne présentent plus de motifs suffisamment aléatoires pour s'assurer d'une bonne corrélation. Cependant, le réseau de fibres d'élastine vu sur le canal de fluorescence présente quant à lui une structure chaotique non périodique adaptée à l'utilisation de techniques de corrélation d'images.

La seconde difficulté que présentent ces techniques, réside dans l'analyse d'essais se situant dans le cadre des grandes transformations. Pour que les algorithmes de corrélation d'images fonctionnent correctement et aboutissent à une solution proche du champ de déplacements physiques imposé, la déformation entre les deux images considérée ne doit pas être trop importante de manière à ce qu'une solution au problème de minimisation de la métrique permettant de comparer les images, puisse être trouvée. Pour résoudre ce problème lors d'essais sur matériaux grandement déformables, il faut alors multiplier la prise d'images afin que deux images successives ne présentent pas de gradient de déformations trop important (Wang et al., 2013). On réalise alors une corrélation « pas à pas » entre 2 images déformées et séparées par un seul pas de temps, plutôt que de comparer chaque image déformée à l'image de référence. En composant ensuite les déplacements relatifs obtenus, il est alors possible d'obtenir les champs de déplacements absolus de chaque image déformée par rapport à la configuration de référence. C'est dans ce cadre que se situent nos corrélations d'images puisque la déformation importante de la capsule de foie ne permet pas de mener une corrélation entre chaque image déformée et la première image de référence.

Les tests de corrélation d'images ont été réalisés en collaboration avec le Laboratoire de Mécanique de Lille (LML), avec le concours de Jean-François Witz, en utilisant la plateforme YaDICs de recalage d'image qu'ils ont développée (Seghir et al., 2014). Cette plateforme permet de réaliser des corrélations fortement paramétrables en offrant la possibilité d'utiliser et de combiner différents types de méthodes à différentes échelles pour parvenir à un résultat.

La méthode retenue est une méthode de corrélation globale, où des hypothèses cinématiques sont intégrées afin de déterminer la transformation subie par l'image. Dans une première étape, la corrélation est menée en recherchant uniquement les mouvements de corps rigide afin de les soustraire aux images. En effet, le recalage manuel de la grille de

## 2. Mesure de champs de déformation locaux lors d'essais de traction uniaxiale

---

photoblanchiment entre deux prises d'images engendre un déplacement de corps rigide non négligeable qui complique l'initiation de la corrélation. Ce mouvement de corps rigide est donc éliminé dans un premier temps, et une deuxième séquence de corrélation est alors lancée. Dans cette seconde séquence, on initialise le problème en recherchant une solution basée sur les hypothèses cinématiques associées à la traction uniaxiale. On recherche donc une première solution en négligeant les rotations et le cisaillement. À partir de cette solution, on affine le résultat en recherchant la transformation par une méthode globale de type éléments finis (Besnard et al., 2006).

Toutes ces étapes comprenant l'enchaînement des différentes méthodes sont à chaque fois réalisées à plusieurs échelles suivant une technique de résolution pyramidale (Ibanez et al., 2005). Une solution au problème d'optimisation est en fait recherchée à une échelle globale que l'on réduit petit à petit, pour s'assurer de la convergence vers un minimum global lors de la minimisation de la métrique considérée pour comparer les deux images. Les paramètres utilisés pour la corrélation ainsi que la séquence définie sont présentés en annexe (annexe A).

Il est à signaler que la corrélation d'images ainsi réalisée est effectuée sur les piles d'images acquises par le microscope, permettant ainsi le calcul des déplacements en 3D. Après obtention des champs de déplacements « relatifs » entre deux piles d'images successives, les déplacements doivent être composés afin d'obtenir les déplacements « absolus » entre chaque image déformée et l'image de référence avant chargement. Il faut alors prendre certaines précautions avant de sommer les déplacements successifs, notamment en recalant les grilles sur lesquelles sont calculés les déplacements relatifs de manière à effectuer la sommation des déplacements du même point tout au long du chargement. Ce recalage est effectué via l'algorithme détaillé dans le tableau 2.2.



### *Initialisation pour la première image déformée*

Récupération des positions initiales  $X_0$  des points de la grille du maillage élément finis

Récupération des déplacements calculés de la grille pour la première image  $U_1$

Calcul de la position de la grille déformée par  $X_1 = X_0 + U_1$

### *Algorithme pour l'image déformée i*

Récupération de la position  $X_{0i}$  de la grille du maillage éléments finis réalisé sur l'image i-1

Pour chaque point de la grille  $X_{0i}$  :

    Récupération des déplacements des points de la grille  $u_k$  calculés entre l'image i et i-1

    Vérification que le point considéré n'est pas sorti de la grille initiale  $X_{0i}$  lors de l'étape i-1

    Identification de l'élément de  $X_{0i}$  contenant le point considéré

    Calcul des coordonnées (r,s,t) du point dans l'élément de référence

    Calcul des fonctions de formes  $N_i$

    Calcul du déplacement du point par  $U_i = \sum N_{ki} u_k$

    Actualisation de la position de la grille  $X_i = X_{0i} + U_i$

end

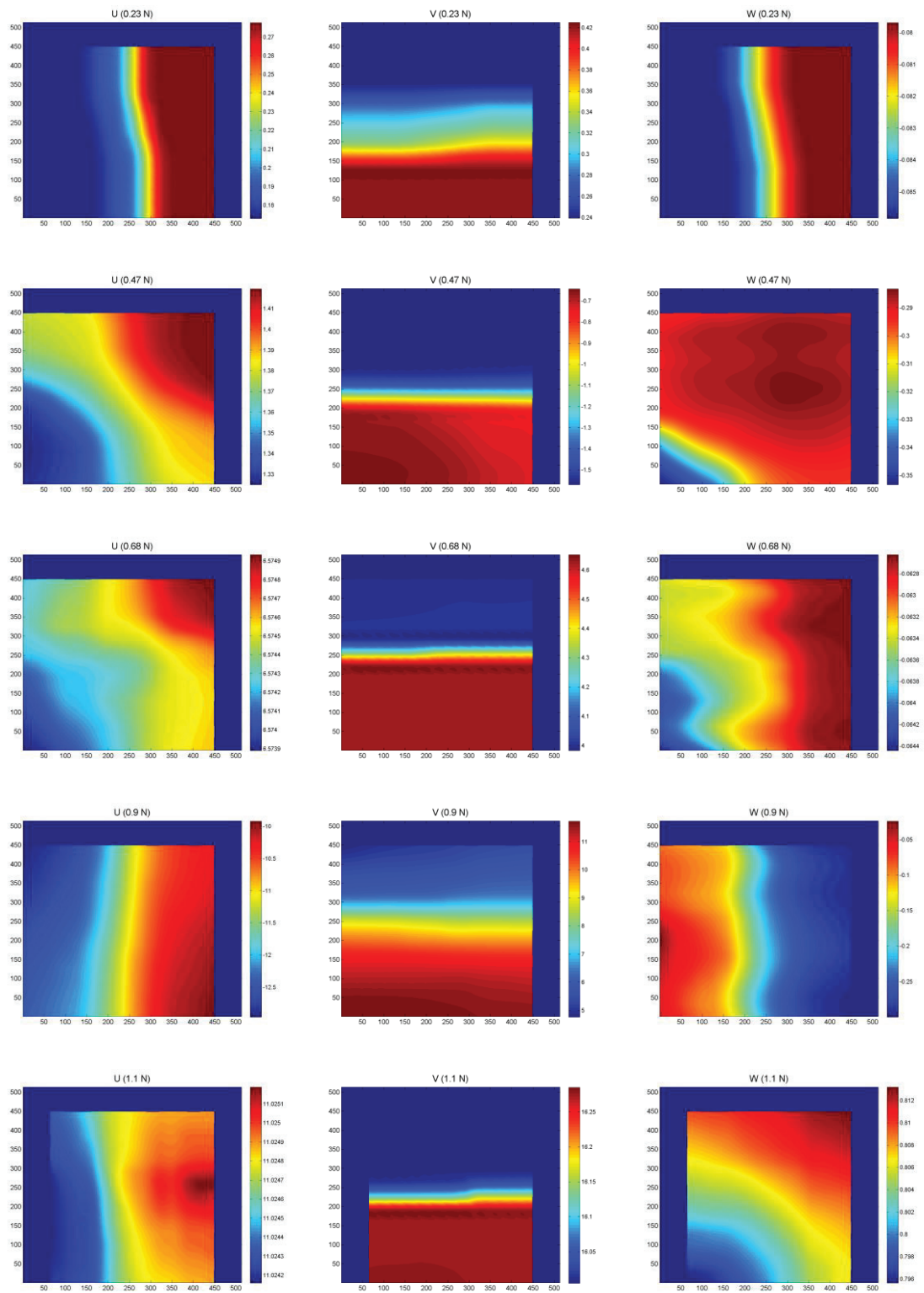
---

**Tableau 2.2 :** Algorithme de recalage pour le calcul des déplacements de l'image déformée par rapport à la première image de référence.

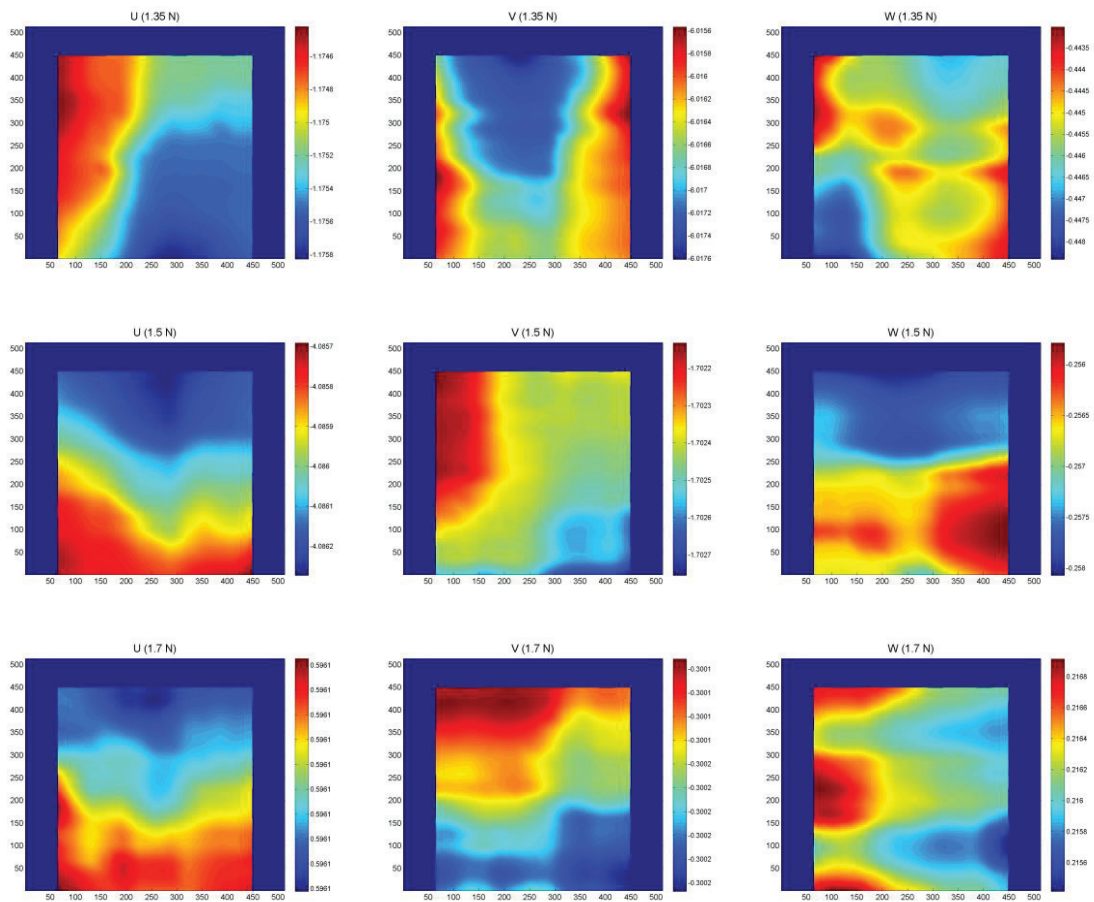
La figure 2.17 présente les champs de déplacements obtenus par cette méthode de corrélation d'images sur un des essais de traction. On remarque tout d'abord qu'au fur et à mesure du chargement la zone sur laquelle s'effectue la corrélation diminue à cause des points qui sortent de la grille initiale. Ces points sont exclus du calcul puisqu'on ne peut plus suivre leurs déplacements. Ce phénomène représente une limite à cette méthode de mesure de déplacements relatifs, car si un point sort de la grille initiale à un moment, il est perdu pour tout le reste de la corrélation. On remarque toutefois que l'aire de la zone de corrélation reste raisonnable et supérieure à l'aire de la grille photoblanchie.

Le principal problème de cette méthode de calcul par corrélation d'images réside dans la validation délicate des résultats obtenus. En effet, le code de corrélation fourni quasi-systématiquement une solution qu'il est alors nécessaire d'évaluer pour juger si cette solution est conforme aux hypothèses du problème posé et donne des résultats physiquement admissibles. Plusieurs méthodes de corrélation avec différents paramètres, ainsi que plusieurs enchainements différents de séquences ont été testés. La solution présentée ici a été jugée la plus « valide » dans le sens où différentes méthodes donnaient des formes de champs similaires, confortant ainsi l'idée d'une convergence vers des résultats physiques en accord avec l'hypothèse d'un essai de traction uniaxiale et non issus purement d'erreurs numériques.

## 2. Mesure de champs de déformation locaux lors d'essais de traction uniaxiale



## 2. Mesure de champs de déformation locaux lors d'essais de traction uniaxiale



**Figure 2.17 :** Champs de déplacements de la microstructure capsule de foie calculés par corrélation d'images sur un des essais de traction, à différents niveaux de chargement.

Les résultats indiquent une uniformité des déplacements U et V dans l'épaisseur, ce qui est conforme aux observations expérimentales, à savoir qu'il n'y a pas de cisaillement entre les couches de fibres, et donc que les déplacements en X et Y sur deux images différentes dans l'épaisseur sont homogènes. Il y a également relativement peu de mouvement hors plan lors de ces essais de traction uniaxiale, conformément à ce qui était attendu. La forme des champs de déplacements en X et en Y correspond aux résultats attendus pour un essai de traction pour les premières images de corrélation (jusqu'à 1.1N).

Pour les dernières images, les champs de déplacements sont plus difficiles à interpréter et certainement moins fiables. Il est en effet difficile d'obtenir des résultats de corrélation pour ces images très déformées. Il apparaît que pour les forts niveaux de chargements, le réseau étant très étiré dans la direction de traction, les images ne présentent plus suffisamment ce caractère aléatoire nécessaire à une bonne corrélation. Les images montrent une très nette anisotropie qui biaise la corrélation. De plus, pour ces niveaux de chargement, le gradient de déformation entre deux images apparaît plus important qu'aux faibles déformations, générant ainsi des difficultés dans le calcul de corrélation, notamment en entraînant des problèmes de convergence.

## 2. Mesure de champs de déformation locaux lors d'essais de traction uniaxiale

---

Globalement, la forte déformation qui existe entre deux images successives représente un défi important pour le succès de la corrélation. L'analyse d'images microscopiques prises à des niveaux de chargement trop différents est donc peu adaptée à la mesure par corrélation d'images. Wang *et al.* (Wang et al., 2013) parviennent pourtant à mesurer des champs de déplacements par DIC (Digital Image Correlation) sur leurs images de fluorescence d'artères issus de microscopie confocale biphotonique. Ils soulignent toutefois l'importance d'avoir de faibles incréments de déformation entre les images pour que cette analyse soit possible.

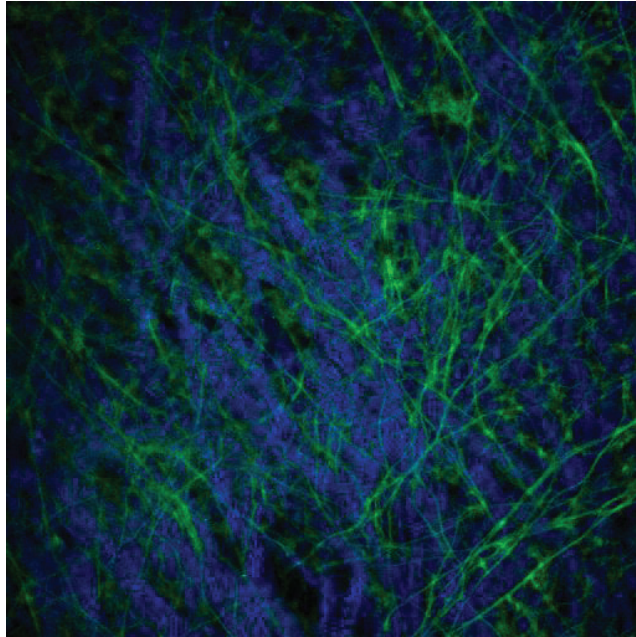
La suppression du mouvement de corps rigide avant de lancer la corrélation aide l'algorithme à converger dans la mesure où l'initialisation du problème est plus aisée. La plateforme de corrélation d'images utilisée apparaît comme un outil formidable car extrêmement paramétrable. Elle permet notamment de mettre en jeux différentes stratégies pour parvenir à la solution du problème, ce qui permet d'envisager de se confronter à des problèmes de corrélation complexes sur des images variées. Les résultats présentés ici sont donc préliminaires, et d'avantage de tests sont nécessaires afin de valider cette méthode et de trouver la séquence de corrélation optimale à l'analyse de nos images.

### ***Bilan de la méthode de mesure de champs de déformation par photoblanchiment :***

*Une méthode de mesure de champs de déformation locaux à partir d'images de microscopie confocale multiphotonique, via la création de marqueurs photoblanchis, a été développée. La méthode présentée ici permet de mesurer avec précision les champs de déformation locaux sur la microstructure. Les modifications moléculaires engendrées par le photoblanchiment ne semblent pas impacter les propriétés mécaniques, ni la cinématique du réseau de fibres. Ces changements influent donc à une échelle trop petite pour avoir des conséquences sur la mesure, conférant ainsi à la méthode son caractère non-destructif.*

*La méthode de mesure développée permet d'obtenir des informations quantitatives sur des phénomènes locaux tels que la rupture en mesurant des champs de déformation localisés dans les zones d'intérêts. Il s'agit maintenant de l'utiliser pour analyser quantitativement l'état micromécanique auquel est soumise la capsule de foie lors d'une sollicitation proche de ce qu'elle peut rencontrer en cas de choc ou traumatismes.*

*D'autres méthodes ont été envisagées afin de mesurer quantitativement l'état micromécanique, notamment la corrélation d'images. Les résultats préliminaires mettent en évidence les difficultés rencontrées lors du travail sur le type d'images réalisées, et notamment soulignent l'importance du problème que génère un trop grand écart de déformations entre les deux images considérées.*



---

# Chapitre 3

## Essais de gonflement sur capsule de foie sous microscope confocal multiphoton

*Dans ce chapitre, le protocole d'essais de gonflement sur capsule de foie est présenté. Un montage couplant l'observation de la microstructure au chargement mécanique biaxial a été développé. La méthode de mesure de champs de déformations, basée sur le photoblanchiment, décrite au chapitre précédent est utilisée pour caractériser l'état mécanique local. Le processus de réorganisation du réseau de fibres au cours du chargement est également analysé.*

### Sommaire

---

<b>3.1</b>	<b>Introduction</b> .....	<b>76</b>
<b>3.2</b>	<b>Matériels et méthodes</b> .....	<b>77</b>
3.2.1	Préparation des échantillons.....	77
3.2.2	Chargement en pression et mesure de déplacement .....	78
3.2.3	Paramètres d'imagerie.....	80
3.2.4	Mesure de champs de déformations .....	81
3.2.5	Paramètres à rupture.....	82
3.2.6	Mesure d'orientations des fibres .....	82
<b>3.3</b>	<b>Résultats</b> .....	<b>84</b>
3.3.1	Déformation locale et prédicteur de rupture.....	84
3.3.2	Distributions d'orientation .....	86
3.3.3	Observation de la rupture .....	90
<b>3.4</b>	<b>Discussion</b> .....	<b>90</b>

---



## 3.1 Introduction

Le protocole de traction uniaxiale présenté dans le chapitre 2 a permis la mise au point d'une méthode de mesure de champ de déformation local par photoblanchiment. Ce protocole a également permis d'observer la cinématique des fibres de collagène et d'élastine lorsque le réseau de fibres est soumis à un chargement uniaxial, ainsi que de déterminer des premières propriétés mécaniques à rupture de la capsule de foie. Cependant, le chargement uniaxial se trouve être assez éloigné de ce à quoi la capsule risque d'être exposée in-vivo en cas de traumatisme de type impact. En effet en cas de choc, la surpression induite dans le foie crée une sollicitation multiaxiale de la capsule hépatique qui se rapproche fortement d'un chargement en gonflement (Sparks, 2007). Dans la mesure où la réponse du matériau dépend grandement du type de sollicitation, et que les chargements biaxiaux et uniaxiaux induisent des comportements très différents (Liao et al., 2005; Röhrnbauer et al., 2013), il est préférable de tester les matériaux, ainsi que d'identifier des paramètres mécaniques, sur des essais proches de sollicitations in-vivo.

A l'échelle macroscopique, les essais de gonflements apparaissent donc comme une bonne solution pour tester les matériaux de types membranes, puisqu'ils induisent un état de contrainte biaxial, dans le cas où les contraintes radiales sont négligeables devant les contraintes dans le plan, ce qui en pratique est valide pour les échantillons de faible épaisseur (Flügge, 1960). Ce type d'essai est usuellement utilisé pour tester de fines membranes de métaux ou de polymères (Çakmak et al., 2014; Rivlin and Saunders, 1951; Tsakalakos and Jankowski, 1986). On identifie les propriétés mécaniques du matériau à partir de la forme extérieure du dôme formé ou en suivant le déplacement du sommet et en idéalisant la géométrie. Ce procédé a été transposé aux tissus biologiques pour les avantages cités précédemment, et développé pour déduire les propriétés mécaniques à partir du champ de déplacement mesuré directement sur une grille de marqueurs ou par stéréocorrélation. Ainsi, beaucoup de tissus différents ont été testés par gonflement tel que la peau (Tonge et al., 2013a), la membrane fœtale (Joyce, 2009; Perrini et al., 2013), le péricarde (Hildebrandt et al., 1969), la sclère (Myers et al., 2010) mais aussi la capsule de foie (Brunon et al., 2011).

Cependant, parmi toutes ces études mettant en œuvre du gonflement sur tissus biologiques, peu prennent en compte des considérations sur la microstructure et sa réorganisation face à ce type de chargement. Tonge *et al.* (Tonge et al., 2013a, 2013b) utilisent un test de gonflement pour étudier l'anisotropie de la peau. En effet, ils identifient des directions de raideurs variables (associées à la direction de fibres) via les axes des ellipsoïdes formées par le gonflement d'échantillons circulaires. Le petit axe de l'ellipsoïde est alors associé à la direction de plus forte raideur, et donc à la direction principale des fibres de collagène. Les auteurs obtiennent ainsi des informations sur l'organisation microstructurale du tissu, sans l'imager directement à l'échelle microscopique.

Ici, nous proposons un essai de gonflement de capsule de foie couplé à l'observation directe de la microstructure pour étudier le comportement mécanique du tissu sous chargement équilibriaux et non-équilibriaux. Les paramètres mécaniques à rupture seront donc dérivés d'un chargement plus proche de l'in-vivo que lors du protocole de traction uniaxiale. L'observation de la microstructure permettra également l'identification de paramètres micromécaniques tels que l'orientation privilégiée des fibres et leur arrangement particulier.

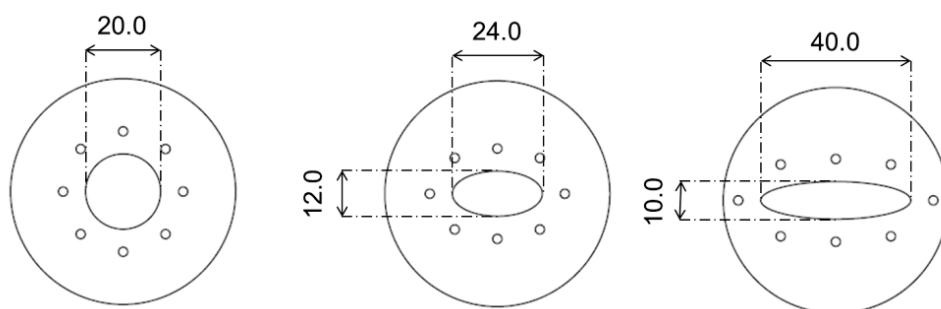


## 3.2 Matériels et méthodes

### 3.2.1 Préparation des échantillons

Dans le cadre de ce protocole expérimental, les essais ont été réalisés sur des échantillons provenant de 4 foies prélevés au laboratoire d'anatomie de la faculté de médecine de l'Université Lyon 1 via le programme français de don volontaire de corps à la science. La capsule a été retirée délicatement des foies sur chaque lobe (lorsque c'était réalisable), en la décollant du parenchyme sur la plus grande zone possible. Ces grands morceaux de capsule sont ensuite congelés à  $-20^{\circ}\text{C}$  jusqu'au jour du test. Les pré-essais de traction uniaxiaux couplés à l'observation au microscope, ainsi que les essais préliminaires de gonflement ont révélés que la congélation n'avait pas d'impact notable sur la capsule, tant en termes de propriétés mécaniques qu'au niveau de l'organisation de la microstructure.

Le jour du test, la capsule de foie a été décongelée à température ambiante, puis découpée suivant trois formes d'échantillons différentes afin de varier les conditions de chargement. Des échantillons circulaires ont été réalisés (désignés dans la suite par R1) pour un chargement équibiaxial, ainsi que deux formes d'échantillons elliptiques avec différents rapports de longueur entre petit axe et grand axe pour un chargement non-équibiaxial (désignés par R2 pour un rapport 2 entre petit axe et grand axe et R4 pour un rapport 4). La figure 3.1 montre les dimensions des pièces mécaniques serrant les échantillons et déterminant les conditions aux limites de l'essai. La forme des échantillons est déterminée par les pré-trous réalisés pour faciliter le passage des vis de serrage entre le support inférieur et la couronne supérieure. Durant toute la préparation et jusqu'au montage sur le dispositif de gonflement, les échantillons sont gardés hydratés dans du sérum physiologique. L'origine et les géométries des différents échantillons testés sont récapitulés dans le tableau 3.1. Après découpe, ils sont disposés sur un joint de silicone chargé d'assurer l'étanchéité, et serrés entre le support inférieur et la couronne supérieure comme indiqué sur la figure 3.2c.



**Figure 3.1** : Formes et dimensions (mm) des supports inférieurs sur lesquels sont posés les échantillons et déterminant les conditions aux limites de l'essai.

### 3. Essais de gonflement sur capsule de foie sous microscope confocal multiphoton

		Foie 1 (♂ 89 ans)	Foie 2 (♂ 86 ans)	Foie 3 (♀ 89 ans)	Foie 4 (♀ 97 ans)
Nombre d'échantillons	R1	1	6	4	3
	R2	6	0	3	2
	R4	2	0	2	3
Mesures d'orientation		✓	✓	✓	✓
Mesure de champs de déformation				✓	✓

**Tableau 3.1 :** Récapitulatif du nombre d'échantillons testés par foie et par forme. Les mesures de champs de déformations n'ont été effectuées que sur les échantillons des foies 3 et 4.

#### 3.2.2 Chargement en pression et mesure de déplacement

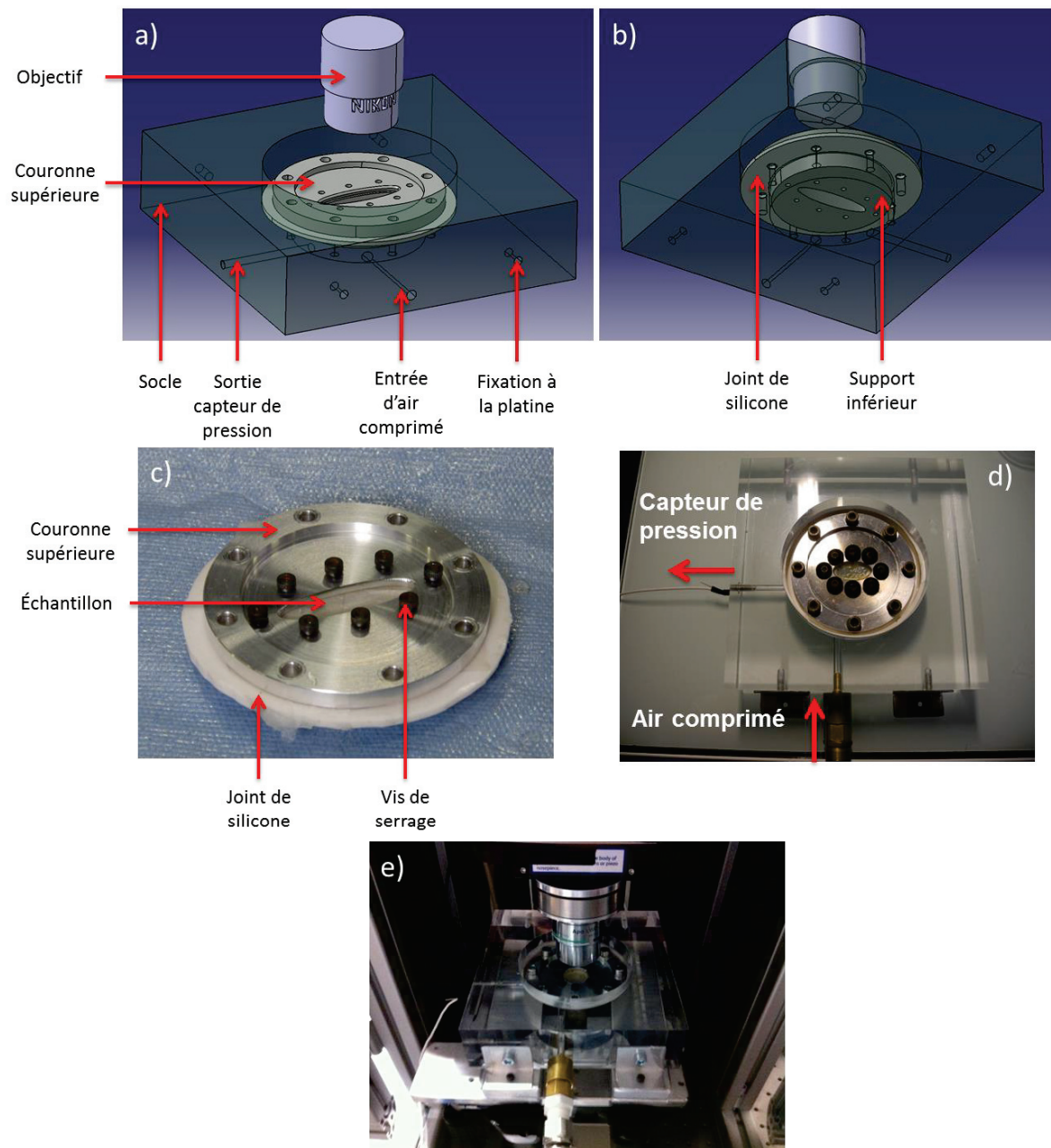
L'ensemble support inférieur, échantillon et couronne supérieure est monté dans le socle de gonflement en plexiglas et placé sous le microscope confocale biphotonique (figure 3.2). De manière à assurer l'hydratation de l'échantillon tout au long de l'essai, et pour permettre d'imager avec l'objectif à eau du microscope, on recouvre l'échantillon de sérum physiologique dans la partie supérieure du socle.

Le gonflement est effectué par air comprimé. Les essais préliminaires avec gonflement à eau se sont montrés peu concluants à cause de la perméabilité de la capsule. En effet, avec de l'eau, il est plus difficile de stabiliser la position de la capsule à chaque incrément de pression, condition pourtant nécessaire pour l'imagerie. Avant le chargement, une bonbonne d'air comprimé à 6 bars est remplie afin de délivrer finement des incréments de pression de manière très graduelle et sans à-coup grâce à une valve de réglage. Une seconde valve est placée sur le circuit de manière à couper rapidement l'arrivée d'air après rupture, et ainsi éviter les projections de sérum physiologique.

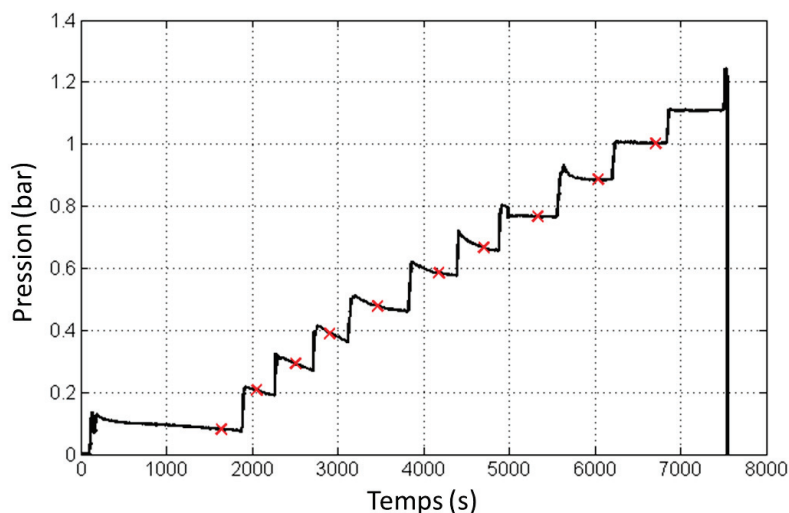
L'objectif du microscope est doté d'un capteur de position relié aux vis micrométriques qui permet la mesure du déplacement vertical du sommet de la capsule avec une précision de  $\pm 0.01 \mu\text{m}$ . L'origine pour la position en Z (direction verticale) a été choisie pour correspondre à l'état où la capsule n'est presque pas chargée ( $P \approx 0.02\text{b}$ ), juste suffisamment pour assurer une courbure uniforme et positive du dôme de gonflement. Un reset du capteur de pression a également été réalisé dans cet état. Les mesures de pression données sont relatives par rapport à la pression atmosphérique. La fréquence d'acquisition de la pression a été fixée à 100 Hz, et notre capteur nous permet de mesurer une pression à  $\pm 1 \text{ mbar}$ .

Les échantillons sont chargés jusqu'à rupture par des incréments de pression de 0.1 bar suivis de pauses de 3-5 min pour l'imagerie après la stabilisation de la position et de la pression. Un exemple de courbe de chargement est présenté sur la figure 3.3 où l'on peut voir l'évolution de la pression en fonction du temps. La position en Z (verticale) du sommet de la capsule est relevée à chaque incrément de pression.

### 3. Essais de gonflement sur capsule de foie sous microscope confocal multiphoton



**Figure 3.2 :** Montage expérimental : a-b) Schéma d'ensemble. c) Serrage de l'échantillon entre la couronne supérieure et le support inférieur. d) Insertion de l'échantillon serré entre les mors dans le socle de gonflement. e) Positionnement de l'ensemble du montage sous le microscope confocal biphotonique



**Figure 3.3 :** Courbe de chargement montrant l'évolution de la pression en fonction du temps. Les croix rouges correspondent aux débuts d'acquisition d'images qui durent entre 3 et 5min.

#### 3.2.3 Paramètres d'imagerie

Les images sont réalisées par le microscope confocal biphotonique (NIKON, A1R MP PLUS®) de l'équipex IVTV (Ingénierie et Vieillessement des Tissus Vivants ANR-10-EQPX-06-01). Comme lors du protocole de traction uniaxiale, la longueur d'onde d'excitation a été réglée à 850 nm et deux bandes de longueurs d'onde d'émission ont été récupérées via des filtres : la bande 400-492 nm afin de collecter le signal de seconde harmonique (SHG) généré par les fibres de collagène et la bande 500-550 nm afin d'acquérir le signal de fluorescence, et notamment l'autofluorescence de l'élastine.

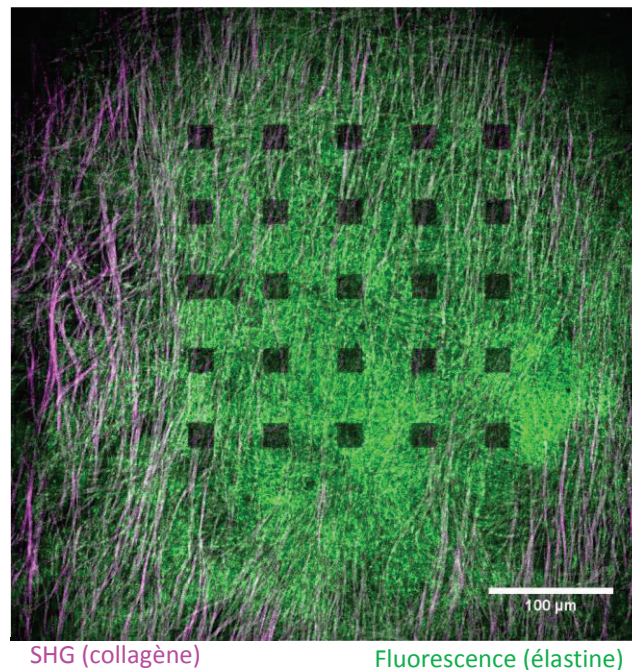
Le microscope permet l'acquisition d'un champ de  $507 \times 507 \mu\text{m}^2$ . Un choix différent a été fait par rapport au protocole de traction du chapitre 2, en ce qui concerne la qualité des images. En effet, la vitesse de scan a été réglée à 2s par image (contre 1s par image pour la traction uniaxiale), ce qui permet d'atteindre une résolution de  $0.5\mu\text{m}$  par pixel en sacrifiant cependant quelque peu la durée d'imagerie. Ces nouveaux réglages apparaissent comme le meilleur compromis entre la durée d'acquisition et la qualité d'image permettant un traitement d'image plus efficace.

L'épaisseur entière de la capsule est imagée à chaque niveau de pression, ce qui résulte dans l'obtention de piles d'images de 40 à 80  $\mu\text{m}$  d'épaisseur. Un pas initial de  $0.4 \mu\text{m}$  est choisi entre chaque image de la pile, qui correspond à la limite basse du moteur pas à pas du microscope responsable du déplacement en Z de l'objectif. Cependant, comme la capsule de foie peut ne pas être parfaitement immobile durant toute la durée du processus d'imagerie, et continuer de bouger vers le haut ou le bas, une correction de ce pas est faite en post-traitement. L'épaisseur de la capsule (mesurée avant de lancer l'imagerie) est alors simplement divisée par le nombre total d'images prises. Au final, après calcul en post traitement, le pas varie entre  $0.35 \mu\text{m}$  et  $0.5 \mu\text{m}$  pour ces essais.

### 3.2.4 Mesure de champs de déformations

Suite au premier incrément de pression (*i.e.* pour une pression de 0.1 bar), le sommet de la capsule est assez précisément repérable en recherchant le plus haut signal détectable par le microscope. On positionne alors notre région d'intérêt (ROI) sur le sommet, et, comme proposé au chapitre 2, 25 carrés, formant une grille de 5x5, sont photoblanchis, pour servir de marqueurs intrinsèques qui permettent la mesure d'un champ de déplacements dans cette zone (figure 3.4). L'origine de la mesure de déformation est donc choisie pour une pression de 0.1 bar, ce qui est proche de la pression intra hépatique physiologique (50-60 mmHg soit 0.067-0.08 bar).

Les déplacements dans le plan sont calculés à partir des positions en XY du centre de ces carrés, collectées à chaque niveau de pression. En ce qui concerne les déplacements verticaux (en Z), les plans d'apparitions et de disparitions dans la pile d'image de ces carrés sont relevés à chaque étape du chargement, dans la mesure où le photoblanchiment n'est pas très localisé et marque les carrés sur une dizaine de  $\mu\text{m}$  de hauteur dans la pile. Un plan moyen à ces deux plans limites d'apparition et de disparition est alors défini. En suivant l'évolution de ce plan moyen, les déplacements en Z de ces marqueurs sont calculés. Les composantes du tenseur des déformations de Green Lagrange sont ensuite dérivées de ces déplacements et interpolées sur toute la zone définie par la grille, via une interpolation par éléments finis en utilisant les éléments membranaires Belytschko-Tsay à intégration complète de LS-DYNA®. Finalement un changement de repère est appliqué pour obtenir la déformation dans la direction méridionale ( $E_{\theta\theta}$ ) et circonférentielle ( $E_{\varphi\varphi}$ ).



**Figure 3.4 :** Sommet de la capsule de foie vue par microscopie confocale biphotonique montrant la grille de photoblanchiment ( $P = 0.1\text{b}$ ). Le signal de fluorescence (en vert) montre les fibres d'élastine tandis que les fibres de collagène apparaissent sur le signal de Génération de Seconde Harmonique (SHG en magenta). Les dimensions initiales des carrés photoblanchis sont de  $20\ \mu\text{m}$  de côté, espacés de  $40\ \mu\text{m}$ .



#### 3.2.5 Paramètres à rupture

Pour tous les échantillons, les valeurs ultimes de déformation moyennes et maximales, *i.e.* les dernières valeurs calculées sur les images prises juste avant rupture, ont été relevées. Leurs dispersions ont ensuite été analysées via le calcul d'un écart type relatif (valeur absolue du coefficient de variation, calculé comme le rapport entre l'écart type et la moyenne). D'autres grandeurs ont également été considérées, afin de déterminer le prédicteur de rupture le plus fiable comme étant la variable à rupture qui variait le moins entre les échantillons. Ainsi, les valeurs à rupture de pression et d'altitude du sommet ont également été collectées, permettant le calcul de la tension ( $N_{\theta\theta}$ ) au sommet, d'après les formules données dans Flügge 1960 (Flügge, 1960) où :

$$N_{\theta\theta} = \frac{P r}{2}$$

avec  $P$  la pression et  $r$  le rayon de courbure donné dans le cas d'un ellipsoïde de demi grand axe  $a$  et demi petit axe  $b$  par :

$$r = \frac{a^2}{(a^2 \sin^2 \theta + b^2 \cos^2 \theta)^{1/2}}$$

Au sommet de la capsule,  $\theta = 0$ , et donc :

$$r = \frac{a^2}{\Delta z}$$

avec  $\Delta z$  l'altitude du sommet.

Ce calcul d'écart type relatif a été mené sur tous les échantillons pour lesquels la dernière prise d'image était proche de l'apparition de la rupture. En effet, dans certain cas, et souvent lorsque l'échantillon montait haut en pression, la stabilisation de la position n'était pas toujours possible, et il était donc impossible d'imager la capsule dans ces états. Pour ces échantillons, la dernière mesure de champ de déformation était assez éloignée de la rupture, et a été exclue de l'analyse. Les échantillons inclus dans ce calcul sont ceux pour lesquels la pression lors de la dernière prise d'image correspondait au moins à 75% de la pression à rupture ( $n=11$ ).

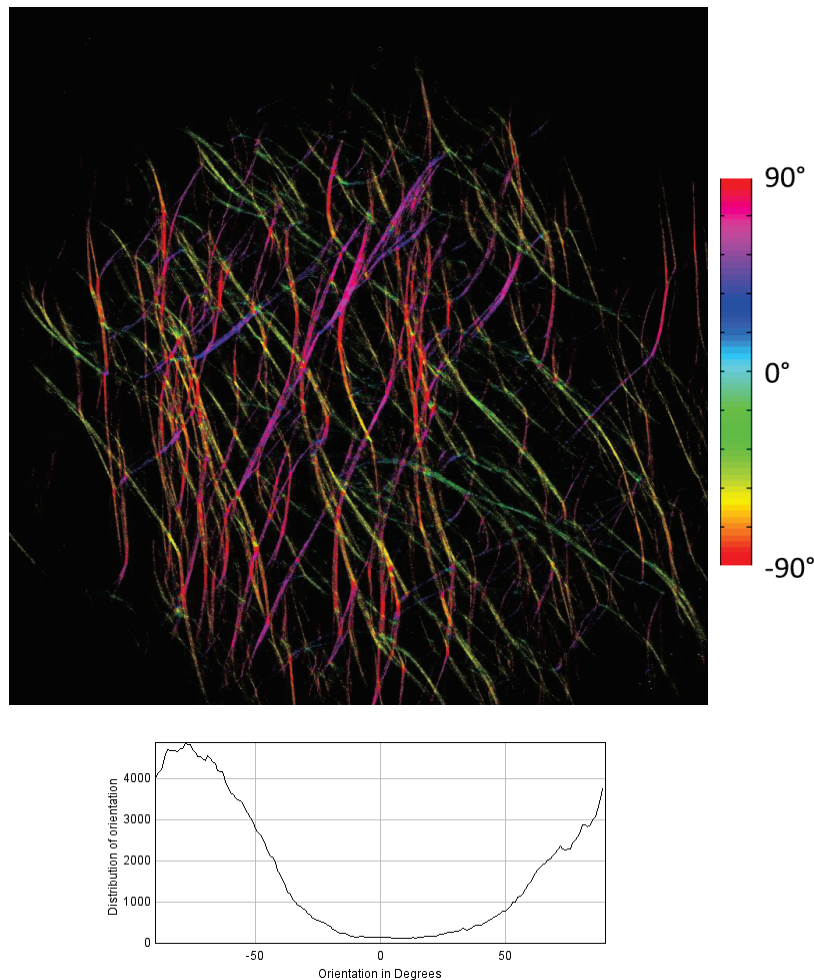
#### 3.2.6 Mesure d'orientations des fibres

En ce qui concerne le calcul d'orientation des fibres, l'analyse est menée uniquement sur les images provenant du canal de SHG, *i.e.* sur les fibres de collagène. Les fibres d'élastine ne présentent pas d'orientations particulières et sont organisées en un réseau plus ou moins isotrope quel que soit l'emplacement sur l'échantillon ou dans l'épaisseur. Le plugin OrientationJ d'ImageJ est utilisé pour réaliser cette analyse d'orientation, en suivant la méthode décrite dans Rezakhaniha *et al.* (Rezakhaniha et al., 2012). Afin d'obtenir la distribution d'orientation d'une image, on choisit la méthode du tenseur de structure par gradient Gaussien avec une fenêtre de

### 3. Essais de gonflement sur capsule de foie sous microscope confocal multiphoton

---

référence de 1 pixel. La cohérence et l'énergie minimale, qui renseignent sur le degré d'orientation de la zone considérée ont été réglées à 2% afin de filtrer le peu de bruit présent sur les images. Les tests ayant permis de choisir ces paramètres et notamment la méthode choisie pour le calcul du gradient sont présentés en annexe (annexe B).



**Figure 3.5 :** Orientation des fibres de collagène de la capsule de foie mesurées par le plugin OrientationJ d'ImageJ développé par Rezakhaniha *et al.* (Rezakhaniha et al., 2012).

Par choix expérimental, et dans toute la suite, la direction orientée à  $0^\circ$  a été choisie pour correspondre à la direction en X sur les images, ainsi qu'au grand axe des ellipses dans le cas du chargement non-équi-biaxial pour les échantillons elliptiques R2 et R4. La direction Y correspond donc à un angle de  $90^\circ$  sur les histogrammes d'orientation, et à la direction du petit axe des ellipses. La figure 3.5 illustre un exemple de calcul d'orientation sur une image, en montrant les fibres identifiées colorées suivant leurs orientations, et l'historgramme d'orientation associé.



### 3.3 Résultats

#### 3.3.1 Déformation locale et prédicteur de rupture

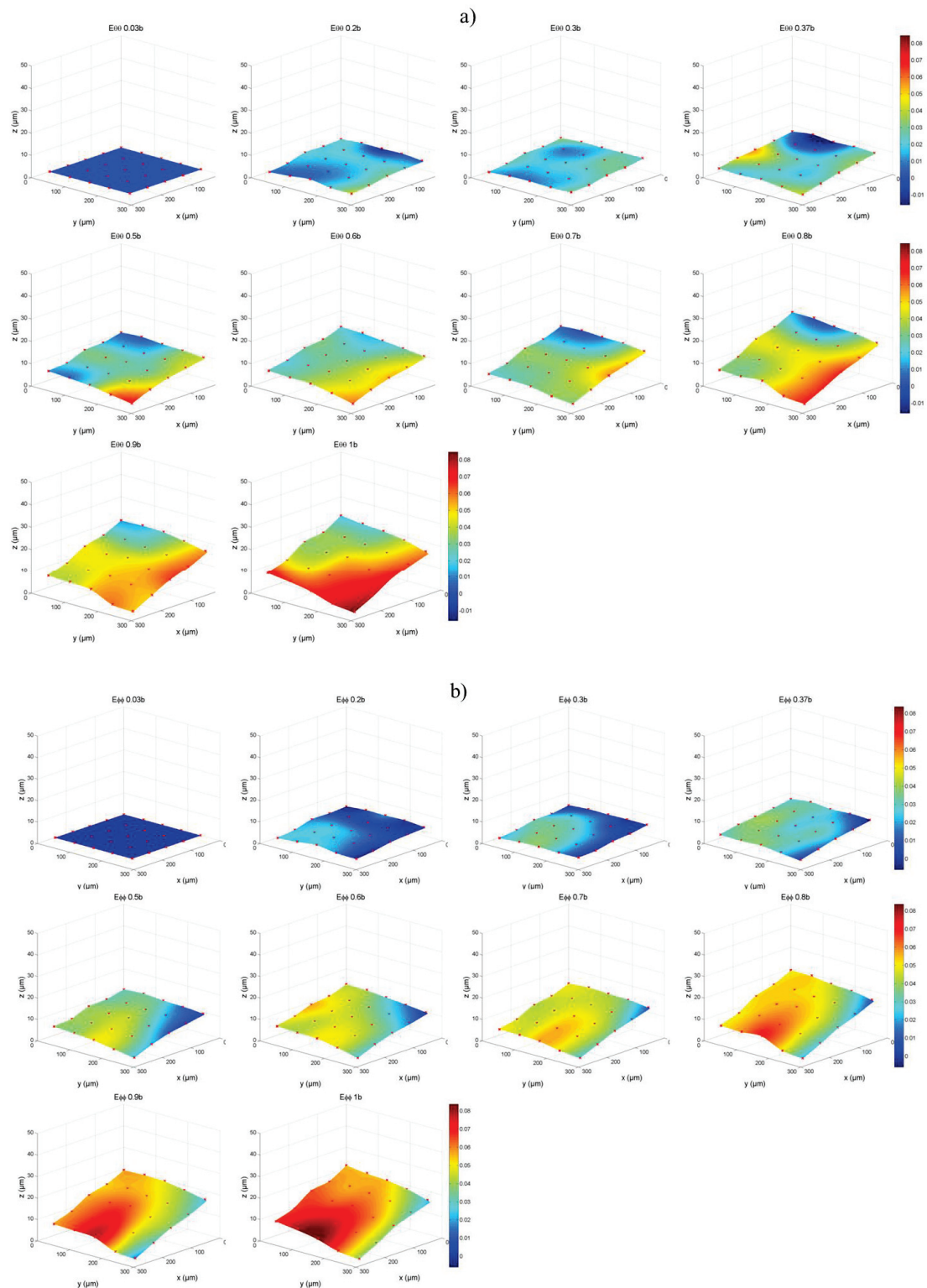
Les champs de déformations locales méridionale ( $E_{\theta\theta}$ ) et circonférentielle ( $E_{\varphi\varphi}$ ) sont présentés sur la figure 3.6 a-b. L'anisotropie locale de la capsule de foie, qui découle de son organisation microstructurale décrite dans le chapitre 2, induit une certaine hétérogénéité des champs de déformation. Cependant, les plages de variation d' $E_{\theta\theta}$  et  $E_{\varphi\varphi}$  sont relativement semblables d'un échantillon à l'autre. La possibilité d'utiliser un de ces paramètres comme un prédicteur fiable de rupture a donc été considérée.

L'écart type relatif des valeurs d'altitude et de déformation méridionale maximale (tableau 3.2) sont relativement semblables (0.29 et 0.31 respectivement) et indiquent une faible dispersion de ces valeurs lors de l'apparition de la rupture. En ce qui concerne la pression et la tension, l'écart type relatif est respectivement de 0.47 et 0.48. Les variables en déformation montrent donc une plus faible dispersion autour de la rupture.

Type	Paramètres à rupture	Pression à rupture (bar)	Pression de la dernière image (bar)	Altitude de l'apex (mm)	$E_{\theta\theta}$ max	$E_{\theta\theta}$ moyen	$E_{\varphi\varphi}$ max	$E_{\varphi\varphi}$ moyen	Tension ( $N.m^{-1} \times 10^{-2}$ )
R1		0.92	0.78	4.53	0.14	0.07	0.12	0.09	8.63
R1		0.54	0.42	3.17	0.12	0.08	0.09	0.07	6.57
R1		0.29	0.22	3.08	0.10	0.07	0.07	0.04	3.50
R1		0.27	0.21	2.48	0.08	0.04	0.06	0.04	4.20
R1		0.71	0.56	3.29	0.10	0.05	0.08	0.05	8.51
R2		1.24	1.00	3.64	0.15	0.09	0.18	0.12	19.86
R2		0.51	0.41	1.98	0.18	0.11	0.13	0.07	14.96
R2		0.55	0.50	2.39	0.17	0.13	0.15	0.10	15.05
R2		0.52	0.40	2.30	0.09	0.06	0.06	0.04	12.63
R2		0.62	0.51	3.48	0.12	0.08	0.06	0.04	10.64
R4		0.42	0.32	1.64	0.06	0.03	0.09	0.04	9.68
<b>Écart type relatif</b>		<b>0.47</b>	<b>0.49</b>	<b>0.29</b>	<b>0.31</b>	<b>0.37</b>	<b>0.41</b>	<b>0.45</b>	<b>0.48</b>

**Tableau 3.2** : Paramètres à rupture des échantillons dont la pression de la dernière acquisition d'image valait au moins 75% de la pression à rupture. L'écart type relatif est indiqué, calculé comme la valeur absolue du rapport entre l'écart type et la moyenne.

### 3. Essais de gonflement sur capsule de foie sous microscope confocal multiphoton

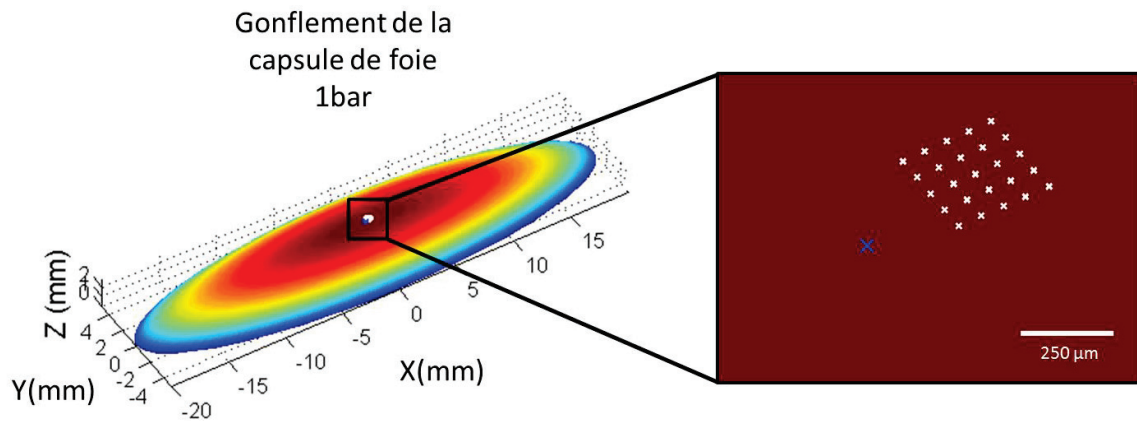


**Figure 3.6 :** Exemple de l'évolution du champ de déformation de Green-Lagrange pendant le chargement (R4) montrant l'hétérogénéité du champ de déformation local sur la capsule de foie humaine. a) Déformation méridionale  $E_{\theta\theta}$ . b) Déformation circonférentielle  $E_{\phi\phi}$ .

### 3. Essais de gonflement sur capsule de foie sous microscope confocal multiphoton

---

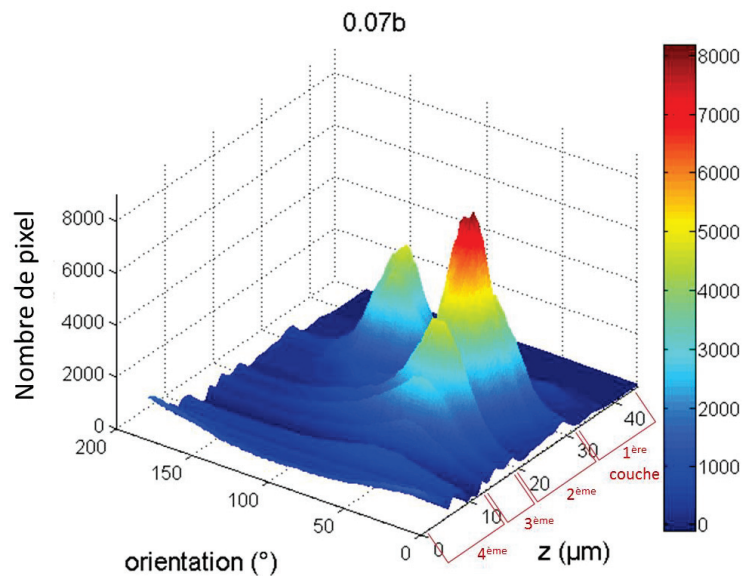
D'autre part, on note que la grille de photoblanchiment s'écarte progressivement du sommet sur lequel elle était initialement positionnée (figure 3.7). Ce glissement est progressif avec l'augmentation de pression et correspond en fait au changement de la zone considérée comme le sommet durant le chargement. Cet écart varie entre 0 et 300  $\mu\text{m}$  approximativement suivant l'échantillon considéré.



**Figure 3.7 :** Décalage de la grille de photoblanchiment par rapport au sommet à la fin du chargement (1 bar) positionnée sur une forme idéalisée de la capsule de foie gonflée. Le sommet de l'échantillon est repéré par une croix bleue tandis que les croix blanches correspondent aux centres des carrés photoblanchis.

#### 3.3.2 Distributions d'orientation

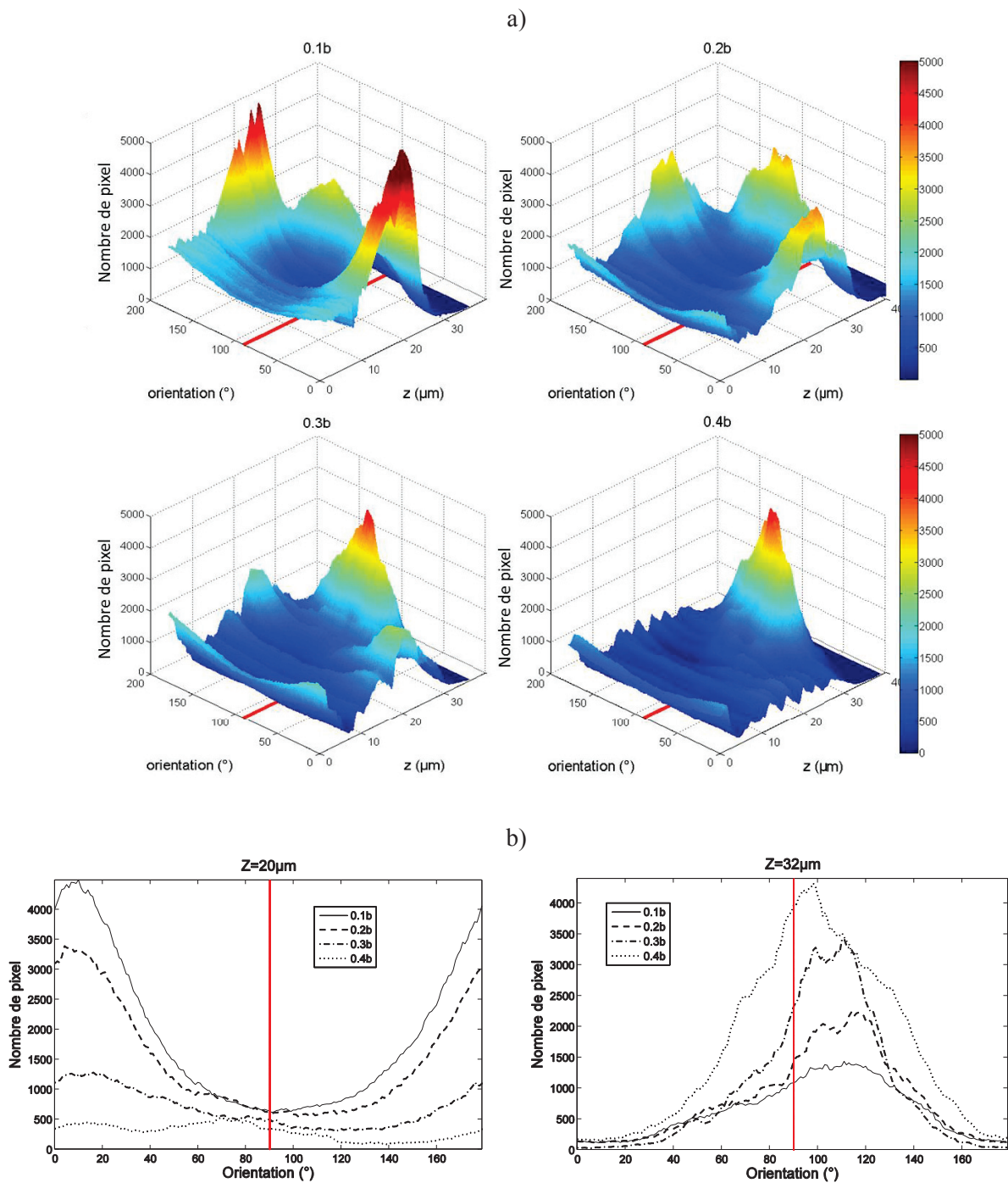
Conformément à la description de l'organisation microstructurale de la capsule de foie donnée dans le chapitre 2, l'analyse de l'orientation dans l'épaisseur de la capsule met en évidence les couches de fibres de collagène identifiées. On retrouve ainsi deux différents pics d'orientation très rapprochés vers la surface externe correspondant aux deux premières couches formant un angle entre elles compris entre  $45^\circ$  et  $90^\circ$  (figure 3.8). L'orientation du faisceau de fibres dans la 4<sup>ème</sup> couche près de la surface interne n'est pas révélée par cette mesure d'orientation. La seconde couche apparaît comme celle avec la plus nette orientation dominante comme le montre le plus grand nombre de pixels orientés dans cette direction particulière.



**Figure 3.8 :** Orientation des fibres de collagène en fonction de l'épaisseur avant le chargement (0.07 bar). Les 2 premières couches de fibres apparaissent comme deux pics distincts près de la surface externe de l'échantillon.

L'analyse de l'évolution de l'orientation au cours du chargement montre que la réorientation n'est pas un phénomène prédominant sur tous les échantillons. En effet peu de cas présentent une réorientation et un changement de l'histogramme d'orientation. Dans le cas équibiaxial, l'histogramme ne varie quasiment pas, comme attendu. Dans le cas d'un chargement non-équibiaxial, les fibres se réorientent dans la direction du petit axe de l'ellipse à  $90^\circ$  (direction de courbure maximale et donc de plus fort chargement). La figure 3.9 montre un exemple de réorientation pour un échantillon elliptique R2. Lorsque l'on considère l'évolution de l'orientation dans toute l'épaisseur (figure 3.9a), on remarque que la première couche ( $z = 30-35 \mu\text{m}$ ), qui présentait une orientation initiale peu marquée, se réoriente dans la direction principale de chargement à  $90^\circ$  avec l'augmentation de pression, pour finir avec une orientation très marquée dans cette direction avant la rupture. Les fibres de la deuxième couche sont orientées à  $\sim 10^\circ$  avant le gonflement et perdent progressivement cette orientation dominante au cours du chargement pour ne présenter finalement aucune orientation marquée particulière à la fin de l'essai. Les fibres de cette couche se réorientent également dans la direction principale de chargement mais pas toutes, et pas systématiquement totalement, résultant ainsi en une couche avec diverses orientations, plus ou moins isotrope. La figure 3.9b souligne ce mécanisme de réorganisation en montrant les histogrammes d'orientation des plans particuliers situés à 32 et 20  $\mu\text{m}$  de la surface interne à différents niveaux de chargement.

### 3. Essais de gonflement sur capsule de foie sous microscope confocal multiphoton



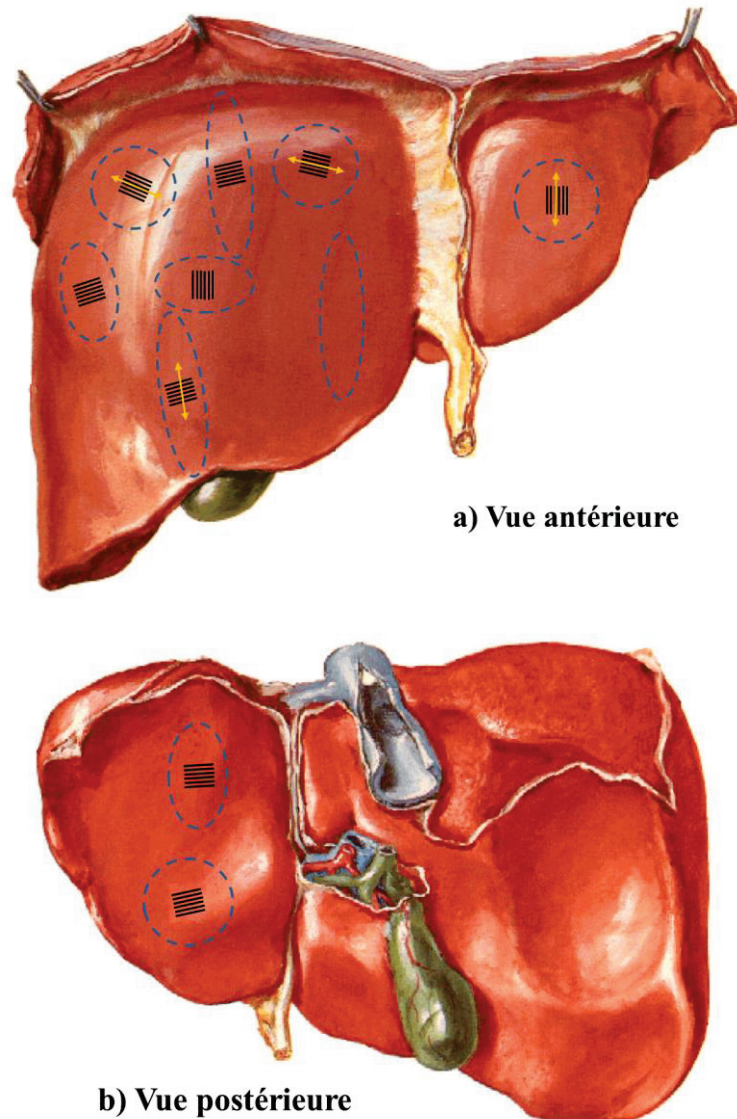
**Figure 3.9 :** Réorientation des fibres de collagène dans le cas d'un chargement non-équi-biaxial (échantillon elliptique R2). Le petit axe de l'ellipse a été positionné à  $90^\circ$ . La ligne rouge indique la direction du petit axe de l'ellipse avec laquelle les fibres s'alignent progressivement.

a) Histogrammes d'orientation des fibres dans toute l'épaisseur à différents niveaux de chargement.  $Z=0 \mu\text{m}$  correspond à la surface interne de la capsule coté parenchyme tandis que  $Z=40 \mu\text{m}$  correspond à la surface externe. b) Évolution de l'orientation des couches de fibres de collagène dans les plans situés à  $20 \mu\text{m}$  et  $32 \mu\text{m}$  de la surface interne.



### 3. Essais de gonflement sur capsule de foie sous microscope confocal multiphoton

La figure 3.10 montre les orientations des fibres de collagène de la seconde couche (la plus orientée) en fonction de l'emplacement de prélèvement sur le foie n°3, des échantillons. Cette analyse n'a pu être réalisée que sur les foies n°3 et 4 pour lesquels l'orientation de prélèvement des échantillons avait été relevée à l'aide d'une entaille faite sur les échantillons et permettant de les repositionner d'un point de vue global une fois testés sous microscope. Ces premiers résultats semblent indiquer que l'orientation privilégiée des fibres se trouve être dans le sens du maximum de courbure du foie. Cependant ces résultats sont très préliminaires et nécessiteraient d'avantage de tests ainsi qu'une meilleure technique de recalage de la position des échantillons sur le foie global.



**Figure 3.10 :** Emplacement de prélèvement des différentes formes d'échantillons pour le foie n°3. La direction principale des fibres de collagène de la seconde couche mesurée à partir de la première acquisition d'images est indiquée en noir. Les flèches orange correspondent aux directions de propagation de rupture, lorsqu'elles ont pu être relevées. Illustration adaptée de Netter (Netter, 2010)

#### 3.3.3 Observation de la rupture

Lorsque cela était possible, la direction de propagation de la rupture a été relevée afin de la mettre en relation avec la direction d'orientation des fibres de collagène. Ainsi, sur les 11 échantillons où l'orientation de la rupture a pu être observée, 8 d'entre eux présentaient une propagation de rupture dans le sens des fibres de la seconde couche (la plus orientée). Dans 2 autres cas, la rupture s'est propagée dans la direction transverse aux fibres, et un cas présentait une propagation à 45° de la direction des fibres. La figure 3.10 montre ces directions de propagation pour certains échantillons du foie n°3.

### 3.4 Discussion

L'objectif de cette campagne d'essais de gonflement de capsule sous microscope était de visualiser et comprendre la réponse des réseaux de fibres à un chargement mécanique plus proche d'une sollicitation réaliste in situ, à savoir un chargement multiaxial à rupture.

D'un point de vue expérimental, le gonflement à air plutôt qu'à eau a permis de mieux contrôler la pression et la stabilisation de la position de la capsule. Plusieurs versions du montage ont d'ailleurs été nécessaires afin de supprimer de manière assez fine toutes les petites sources de fuites. Cependant, la variabilité des échantillons en termes d'épaisseur ou de perméabilité a induit parfois des difficultés pour obtenir cette stabilisation.

Par rapport au protocole de traction uniaxiale, les paramètres d'imagerie ont également évolués. En effet le choix d'une meilleure résolution (0.5µm/pix au lieu de 0.99µm/pix) au détriment du temps d'acquisition, a permis de mener l'analyse quantitative de l'arrangement des fibres dans la mesure où les images étaient beaucoup moins bruitées, ce qui permettait de mieux distinguer les fibres.

Comme attendu, la réorientation n'est pas un phénomène majeur dans le cas d'un chargement équi-biaxial. En effet, pour les échantillons circulaires, les directions principales des couches de fibres ne varient pas de manière significative avec les incréments de pressions. Le seul changement de la microstructure provient de l'aspect des fibres qui apparaissent plus rectilignes sur les images, avec l'augmentation de la pression. Les fibres de collagène initialement ondulées se déplient progressivement, mais pas systématiquement, indiquant donc que toutes les fibres ne seront pas forcément recrutées avant la rupture. Hill *et al.* (Hill et al., 2012) évoquent déjà cette hypothèse de recrutement graduel des fibres, mis en évidence lors de leurs essais sur artères carotides de lapin, au cours desquels ils mesurent les distributions de fibres de collagène dépliées.

Pour les échantillons elliptiques, la réorientation a lieu systématiquement pour aboutir à des échantillons dont les fibres sont bien alignées dans la direction du petit axe de l'ellipse. Cette réorientation est bien entendu plus ou moins prononcée, en fonction de l'orientation initiale des fibres par rapport à cette direction du petit axe. Les résultats mettent alors en évidence que ce processus de réorientation est complètement graduel et non soudain, il intervient donc tout au long du chargement jusqu'à la rupture, comme le montre la figure 3.9.



### 3. Essais de gonflement sur capsule de foie sous microscope confocal multiphoton

---

Concernant le changement progressif de la zone au sommet mis en évidence par le décalage de la grille photoblanchie, ce phénomène provient probablement de l'hétérogénéité de la tortuosité des fibres dans l'ensemble de l'échantillon. Le recrutement plus ou moins tardif de fibres sur un côté de l'échantillon pourrait effectivement entraîner un déplacement du sommet lors du dépliage global. Les diverses réorganisations locales de la structure fibreuse pour s'accommoder au chargement induisent inévitablement des ajustements et des déplacements du sommet du dôme formé par la capsule gonflée. Des conditions aux limites mal maîtrisées pourraient également être à l'origine de ce décalage dans le cas où il y aurait des glissements non symétriques dans l'encastrement. Cependant, il est à noter que ce phénomène est d'une amplitude limitée puisque ce déplacement est souvent de l'ordre de 100  $\mu\text{m}$  et ne dépasse jamais 300  $\mu\text{m}$ . La taille réduite de nos échantillons aide probablement à restreindre ce changement de position du sommet.

Un point remarquable au cours de toute cette réorganisation du réseau sous chargement mécanique, est que les deux réseaux de fibres de collagène et d'élastine restent fortement liés et connectés. Il semble que ce soit le réseau de fibres de collagène qui dicte la cinématique de la réorganisation, en entraînant avec lui le réseau de fibres d'élastine. Ainsi, cela signifierait que les interactions élastine/collagène sont plus fortes que les interactions collagène/collagène, puisque la réorientation concerne principalement les fibres de collagène en modifiant leur arrangement relatif les unes par rapport aux autres.

L'analyse de la propagation de la rupture tend à démontrer également que les interactions entre fibres de collagène sont également plus faibles que les fibres elles-mêmes. La jonction entre fibres de collagène semble en effet être un chemin privilégié pour la propagation de la rupture, et limite de ce fait la résistance à rupture de la capsule de foie. Des essais supplémentaires seraient évidemment nécessaires pour donner une puissance statistique à ces considérations. Nos observations montrent en tout cas que la rupture est à chaque fois catastrophique et non graduelle, ce qui rejoint les observations sur les mécanismes de rupture identifiés sur membrane fœtale impliquant des fibres de collagène dans Joyce (Joyce, 2009).

L'écart type relatif assez faible de la déformation méridionale maximale juste avant rupture suggère que ce paramètre peut être un critère de rupture fiable dans les applications de modélisation. En effet, dans la mesure où l'état de contrainte peut être difficilement estimé pour ce type de tissus comprenant des réseaux de fibres entremêlés, formuler un critère de rupture en termes de déformation plutôt que sur une variable dérivant de la force comme la contrainte ou la pression ultime apparaît comme une solution pragmatique, appropriée et plus précise. Comme le montre le tableau 3.2, l'écart type relatif des variables de déformations n'est pas plus grand que celui des variables de force, indiquant ainsi une dispersion comparable (et même plus faible dans notre cas) des valeurs avant rupture. Cependant, comme il a fallu exclure de nombreux échantillons de cette analyse, puisque la dernière image était prise trop loin de la rupture, d'autres tests seraient nécessaires pour confirmer cette tendance.

Les limites de cette étude centrée sur le gonflement de capsule de foie reposent tout d'abord sur la question de l'état initial des tissus mous. Ici, notre état initial a été choisi comme le moment où la capsule est uniquement serrée entre les mors et couverte de sérum physiologique. Dans la mesure où les pré-trous sur l'échantillon sont positionnés relativement précisément, car réalisés à l'aide d'un patron, la mise en place des échantillons est assez répétable. Cependant, même si la position de ces pré-trous implique que la capsule est initialement tendue, il est tout de même clair qu'au départ elle n'est pas parfaitement plate, ni

### 3. Essais de gonflement sur capsule de foie sous microscope confocal multiphoton

---

forcément dans un état proche de l'in-vivo au repos, et donc qu'un biais demeure sur l'origine de notre mesure de déplacement en Z.

La détermination de cet état de référence nécessiterait un travail expérimental à part entière impliquant des essais sur l'organe complet afin de déterminer l'état de tension de la capsule lorsque le foie se trouve dans des conditions physiologiques au repos. Hollenstein et Mazza (Hollenstein and Mazza, 2012) estiment une approximation de cet état de tension de référence. A supposer que la capsule de Glisson ne soit soumise qu'à la pression interne physiologique et que le parenchyme n'affecte pas cet état de référence, l'état de pression de référence correspond à la pression intra hépatique qui varie entre 50-60 mmHg, *i.e.* entre 0.067 et 0.08 bar. Pour cette raison, notre état de référence pour les mesures de déformation a été choisi à 0.1 bar, correspondant au moment où la grille de photoblanchiment a été réalisée.

Contrairement à la procédure suivie dans le cas de la traction uniaxiale, aucun pré conditionnement n'a été réalisé lors de ces essais de gonflement. Myers *et al.* (Myers et al., 2010) ont montré que pour des essais en gonflement le pré conditionnement par chargement cyclique n'influe pas sur la réponse mécanique du tissu probablement due au fait que la réorientation des fibres n'est pas un phénomène prédominant dans le cas d'un chargement équilibré.

D'autre part, notre étude manque clairement de puissance statistique en termes de nombre d'échantillons ainsi que de foies différents testés. Les temps de mise en place, de chargement et d'imagerie rendent chaque essai relativement long (en moyenne 2h à 2h30 par essais) ce qui complique la réalisation d'une campagne expérimentale à grand nombre d'échantillons. D'une manière générale, les grandeurs présentées ici, et notamment celles reportées dans le tableau 3.2, sont à considérer de manière indicative puisqu'elles rendent mal compte de la variabilité biologique, dans la mesure où seulement 4 foies différents ont été testés, dont 2 ont servis aux mesures de déformation. La variabilité des propriétés des échantillons au sein d'un même foie étant relativement importante, conformément à ce qui a déjà été observé (Brunon, 2011; Herbert et al., 1976), il est à supposer qu'en incluant dans l'étude davantage de foies différents, la variabilité de nos valeurs serait plus conséquente.

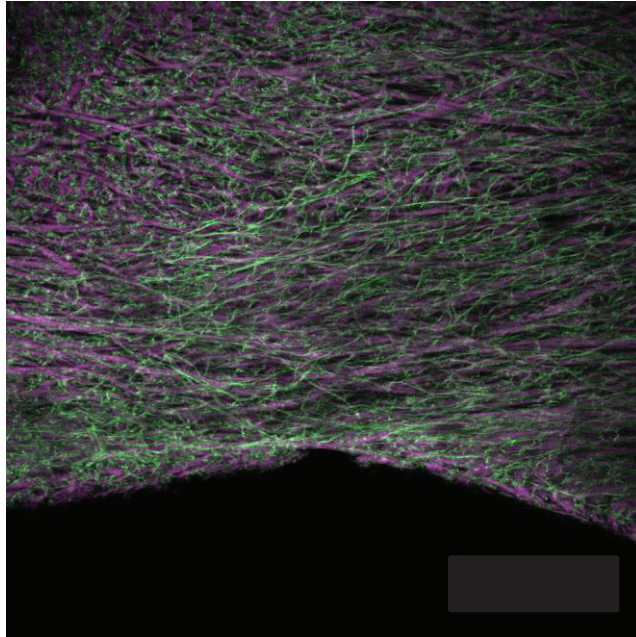
Les valeurs de déformations méridionale maximale à rupture sont relativement faibles par rapport aux valeurs précédemment reportées dans la littérature pour la capsule de foie ou de rein humaine (Brunon, 2011; Farshad et al., 1999; Hollenstein et al., 2006; Snedeker et al., 2005). Cela provient premièrement du fait que nos valeurs ne sont pas exactement associées à la rupture, mais à un état proche, pour une pression égale au moins à 75% de la pression à rupture. D'autre part, et cela représente une autre limitation importante de cette étude, les champs de déformations observés sont vraiment très locaux, dû au champ d'observation limité de l'objectif. Ainsi les valeurs maximales de déformation ne sont considérées que sur une zone limitée proche du sommet qui ne correspond pas forcément à la zone de déformation maximale de tout l'échantillon. La comparaison avec un champ de déformation global apparaît donc comme une analyse intéressante permettant de juger de la variabilité de position sur l'échantillon des zones de déformations maximales.

#### ***Bilan des essais de gonflement sous microscope :***

*Le changement de mode de chargement pour passer d'une sollicitation en traction uniaxiale à une sollicitation en traction biaxiale par gonflement a permis de charger la capsule de manière plus proche de la situation in-vivo et ainsi d'identifier des propriétés et des phénomènes réels auxquels la capsule est susceptible d'être soumise.*

*A l'échelle du réseau de fibres, les déformations locales peuvent être très hétérogènes suivant l'organisation de la structure et donc mener très localement à l'initiation de la rupture. La possibilité d'utiliser un critère de déformation pour prédire l'apparition de la rupture peut être envisagée. Dans le cas d'un chargement équibiaxial, nos essais confirment que la réorientation n'est pas un phénomène prédominant contrairement au dépliement qui est graduel et pas systématiquement total. Pour un chargement non-équibiaxial, les fibres de collagène se réorientent progressivement dans la direction de plus forte sollicitation entraînant avec elles le réseau de fibres d'élastine.*

*Toutes ces mesures de paramètres micromécaniques ont été réalisées de manière très locale due aux caractéristiques intrinsèques du microscope utilisé. Il faut maintenant faire le lien entre ces propriétés locales et le comportement global macroscopique de la capsule de foie afin de pouvoir utiliser ces informations dans un modèle global homogénéisé de tissus fibreux.*



---

# Chapitre 4

## Gonflement de capsule de foie à l'échelle macroscopique : mesures par stéréocorrélation

*Dans ce chapitre, le montage de gonflement est repris en le couplant à une mesure macroscopique de déplacements par stéréocorrélation d'images numériques. La mesure de champ permet de mesurer les conditions aux limites de l'essai et de connaître précisément la géométrie de l'échantillon gonflé. Les essais de gonflement sous microscope présentés dans le chapitre 3 sont alors analysés d'un point de vue macroscopique.*

### Sommaire

---

<b>4.1</b>	<b>Introduction .....</b>	<b>96</b>
<b>4.2</b>	<b>Essais couplés à la mesure de déplacements par stéréocorrélation.....</b>	<b>97</b>
4.2.1	Matériels et méthodes.....	97
4.2.2	Identification du comportement .....	100
4.2.3	Résultats .....	104
4.2.4	Discussion .....	114
<b>4.3</b>	<b>Retour sur les essais microscopiques .....</b>	<b>116</b>
4.3.1	Analyse macroscopique des essais sous microscope.....	116
4.3.2	Influence de l'état initial sur le calcul de déformations.....	118
4.3.3	Comparaison des déformations macroscopiques stéréo et ellipsoïdales.....	120

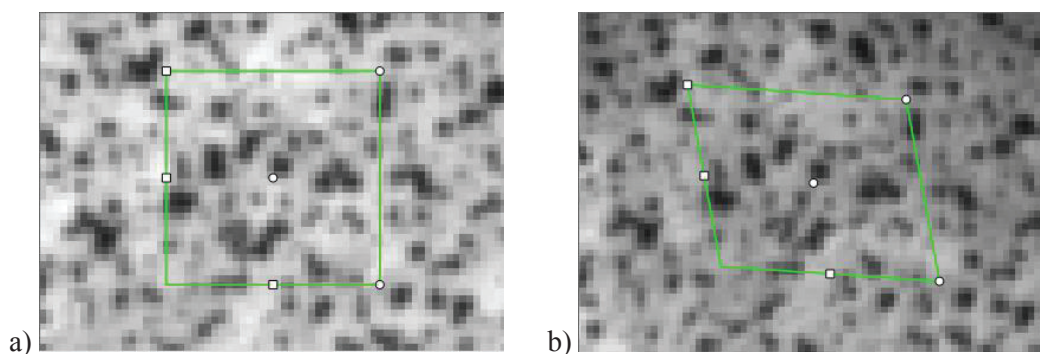
---

## 4.1 Introduction

Le protocole expérimental de gonflement de capsule détaillé dans le chapitre 3 a permis la mise en évidence de phénomènes liés à la réorganisation microstructurale de la capsule de foie lorsqu'elle est soumise à un chargement conforme à ce qu'elle subit in-vivo. Cependant le champ d'observation restreint du microscope ( $507 \times 507 \mu\text{m}^2$ ) a limité l'observation de ces phénomènes à une zone très locale sur les échantillons. L'intégration de ces données structurales dans des modèles constitutifs du tissu nécessite l'homogénéisation du comportement défini sur un volume élémentaire représentatif, et pour ce faire, des informations sur le comportement global de la capsule de foie sont nécessaires.

Nous avons donc choisi d'adapter le montage de gonflement afin de réaliser une mesure de champ sur tout l'échantillon et ainsi obtenir des informations sur le comportement macroscopique, reprenant l'approche développée par Brunon (Brunon, 2011; Brunon et al., 2011). Cette mesure globale nous permettra alors de valider certaines hypothèses nécessaires au traitement des données des essais microscopiques, notamment au niveau de la géométrie de la capsule durant le gonflement. Il sera alors possible de calculer des paramètres macroscopiques à partir des essais de gonflement sous microscope, et ainsi faire le lien entre les propriétés microstructurales et le comportement macroscopique de la capsule de foie.

La stéréocorrélation est très souvent utilisée pour réaliser des mesures de champ à l'échelle macroscopique puisqu'elle permet, à partir d'un montage simple (2 caméras), de retrouver les déplacements et déformations d'une zone d'intérêt plus ou moins grande avec précision. Elle repose sur le principe de corrélation d'images où l'on va chercher, via de nombreuses méthodes différentes, à estimer la transformation subie entre deux images successives. On utilise ici une méthode de corrélation locale reposant sur la minimisation d'une fonction de coût d'inter-corrélation normalisée, usuellement implantée dans de nombreux codes de corrélation d'images (Limb and Murphy, 1975; Sutton et al., 2009). Il s'agit d'évaluer la ressemblance entre deux « imagerie » (petite partie d'une image) permettant ainsi de déterminer le déplacement de l'imagerie originale ainsi que sa déformation (figure 4.1). En appliquant ce principe aux images acquises par les deux caméras, on peut accéder aux déplacements dans le plan de chacune des caméras. Il suffit alors de réaliser une calibration afin de déterminer un repère commun aux caméras, permettant de connaître leurs positions et orientations relatives, pour pouvoir retrouver les déplacements 3D de la surface étudiée.



**Figure 4.1 :** a) Imagerie initiale sur le mouchetis avant déformation. b) Imagerie déformée et recalée (VIC3D®)



Cette méthode extrêmement robuste, car très peu sensible aux variations d'éclairage, trouve de nombreuses applications dans divers domaines (contrôle de process, identification de plaque d'immatriculation, robots autonomes...) et permet surtout dans le cadre de la caractérisation de matériaux, d'obtenir des informations localisées sur toute la structure, contrairement à des mesures classiques de déplacements issus de capteurs de déplacement situés à des endroits particuliers. Elle facilite notamment l'étude de phénomènes locaux tels que la rupture, des effets de structures, de l'anisotropie, etc. Compte tenu de ces avantages, la corrélation d'images est de plus en plus utilisée pour la caractérisation de matériaux biologiques. Tonge *et al.* (Tonge et al., 2013) utilisent une mesure de champ par stéréocorrélation pour étudier l'anisotropie de la peau. Les champs de déformations de la sclère (Myers et al., 2010), de la capsule de foie (Brunon et al., 2011), du parenchyme (Brunon et al., 2011; Gao and Desai, 2010) ou de la peau (Jacquemoud et al., 2007) ont également été étudiés et déterminés par corrélation d'images.

## 4.2 Essais couplés à la mesure de déplacements par stéréocorrélation

### 4.2.1 Matériels et méthodes

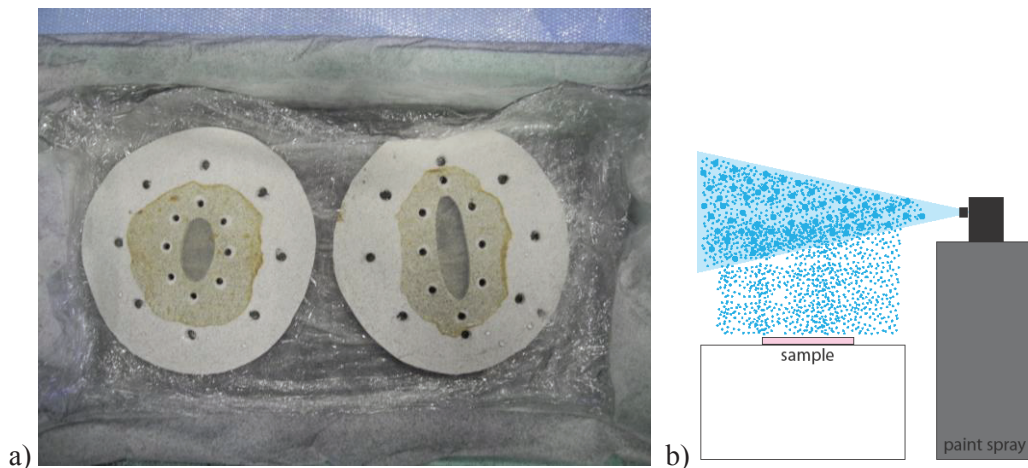
#### 4.2.1.1 Préparation des échantillons

Ces essais de gonflement macroscopique ont été réalisés sur des échantillons provenant de 2 foies humains différents (♂ 86 ans et ♂ 92 ans) prélevés au département d'anatomie de l'Université de Rockefeller (DUAR) via le programme français de don volontaire de corps à la science. Similairement au protocole de gonflement sous microscope, les échantillons ont été découpés suivant 3 formes différentes (R1 pour les circulaires, R2 pour les elliptiques de rapport 2 entre grand axe et petit axe et R4 pour les elliptiques de rapport 4). Au total, 3 échantillons ont été testés sur le foie n°1 (1xR1 1xR2 et 1xR4) et 8 en provenance du foie n°2 (3xR1, 3xR2 et 2xR4). Les échantillons du foie n°1 avaient été congelés à -20° puis décongelés à température ambiante avant le test alors que les échantillons du foie n°2 ont été testés frais (3-4 jours après le décès).

Afin de réaliser le mouchetis nécessaire à la stéréocorrélation, la capsule a été disposée sur le joint en silicone afin d'être plus facilement manipulable (figure 4.2a), puis de fines gouttelettes de peinture ont été déposées par gravité en vaporisant parallèlement au-dessus de l'échantillon. En effet, la stéréocorrélation s'effectuant sur un champ restreint (cf figure 3.1 donnant les dimensions des échantillons), un mouchetis très fin doit être appliqué à la surface de l'échantillon afin d'obtenir un motif aléatoire avec suffisamment de taches pour permettre un calcul précis sur toute la zone de corrélation. On vaporise donc parallèlement à l'échantillon pour se débarrasser des grosses gouttes de peinture en sortie du spray et ne conserver que les petites gouttelettes présentes dans le nuage, et qui viennent se déposer sous l'effet de la gravité (figure 4.2b).

#### 4. Gonflement de capsule à l'échelle macroscopique : mesures par stéréocorrélation

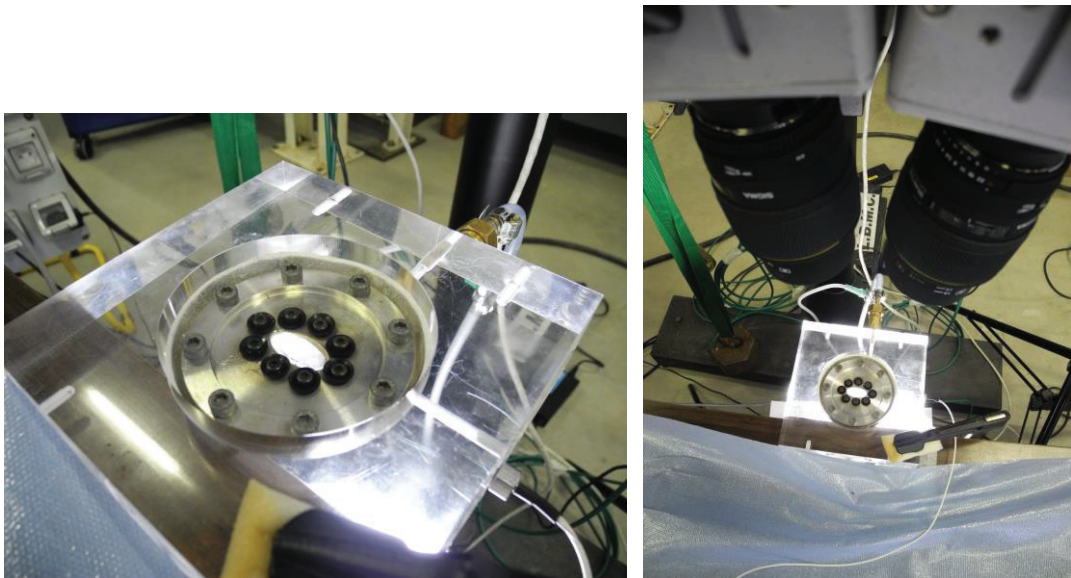
---



**Figure 4.2 :** a) Échantillons déposés sur les joints de silicone sur lesquels on vient déposer le mouchetis par gravité. b) Technique de dépose du mouchetis pour obtenir une fine taille de goutte (image issue de (Brunon, 2011))

##### 4.2.1.2 Montage de stéréocorrélation

Le montage précédemment utilisé pour le gonflement sous microscope a été utilisé. La capsule étant translucide, le socle usiné en PMMA permet de placer l'éclairage de l'échantillon en dessous et donc de réaliser la corrélation sur l'ombre du mouchetis projeté sur les caméras (figure 4.3). Cela permet notamment de s'affranchir des problèmes de brillance et d'uniformité de l'éclairage.

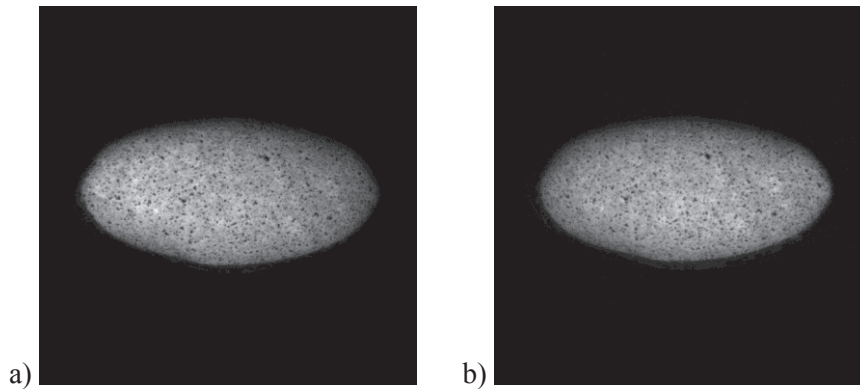


**Figure 4.3 :** Disposition du montage expérimental avec le socle de gonflement en PMMA placé entre l'éclairage et les deux caméras pour la stéréocorrélation.

#### 4. Gonflement de capsule à l'échelle macroscopique : mesures par stéréocorrélation

---

2 caméras PHOTRON ont été utilisées pour filmer l'essai possédant chacune un capteur de 1024 x 1024 pixel<sup>2</sup>. Des objectifs 105 mm macros ont été ajoutés aux caméras afin d'adapter la taille de champ à nos échantillons. La profondeur de champ a été réglée de manière à pouvoir suivre un déplacement hors plan de l'ordre de 10 mm, permettant ainsi de pouvoir capter l'intégralité de l'essai (en se référant aux valeurs indicatives obtenues lors des essais sous microscope indiquant un déplacement vertical de la capsule de l'ordre de 6-8 mm maximum avant rupture). Les caméras ont été positionnées le plus perpendiculairement possible au plan de l'échantillon afin d'avoir une zone commune maximale dans le champ des deux caméras et de pouvoir effectuer la corrélation sur tout l'échantillon, y compris les bords (figure 4.4). Une calibration est ensuite réalisée grâce à une mire d'étalonnage pour permettre au logiciel VIC3D® de calculer la position relative des caméras et ainsi permettre le calcul de stéréocorrélation.



**Figure 4.4 :** Exemple d'une image de la capsule vue par la caméra de gauche a) et de droite b)

Les images ont été acquises à une fréquence de 50 Hz jusqu'à la fin de l'essai afin de pouvoir visualiser le processus de formation-propagation de la rupture. La pression est acquise à 100 Hz à  $\pm 0.001$  bar. Comme pour les essais microscopiques, le chargement est toujours réalisé par air comprimé. Il s'effectue par incrément de pression grâce à la vanne de réglage de manière graduelle jusqu'à rupture. La mémoire des caméras permettant d'enregistrer 166 s, la vitesse de chargement est réglée en adaptant l'incrément de pression de manière à obtenir la rupture avant la fin de ces 2-3 minutes. Le calcul en post traitement révèle alors une vitesse de déformation dans la direction Y de l'ordre de  $2 \cdot 10^{-3} \text{ s}^{-1}$ , en moyenne.

L'état initial pour le calcul de corrélation a été choisi à partir du moment où la capsule présente une courbure uniforme, soit pour une pression de 0.02 b, conformément à ce qui a été fait par Brunon (Brunon, 2011).

##### 4.2.1.3 Traitement des données

Comme évoqué ci-dessus, le logiciel de corrélation d'images VIC3D® (Sutton et al., 2009) est utilisé pour calculer les champs de déplacements et les déformations de Green-Lagrange. La

stéréocorrélation n'est pas effectuée sur toutes les images mais seulement sur 500-600 d'entre-elles réparties sur tout l'essai afin de conserver un temps de calcul acceptable. Sur cette séquence d'images, on détermine alors les déplacements d'« imagettes » de  $31 \times 31$  pixels<sup>2</sup> dont les centres sont distants de 7 pixels (figure 4.1). Une rotation du repère de calcul est appliquée afin de le faire correspondre au repère lié à l'échantillon (axe X suivant le grand axe de l'ellipse, Y suivant le petit axe et Z pour la verticale).

L'élongation au sommet suivant la direction du grand axe (X) et la direction du petit axe (Y) sont calculés à partir des valeurs au sommet du tenseur des déformations de Green-Lagrange suivant :

$$\begin{cases} \lambda_x = \sqrt{2 E_{xx} + 1} \\ \lambda_y = \sqrt{2 E_{yy} + 1} \end{cases} \quad (4.1)$$

Afin de tester l'hypothèse de l'approximation de la géométrie de la capsule gonflée par un ellipsoïde, l'erreur moyenne entre la position réelle des points et ceux sur un ellipsoïde idéalisé est mesurée via une projection orthogonale de chaque point réel sur la surface considérée. Les dimensions de l'ellipsoïde idéalisé correspondent alors simplement à celles de l'encastrement dans le plan X Y (R1, R2 ou R4) associées à l'altitude du sommet pour la 3<sup>ème</sup> dimension.

### 4.2.2 Identification du comportement

Dans cette étude, nous cherchons à identifier le comportement mécanique de la capsule de foie à partir des valeurs d'élongations calculées au sommet. Pour cela, quatre formes de potentiels hyperélastiques seront testés afin d'étudier l'influence de l'inclusion du premier et second invariant dans les lois de comportement.

L'équilibre de la capsule permet de relier la pression sous capsulaire à la tension dans les directions X et Y par :

$$P = \frac{N_x}{r_x} + \frac{N_y}{r_y} \quad (4.2)$$

où  $r_x$  et  $r_y$  sont les rayons de courbures dans les deux directions respectives.

On obtient la tension  $N$  à partir de l'intégration dans l'épaisseur de la contrainte. Pour une coque courbe d'épaisseur  $t$ , on a :

$$\begin{aligned} N_x &= \int_{-t/2}^{t/2} \sigma_{xx}(\lambda_x(z), \lambda_y(z))(1 + r_x z) dz \\ \text{et} \\ N_y &= \int_{-t/2}^{t/2} \sigma_{yy}(\lambda_x(z), \lambda_y(z))(1 + r_y z) dz \end{aligned} \quad (4.3)$$

#### 4. Gonflement de capsule à l'échelle macroscopique : mesures par stéréocorrélation

---

Dans l'hypothèse d'une courbure et épaisseur très petite i.e.  $r \ll t \ll 1$ , on retrouve alors l'équation des plaques (Timoshenko and Woinowsky-Krieger, 1959) :

$$\begin{aligned} N_x &= \int_{-t/2}^{t/2} \sigma_{xx}(\lambda_x(z), \lambda_y(z)) dz \\ N_y &= \int_{-t/2}^{t/2} \sigma_{yy}(\lambda_x(z), \lambda_y(z)) dz \end{aligned} \quad (4.4)$$

Or, pour une membrane, la contrainte est homogène dans l'épaisseur. Il en découle que :

$$N = t \sigma \quad (4.5)$$

avec 
$$t = \frac{t_0}{\lambda_x \lambda_y} \quad (4.6)$$

en tenant compte de la condition d'incompressibilité avec  $t_0$  l'épaisseur initiale de la capsule.

On calcule le tenseur des contraintes de Cauchy  $\underline{\underline{\sigma}}$  à partir du tenseur des déformations de Cauchy-Green droit  $\underline{\underline{C}}$  via :

$$\underline{\underline{\sigma}} = \frac{2}{J} \underline{\underline{F}} \frac{\partial W}{\partial \underline{\underline{C}}} \underline{\underline{F}}^T \quad (4.7)$$

avec 
$$\frac{\partial W}{\partial \underline{\underline{C}}} = \frac{\partial W}{\partial I_1} \frac{\partial I_1}{\partial \underline{\underline{C}}} + \frac{\partial W}{\partial I_2} \frac{\partial I_2}{\partial \underline{\underline{C}}} + \frac{\partial W}{\partial I_3} \frac{\partial I_3}{\partial \underline{\underline{C}}} \quad (4.8)$$

où 
$$\left\{ \begin{aligned} \frac{\partial I_1}{\partial \underline{\underline{C}}} &= \underline{\underline{Id}} \\ \frac{\partial I_2}{\partial \underline{\underline{C}}} &= I_1 \underline{\underline{Id}} - \underline{\underline{C}} \\ \frac{\partial I_3}{\partial \underline{\underline{C}}} &= \det(\underline{\underline{C}}) \underline{\underline{C}}^{-1} \end{aligned} \right. \quad (4.9)$$

On teste 4 potentiels hyperélastiques faisant intervenir soit uniquement le premier invariant, uniquement le second, soit les deux premiers invariants, avec différents degrés. Ainsi sont testés le modèle de Mooney-Rivlin (Mooney, 1940; Rivlin, 1997) ( $W_1$ ), un modèle en  $I_1$  simple ( $W_2$ ), en  $I_2$  simple ( $W_3$ ) ainsi que le modèle de Rivlin et Saunders (Rivlin and Saunders, 1951) à l'ordre 2 ( $W_4$ ).

$$\begin{aligned}
 W_1 &= C_1(I_1 - 3) + C_2(I_2 - 3) \\
 W_2 &= C_1(I_1 - 3) + C_2(I_1 - 3)^2 \\
 W_3 &= C_1(I_2 - 3) + C_2(I_2 - 3)^2
 \end{aligned} \tag{4.10}$$

$$\begin{aligned}
 W_4 &= C_{10}(I_1 - 3) + C_{01}(I_2 - 3) + C_{11}(I_1 - 3)(I_2 - 3) + C_{20}(I_1 - 3)^2 \\
 &\quad + C_{02}(I_2 - 3)^2
 \end{aligned}$$

avec

$$\begin{cases}
 I_1 = \lambda_x^2 + \lambda_y^2 + \frac{1}{\lambda_x^2 \lambda_y^2} \\
 I_2 = \lambda_x^2 \lambda_y^2 + \frac{1}{\lambda_x^2} + \frac{1}{\lambda_y^2}
 \end{cases} \tag{4.11}$$

On a alors :

$$\frac{\partial W_1}{\partial \underline{C}} = C_1 \underline{Id} + C_2 (I_1 \underline{Id} - \underline{C}) \tag{4.12}$$

$$\underline{\sigma} = \frac{2}{J} [C_1 \underline{B} + C_2 (I_1 \underline{B} - \underline{B}^2)] \tag{4.13}$$

D'après (4.5) et (4.2), on obtient alors l'expression de la pression en fonction des élongations suivant les deux directions X et Y.

$$P = \frac{2 t_0}{\lambda_x \lambda_y r_x r_y} \left[ C_1 (\lambda_x^2 r_y + \lambda_y^2 r_x) + C_2 \left( \lambda_x^2 \lambda_y^2 (r_x + r_y) + \frac{r_x}{\lambda_x^2} + \frac{r_y}{\lambda_y^2} \right) \right] \tag{4.14}$$

D'où

$$P = A_1 * \begin{bmatrix} C_1 \\ C_2 \end{bmatrix} \tag{4.15}$$

avec

$$A_1 = \frac{2 t_0}{\lambda_x \lambda_y r_x r_y} \left[ (\lambda_x^2 r_y + \lambda_y^2 r_x) \quad \left( \lambda_x^2 \lambda_y^2 (r_x + r_y) + \frac{r_x}{\lambda_x^2} + \frac{r_y}{\lambda_y^2} \right) \right] \tag{4.16}$$

On peut calculer les valeurs de  $A_i$  pour chaque image à partir des champs de déformations de Green Lagrange fournis par VIC3D® et de (4.1). On détermine les coefficients  $C_1$  et  $C_2$  par minimisation via la méthode des moindres carrés entre les valeurs expérimentales de la pression associées à chaque image et les valeurs de la pression calculée analytiquement par (4.15).



#### 4. Gonflement de capsule à l'échelle macroscopique : mesures par stéréocorrélation

---

De façon similaire, on mène un calcul identique pour  $W_2$ ,  $W_3$  et  $W_4$  :

$$\frac{\partial W_2}{\partial \underline{\underline{C}}} = [C_1 + 2 C_2(I_1 - 3)] \underline{\underline{Id}} \quad (4.17)$$

$$\underline{\underline{\sigma}} = \frac{2}{J} [C_1 + 2 C_2(I_1 - 3)] \underline{\underline{B}} \quad (4.18)$$

$$P = A_2 * \begin{bmatrix} C_1 \\ C_2 \end{bmatrix} \quad (4.19)$$

avec  $A_2 = \frac{2 t_0}{\lambda_x \lambda_y r_x r_y} [(\lambda_x^2 r_y + \lambda_y^2 r_x) \quad 2(I_1 - 3)(\lambda_x^2 r_y + \lambda_y^2 r_x)]$  (4.20)

$$\frac{\partial W_3}{\partial \underline{\underline{C}}} = [C_1 + 2 C_2(I_2 - 3)] [I_1 \underline{\underline{Id}} - \underline{\underline{C}}] \quad (4.21)$$

$$\underline{\underline{\sigma}} = \frac{2}{J} [C_1 + 2 C_2(I_2 - 3)] [I_1 \underline{\underline{B}} - \underline{\underline{B}}^2] \quad (4.22)$$

$$P = A_3 * \begin{bmatrix} C_1 \\ C_2 \end{bmatrix} \quad (4.23)$$

avec  $A_3 = \frac{2 t_0}{\lambda_x \lambda_y r_x r_y} \left[ \begin{array}{c} r_y(I_1 \lambda_x^2 - \lambda_x^4) + r_x(I_1 \lambda_y^2 - \lambda_y^4) \\ 2(I_2 - 3)[r_y(I_1 \lambda_x^2 - \lambda_x^4) + r_x(I_1 \lambda_y^2 - \lambda_y^4)] \end{array} \right]^t$  (4.24)

Et  $\frac{\partial W_4}{\partial \underline{\underline{C}}} = [C_{10} + C_{11}(I_2 - 3) + 2 C_{20}(I_1 - 3)] \underline{\underline{Id}}$  (4.25)  
 $+ [C_{01} + C_{11}(I_1 - 3) + 2 C_{02}(I_2 - 3)] [I_1 \underline{\underline{Id}} - \underline{\underline{C}}]$

$$\underline{\underline{\sigma}} = [C_{10} + C_{11}(I_2 - 3) + 2 C_{20}(I_1 - 3)] \underline{\underline{B}}$$
 (4.26)  
 $+ [C_{01} + C_{11}(I_1 - 3) + 2 C_{02}(I_2 - 3)] [I_1 \underline{\underline{B}} - \underline{\underline{B}}^2]$

$$P = A_4 * \begin{bmatrix} C_{10} \\ C_{01} \\ C_{11} \\ C_{20} \\ C_{02} \end{bmatrix} \quad (4.27)$$

avec

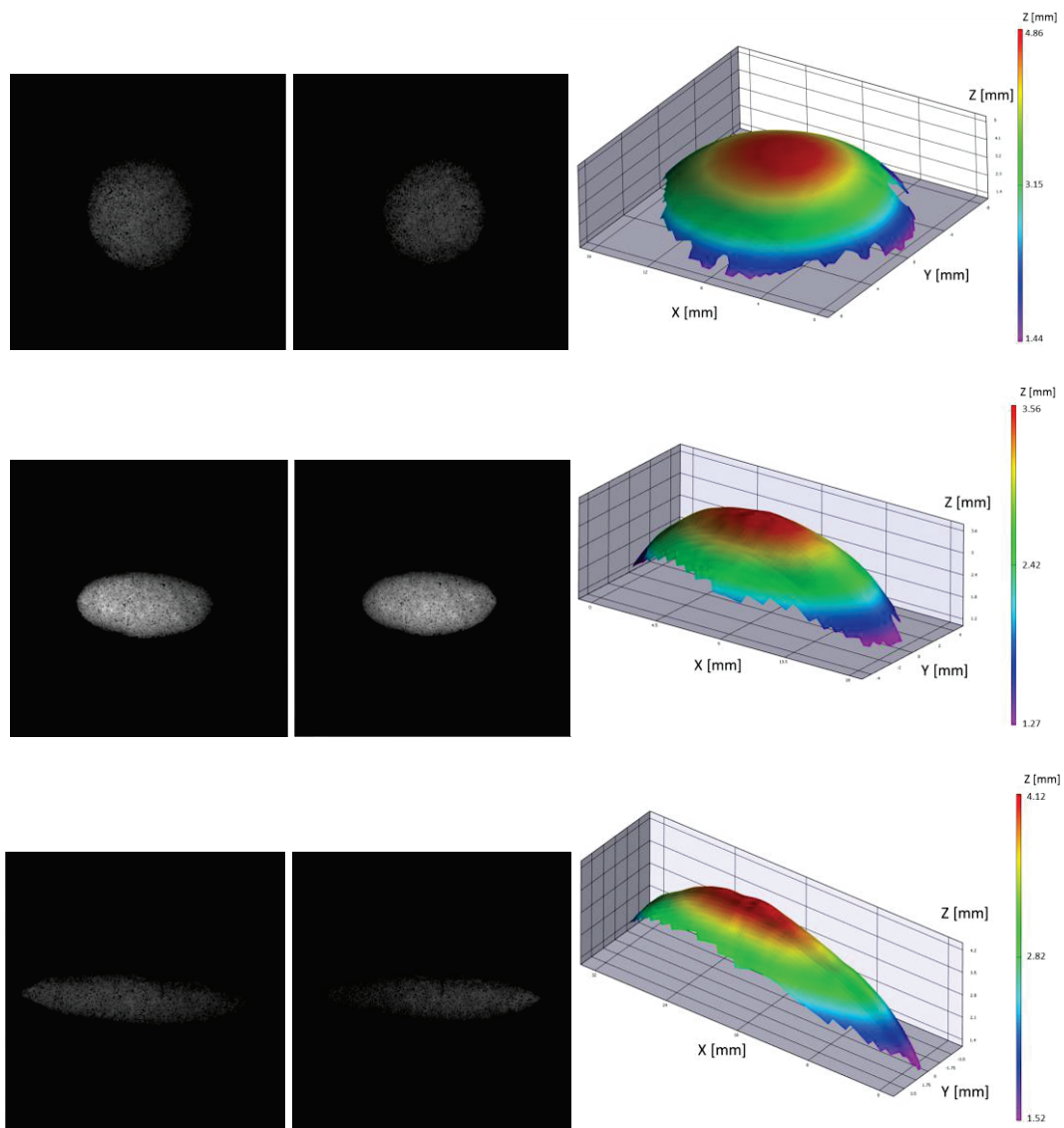
$$A_4 = \frac{2 t_0}{\lambda_x \lambda_y r_x r_y} \begin{bmatrix} (\lambda_x^2 r_y + \lambda_y^2 r_x) \\ r_y(I_1 \lambda_x^2 - \lambda_x^4) + r_x(I_1 \lambda_y^2 - \lambda_y^4) \\ (I_2 - 3)(\lambda_x^2 r_y + \lambda_y^2 r_x) + (I_1 - 3)[r_y(I_1 \lambda_x^2 - \lambda_x^4) + r_x(I_1 \lambda_y^2 - \lambda_y^4)] \\ 2(I_1 - 3)(\lambda_x^2 r_y + \lambda_y^2 r_x) \\ 2(I_2 - 3)[r_y(I_1 \lambda_x^2 - \lambda_x^4) + r_x(I_1 \lambda_y^2 - \lambda_y^4)] \end{bmatrix}^t \quad (4.28)$$

## 4.2.3 Résultats

### 4.2.3.1 Évolution de l'altitude en fonction de la pression

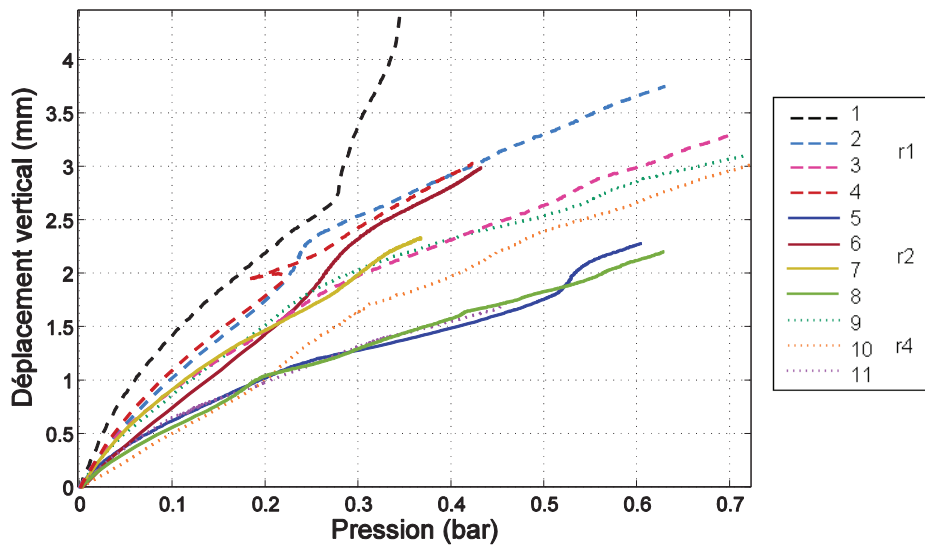
Un exemple de la forme de la capsule pour chaque type d'échantillon est donné sur la figure 4.5. On observe que la corrélation ne marche pas systématiquement sur les bords à l'encastrement, entraînant ainsi d'éventuelles irrégularités et asymétries sur les formes géométriques. En effet, des gouttelettes de sérum physiologique peuvent parfois s'accumuler dans ces zones et enlever le mouchetis faisant le cas échéant échouer la corrélation localement. Le positionnement des caméras permet cependant de conserver une grande zone de corrélation comme le montre les images issues de la caméra de gauche et de celle de droite qui présentent un grand surface commune (figure 4.5).

#### 4. Gonflement de capsule à l'échelle macroscopique : mesures par stéréocorrélation



**Figure 4.5 :** Forme de la capsule gonflée pour les trois types d'essais R1, R2 et R4 associée aux images issues des caméras de gauche et de droite.

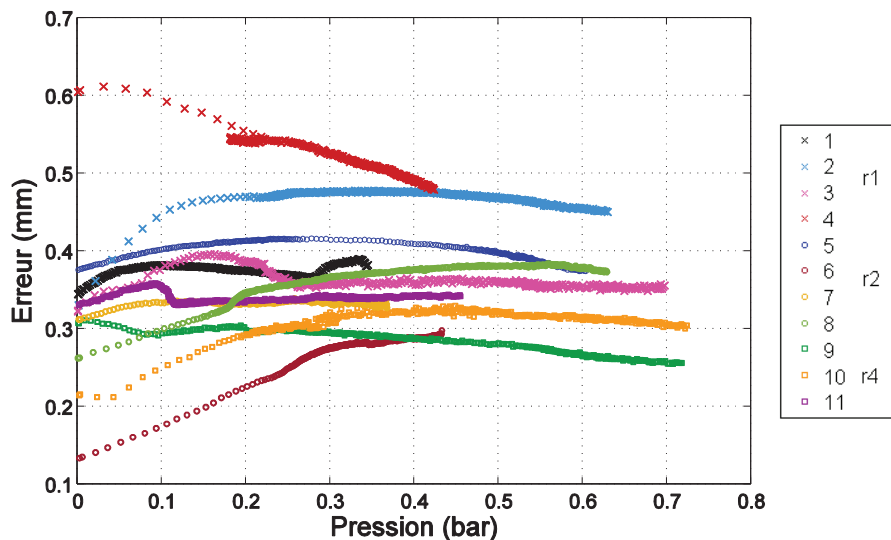
L'évolution du déplacement de l'apex avec la pression est assez variable suivant les échantillons. La figure 4.6 présente les courbes déplacement vertical-pression. L'augmentation brutale du déplacement en Z pour l'échantillon 1 à la fin de l'essai est due à un glissement de la capsule dans l'encastrement. La géométrie des types d'essais induit globalement des déplacements plus importants pour les essais circulaires que pour les essais elliptiques.



**Figure 4.6 :** Évolution du déplacement vertical du sommet de la capsule en fonction de la pression pour les différents types d'échantillons testés.

#### 4.2.3.2 Approximation de la forme par un ellipsoïde

La figure 4.7 rend compte de la performance de l'approximation de la géométrie de la capsule gonflée par un ellipsoïde. L'erreur entre la position des points réels et ceux sur une surface idéale est en moyenne autour de 0.35 mm. Cette erreur ne varie pas trop en fonction du niveau de chargement en général (sauf pour quelques échantillons). Un exemple de comparaison entre les formes réelle et idéalisée est illustré par la figure 4.8.



**Figure 4.7 :** Erreur moyenne entre la position réelle de la capsule et l'approximation par un ellipsoïde basé sur les dimensions théoriques de l'encastrement et du déplacement vertical.

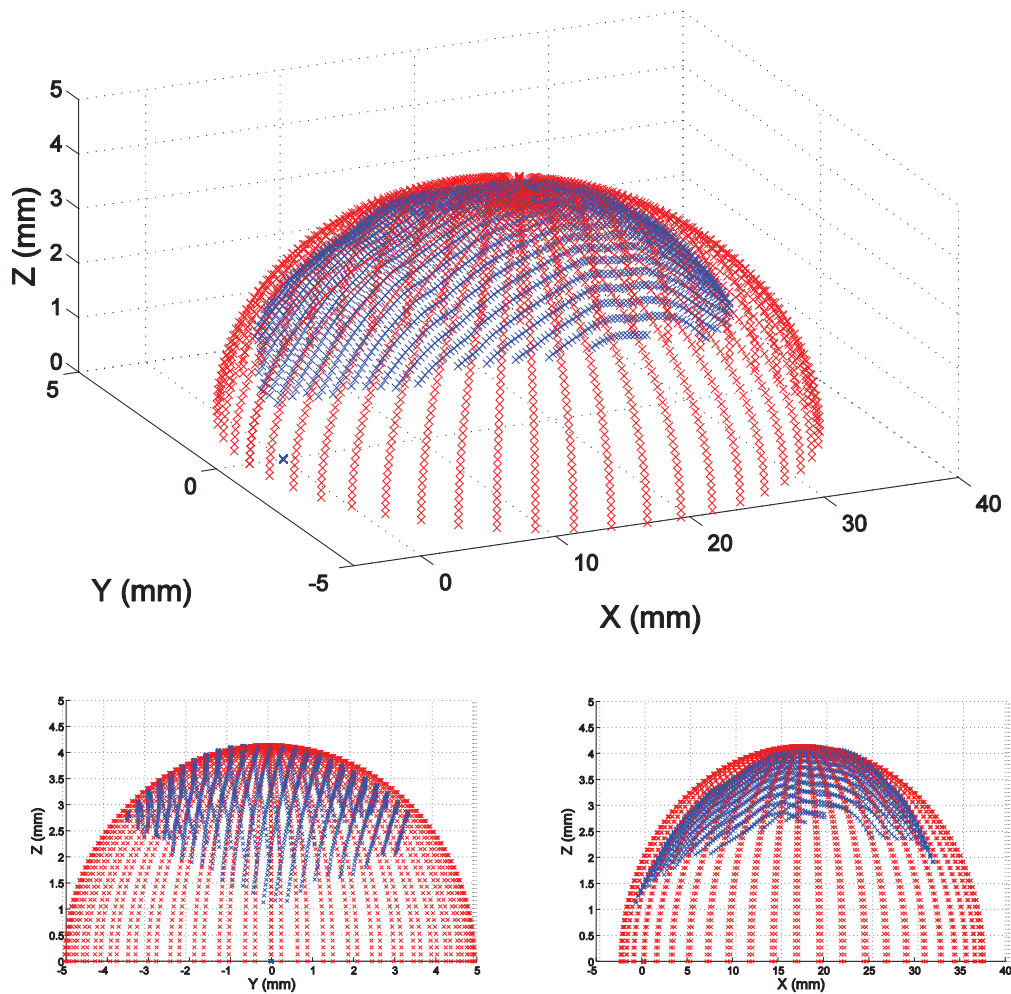
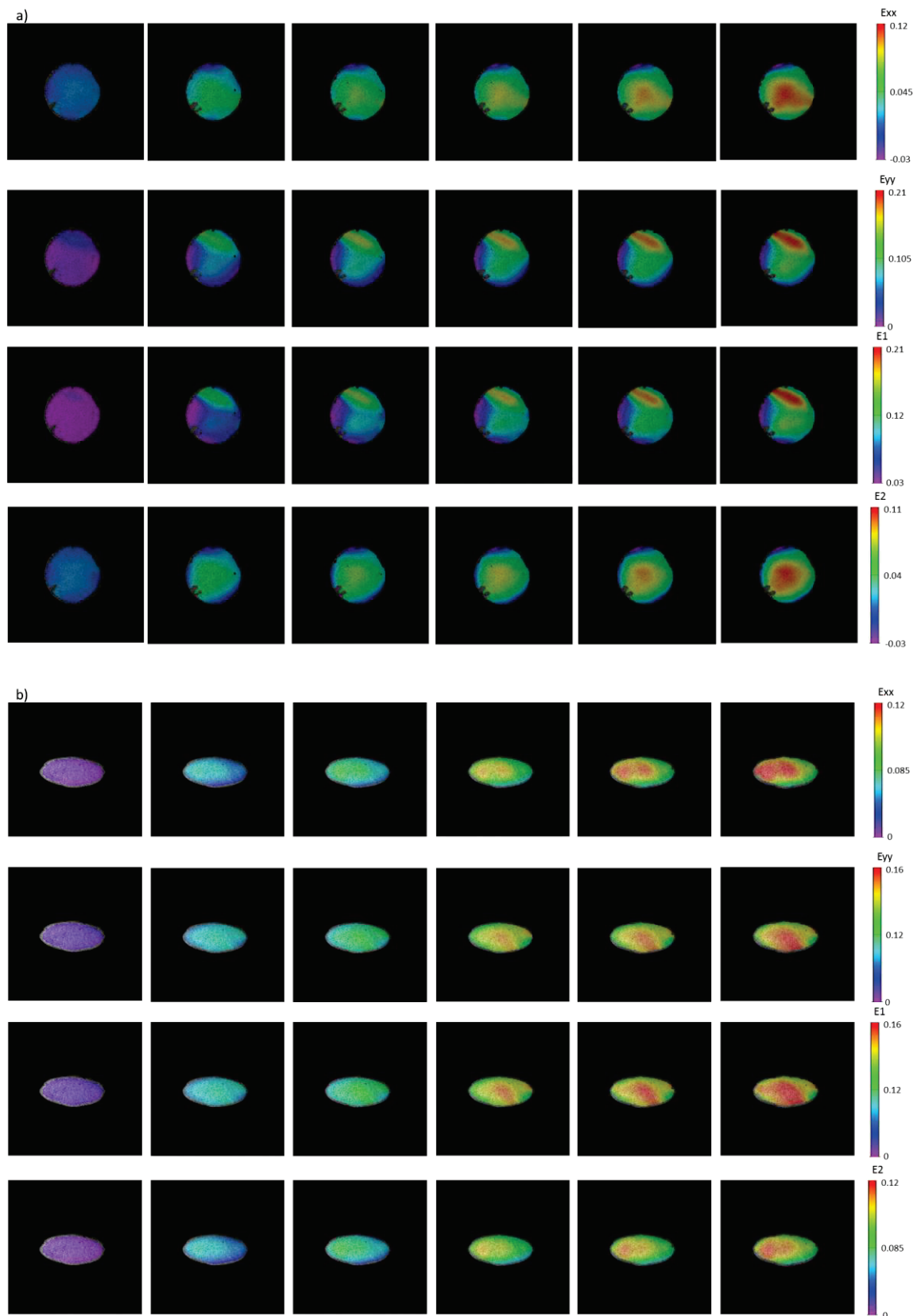


Figure 4.8 : Exemple de la géométrie de la capsule gonflée pour un échantillon R4 (en bleu) mis en relation avec l'approximation par un ellipsoïde (en rouge).

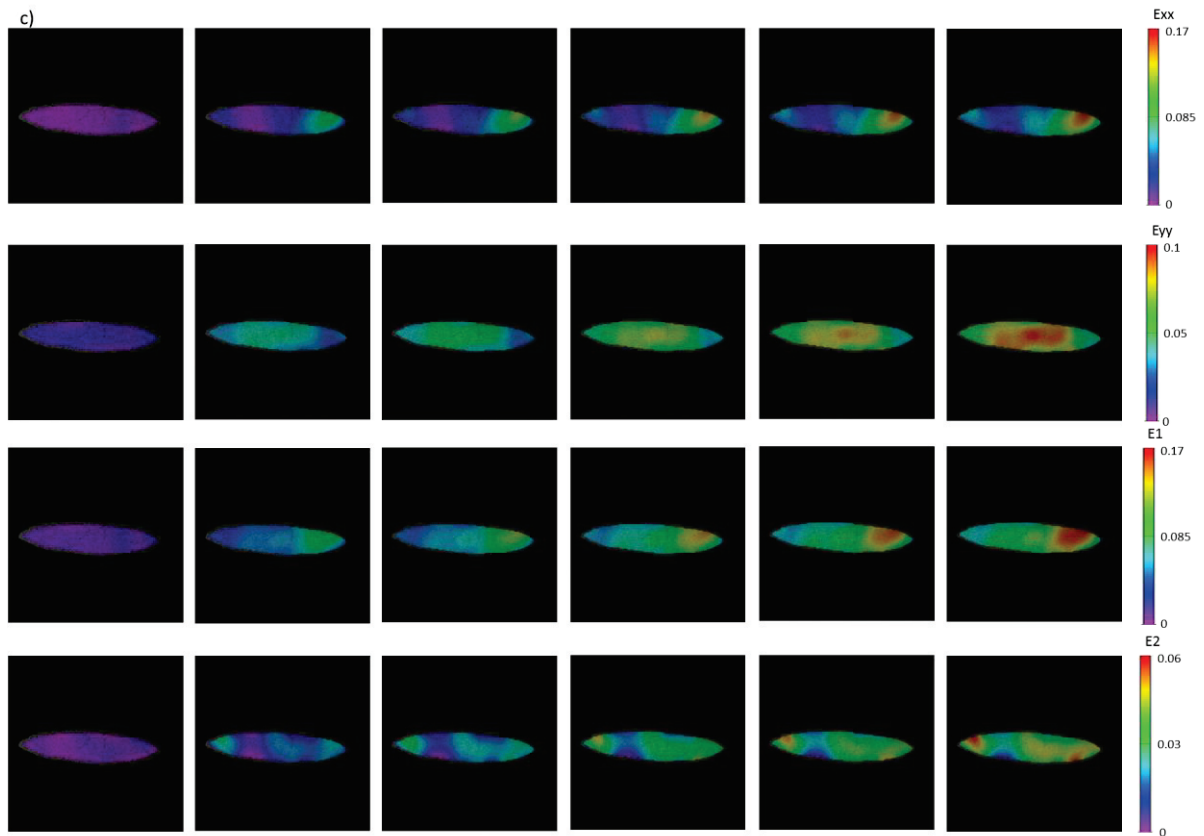
#### 4.2.3.3 Champs de déformations

Les champs de déformations présentent souvent des concentrations de déformations à certains endroits de l'encastrement. La figure 4.9 montre un exemple des champs de déformations  $E_{xx}$  et  $E_{yy}$  ainsi que les champs de déformations principales  $E_1$  et  $E_2$  pour chaque type d'échantillon. La non-uniformité du serrage induit des hétérogénéités dans les champs de déformations. Toutefois ces variations sont captées par la mesure de champ par stéréocorrélation qui permet donc d'avoir une idée réaliste sur l'état de déformation effectif de l'échantillon. On peut ainsi connaître avec précision les conditions aux limites imposées dans notre essai. On constate que les directions principales de déformations pour les essais elliptiques correspondent bien aux directions X et Y de l'ellipse lorsque le serrage est uniforme (figure 4.9b). En revanche lorsque le serrage induit des hétérogénéités de déformations, ces directions principales peuvent différer des directions X et Y (figure 4.9c).

#### 4. Gonflement de capsule à l'échelle macroscopique : mesures par stéréocorrélation







**Figure 4.9 :** Exemple de champs de déformations de Green-Lagrange dans les directions X et Y et dans les directions principales (E1 et E2) pour un échantillon R1 (a) R2 (b) et R4 (c).

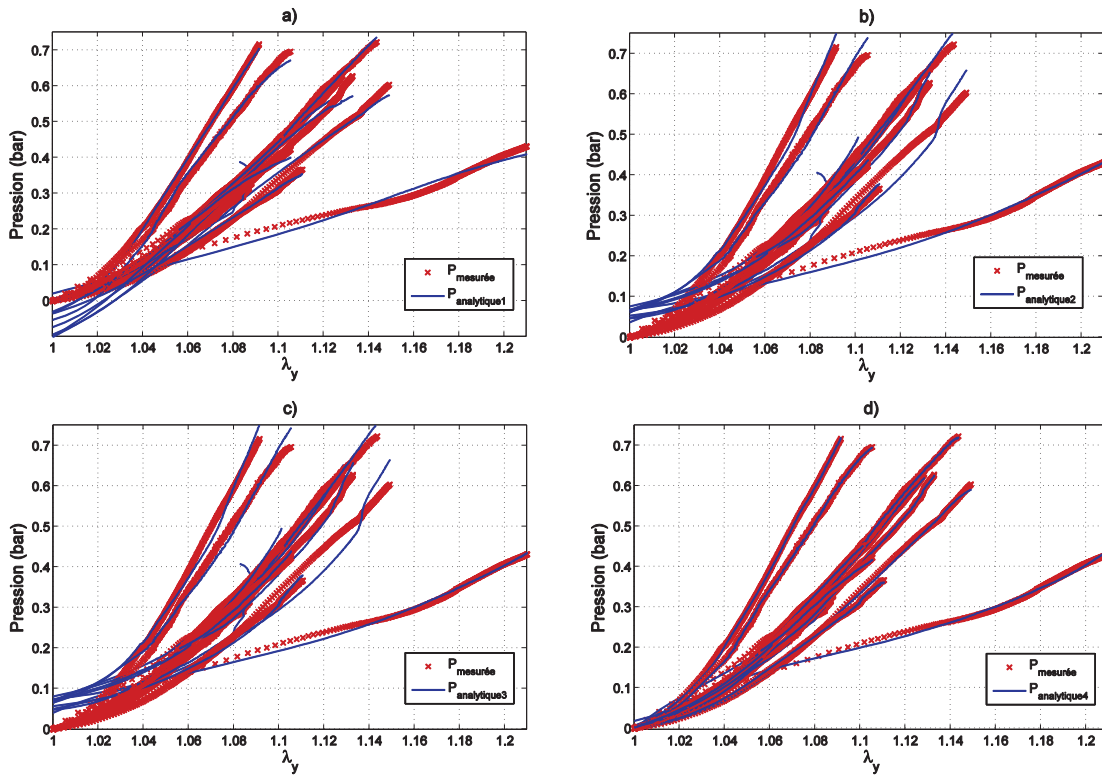
#### 4.2.3.4 Résultats d'identification

La figure 4.10 donne les résultats d'identification pour les différents potentiels testés. Le modèle de Mooney-Rivlin  $W_1$  linéaire en  $I_1$  et  $I_2$  ne capte pas bien les variations de raideurs entre petites et grandes déformations (figure 4.10a). Il en résulte une erreur importante dans la « toe-region » aux petites déformations (entre 0 et 2-3%). Un exemple de l'erreur entre pression expérimentale et pression calculée analytiquement par les 4 modèles est donné sur la figure 4.11. On constate alors que le modèle  $W_1$  induit une forte erreur au début de la courbe.

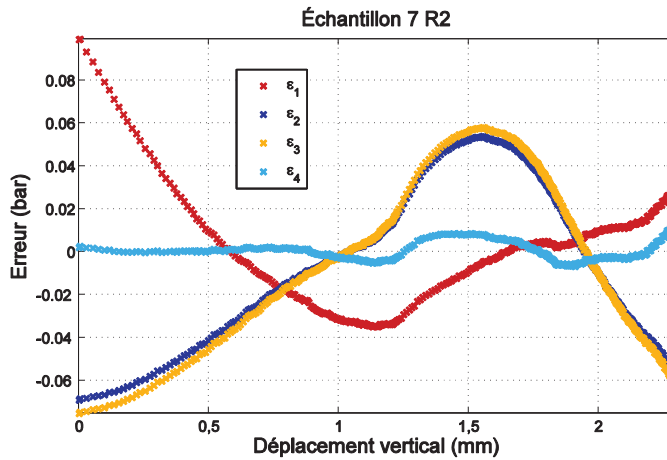
Les modèles  $W_2$  et  $W_3$ , simples en  $I_1$  et  $I_2$  respectivement sont globalement équivalents (figure 4.10 b et c). Ainsi, l'erreur entre pression expérimentale et pression analytique sur la figure 4.11 pour ces modèles est quasiment identique et varie de façon similaire. En fait, sur la gamme de déformations de nos échantillons (0-25%) les invariants ne sont pas assez différents pour faire apparaître une différence d'influence notable dans les modèles. La figure 4.12 illustre ce point en montrant un exemple de l'évolution du rapport entre les deux premiers invariants en fonction de l'élongation pour un échantillon de type R2. Comparativement à  $W_1$ , ces modèles

#### 4. Gonflement de capsule à l'échelle macroscopique : mesures par stéréocorrélation

respectent mieux les variations de raideurs entre petites et grandes déformations. Il n'en demeure pas moins un écart important entre les pressions expérimentales et analytiques aux faibles déformations. L'ordre de ces modèles n'est globalement pas assez élevé pour capter le raidissement de manière satisfaisante.

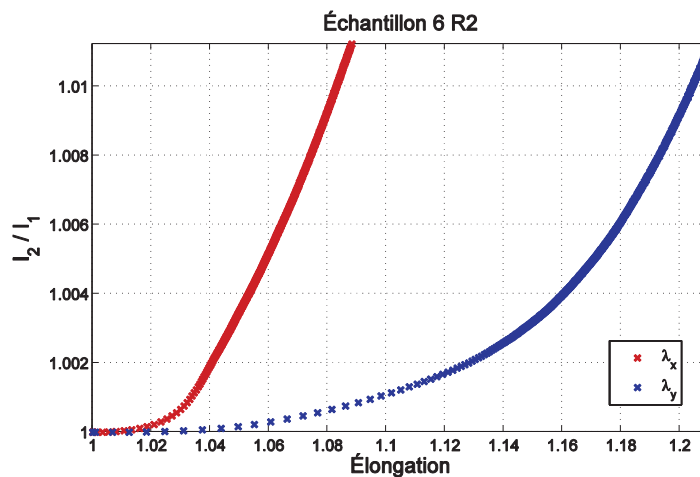


**Figure 4.10 :** Identification des lois polynomiales basées sur les 4 potentiels hyperélastiques testés. Les paramètres sont déterminés en recalant la pression analytique (bleu) sur la pression mesurée expérimentalement (rouge) par la méthode des moindres carrés.  
a) Pression analytique dérivée du modèle de Mooney-Rivlin  $W_1$ . b) Pression analytique dérivée du modèle en  $I_1$  simple  $W_2$ . c) Pression analytique dérivée du modèle en  $I_2$  simple  $W_3$ .  
d) Pression analytique dérivée du modèle de Rivlin et Saunders à l'ordre 2  $W_4$ .



**Figure 4.11** : Exemple de l'évolution de l'erreur entre pression expérimentale et pression calculée analytiquement à partir des potentiels hyperélastiques considérés, pour un échantillon R2. Les  $\epsilon_i$  correspondent aux potentiels  $W_i$ .

Le modèle de Rivlin et Saunders à l'ordre 2 (figure 4.10d) approxime le mieux les données de par les nombreux degrés de liberté inclus dans le modèle. Cependant le nombre important de coefficients à identifier le rend plus difficilement utilisable en pratique. Les valeurs des coefficients identifiés sur les 4 modèles pour tous les échantillons sont données dans le tableau 4.1 à titre indicatif.



**Figure 4.12** : Exemple de l'évolution du rapport entre les deux premiers invariant  $I_1$  et  $I_2$  en fonction de l'élongation dans la direction X (rouge) et dans la direction Y (bleu) pour un échantillon R2.

#### 4. Gonflement de capsule à l'échelle macroscopique : mesures par stéréocorrélation

Type	Essais	W <sub>1</sub>		W <sub>2</sub>		W <sub>3</sub>		W <sub>4</sub>				
		C <sub>1</sub> (Mpa)	C <sub>2</sub> (Mpa)	C <sub>1</sub> (Mpa)	C <sub>2</sub> (Mpa)	C <sub>1</sub> (Mpa)	C <sub>2</sub> (Mpa)	C <sub>10</sub> (Mpa)	C <sub>01</sub> (Mpa)	C <sub>11</sub> (Mpa)	C <sub>20</sub> (Mpa)	C <sub>02</sub> (Mpa)
R1	1	6.62e+01	-3.32e+01	1.58	1.12e+01	8.23e-01	5.35	3.60e+01	-1.80e+01	-1.10e+03	1.55e+03	5.15e+01
	2	1.62e+02	-8.28e+01	2.67	1.42e+01	1.44	6.50	1.62e+02	-8.12e+01	-3.86e+03	3.50e+03	1.08e+03
	3	1.87e+02	-9.50e+01	3.22	2.44e+01	1.71	1.14e+01	1.26e+02	-6.30e+01	-2.02e+03	2.02e+03	4.84e+02
	4	1.18e+02	-6.04e+01	1.70	1.06e+01	9.19e-01	4.81	4.35e+01	-2.17e+01	-5.42e+02	5.80e+02	1.15e+02
R2	5	9.72e+01	-4.97e+01	1.51	1.09e+01	8.23e-01	5.01	2.52e+01	-1.27e+01	-1.48e+02	2.57e+02	-1.10e+01
	6	2.00e+01	-9.27	2.50	2.01	1.37	1.01	1.13e+02	-5.63e+01	-1.64e+03	1.26e+03	5.51e+02
	7	5.76e+01	-2.92e+01	1.20	8.71	6.38e-01	4.12	1.37e+01	-6.79	7.25e+02	-6.04e+02	-2.24e+02
	8	1.51e+02	-7.71e+01	2.56	1.17e+01	1.39	5.27	5.32e+01	-2.65e+01	-5.35e+01	8.41e+01	2.83
R4	9	7.39e+01	-3.73e+01	1.43	2.16e+01	7.48e-01	1.07e+01	5.18e+01	-2.59e+01	-1.46e+03	1.81e+03	1.78e+02
	10	4.17e+01	-2.08e+01	2.12	1.03e+01	1.12	5.46	2.95e+01	-1.45e+01	2.77e+02	-3.92e+02	-2.82
	11	5.53e+01	-2.79e+01	8.44e-01	2.22e+01	4.35e-01	1.11e+01	1.83e+01	-9.10	4.67e+02	-5.86e+01	-3.03e+02

**Tableau 4.1** : Valeurs des coefficients C<sub>ij</sub> des différents modèles de potentiels hyperélastiques pour chaque échantillon classés par type.

#### 4.2.3.5 Analyse de la rupture

Le tableau 4.2 présente les valeurs moyennes à rupture de la pression, altitude et élongation pour les différentes formes d'échantillon. Les élongations dans les deux directions X et Y sont sensiblement différentes pour les échantillons elliptiques et confirment qu'il existe une direction de déformation principale pour ces chargements non-équibiaxiaux.

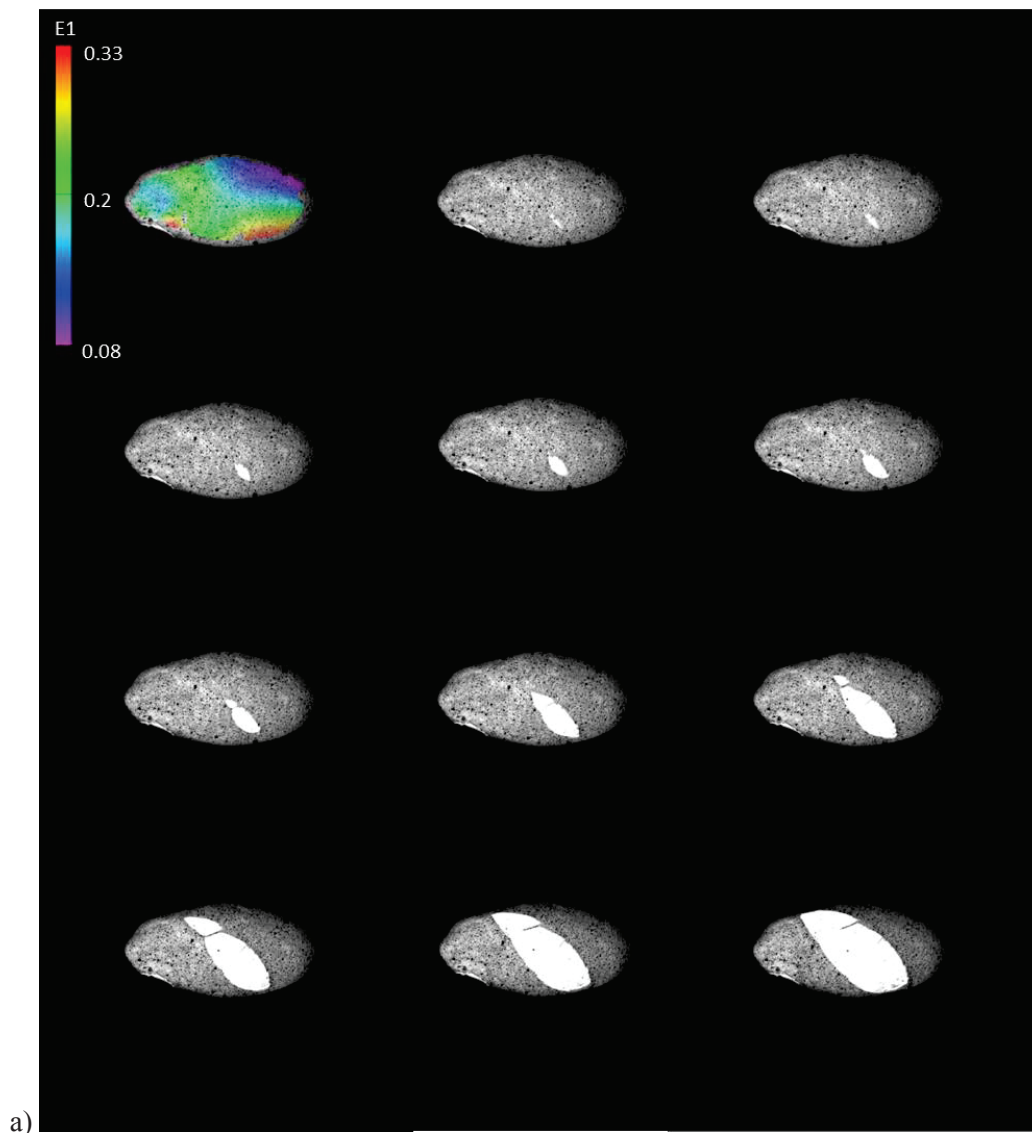
	R1		R2		R4	
	Moy (n=4)	SD (n=4)	Moy (n=4)	SD (n=4)	Moy (n=3)	SD (n=3)
<b>Pression à rupture (bar)</b>	0.523	0.167	0.508	0.128	0.632	0.154
<b>Altitude à rupture (mm)</b>	5.044	0.685	3.399	0.303	3.671	0.596
<b>λ<sub>x</sub> à rupture</b>	1.105	0.011	1.102	0.017	1.055	0.006
<b>λ<sub>y</sub> à rupture</b>	1.106	0.019	1.151	0.043	1.112	0.028

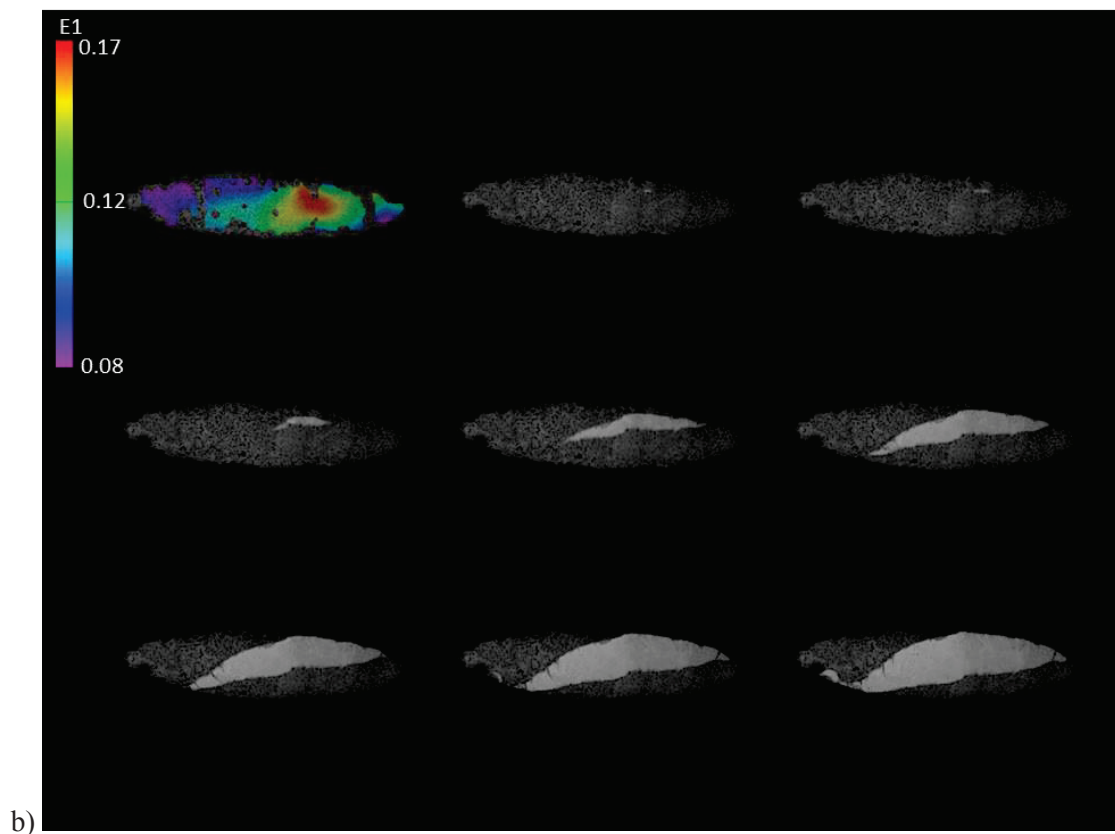
**Tableau 4.2** : Paramètres à rupture moyens et écart type (SD) pour chaque type de conditions d'essai (R1, R2 ou R4)

#### 4. Gonflement de capsule à l'échelle macroscopique : mesures par stéréocorrélation

---

Pour les échantillons testés, la rupture est souvent intervenue brutalement et n'a donc pas pu être captée à faible vitesse d'acquisition des images (50 Hz). Cependant, dans 2 cas, elle a été relativement graduelle et la propagation de la fissure a pu être enregistrée. La figure 4.13 présente ces cas et montre l'apparition et la propagation de la rupture pour un échantillon R2 (figure 4.13a) et un échantillon R4 (figure 4.13b). On constate alors que la rupture démarre à partir d'un défaut qui induit une concentration de déformation, puis une fissure se crée et se propage rapidement dans la direction de moindre résistance.





**Figure 4.13 :** Rupture de la capsule de foie sous gonflement lors d'un chargement non-équibiaxial. a) Séquence d'image à  $\sim 5$  Hz pour un échantillon de type R2. b) Séquence d'image à 50 Hz pour un échantillon de type R4.

#### 4.2.4 Discussion

Cette campagne expérimentale visait à mesurer précisément les conditions d'essais utilisées lors des tests effectués sous microscope. La mesure de champ globale sur tout l'échantillon a permis de connaître les conditions aux limites réelles de l'essai de gonflement et d'identifier le comportement via différentes lois hyperélastiques.

Les variations de comportement entre les échantillons mises en évidence par la figure 4.6 rendent compte de la difficulté de l'identification des propriétés mécaniques des tissus biologiques. En effet, la variation inter-échantillons au sein d'un même foie étant déjà conséquente, on imagine la complexité de modélisation lorsqu'il faut considérer en plus la variabilité inter-individu.

La variabilité observée ici provient également en partie des conditions d'essais particulières. La vitesse de chargement n'est pas rigoureusement identique entre les échantillons, malgré les précautions expérimentales. La comparaison des essais s'effectue donc sans prise en compte des phénomènes visqueux. De plus, l'encastrement réalisé par les vis de serrage n'est pas uniforme entre les échantillons et influe probablement sur les déplacements



#### 4. Gonflement de capsule à l'échelle macroscopique : mesures par stéréocorrélation

---

mesurés par stéréocorrélation (c'est le cas par exemple pour l'échantillon 1 qui a glissé dans les mors sur la fin de l'essai).

Le problème de la maîtrise des conditions aux limites et de la réalisation de l'encastrement, souligné dans l'étude menée dans la thèse de Brunon (Brunon, 2011), n'a pas entièrement été résolu. Le positionnement de nombreuses vis de serrage a permis de maîtriser un peu mieux les conditions aux limites et de limiter le glissement dans les mors. Cependant la mesure de champ révèle toujours des concentrations de déformations hétérogènes dans l'encastrement, comme souligné par la figure 4.9. Un des intérêts de l'essai de gonflement, qui réside dans le fait de solliciter le tissu loin des bords, et ainsi de s'affranchir des problèmes d'initiation de fissures dues à la découpe, est donc remis en cause par ces concentrations de contraintes dans les vis. La mesure de champ permet cependant de mesurer et quantifier ce phénomène et ainsi connaître l'état de déformation réel du matériau pendant l'essai.

Dans cet essai de gonflement, la gamme de déformations admissibles par la capsule de foie est trop faible pour que les deux premiers invariants soit significativement différents, comme le montre la figure 4.12. Il en résulte que la modélisation du comportement via le potentiel hyperélastique en  $I_1$  simple ou  $I_2$  simple sont équivalentes. Hollenstein et Mazza (Hollenstein and Mazza, 2012), dans leur identification du comportement de la capsule de foie via le modèle de Rivlin et Saunders ( $W_4$ ), trouvent que la capsule se comporte comme un matériau en  $I_2$ . Ainsi ils modélisent le comportement de la capsule par un modèle en  $I_2$  simple. Cependant, leur identification repose sur des essais sur échantillon de capsule de foie d'origine bovine, dont ils adaptent ensuite les propriétés pour correspondre à l'humain. Des différences de comportements ou de gamme de déformations admissibles entre les capsules humaine et bovine sont probablement à l'origine de ces écarts de résultats des méthodes d'identification.

Johannknecht et Jerrams (Johannknecht and Jerrams, 1999) soulignent le fait que les paramètres d'une loi hyperélastique doivent être identifiés à partir d'essai multiaxiaux, dans la mesure où la réponse du matériau à une sollicitation uniaxiale et multiaxiale est très différente. Le rôle de l'invariant  $I_2$  se trouve être beaucoup plus important en déformation multiaxiale qu'en uniaxiale. Ceci est particulièrement vrai pour les matériaux type élastomères qui peuvent subir de très grandes déformations, et donc pour lesquels les invariants  $I_1$  et  $I_2$  diffèrent grandement. Un des objectifs de notre montage elliptique pour une sollicitation non-équibiaxiale était de solliciter davantage le second invariant en atteignant des déformations plus importantes que dans les essais menés par Brunon (Brunon, 2011). Cependant, si le montage permet l'introduction d'une différence entre les 2 invariants par rapport à une configuration équibiaxiale comme le montre la figure 4.12, les déformations atteintes avant rupture ne sont pas assez importantes pour que cette différence ait un impact significatif sur le type de potentiel hyperélastique à choisir entre une formulation en  $I_1$  et/ou en  $I_2$ .

Il est à noter que cette méthode d'identification et de modélisation via ces potentiels hyperélastiques repose sur des hypothèses fortes sur la structure du tissu, notamment en ce qui concerne l'hypothèse de contrainte homogène dans l'épaisseur, qui n'est pas en totale adéquation avec les observations microscopiques reportées dans le chapitre 3. En effet, l'anisotropie par couche décrite dans le chapitre 3 induit vraisemblablement des hétérogénéités dans la contrainte en fonction de la localisation dans l'épaisseur. Cependant, le croisement entre les directions privilégiées des fibres entre les différentes couches crée en moyenne une certaine isotropie. Cette hypothèse d'isotropie est renforcée par la forme de la capsule gonflée dans le cas équibiaxial qui présente une géométrie axisymétrique. L'anisotropie locale n'induit donc pas

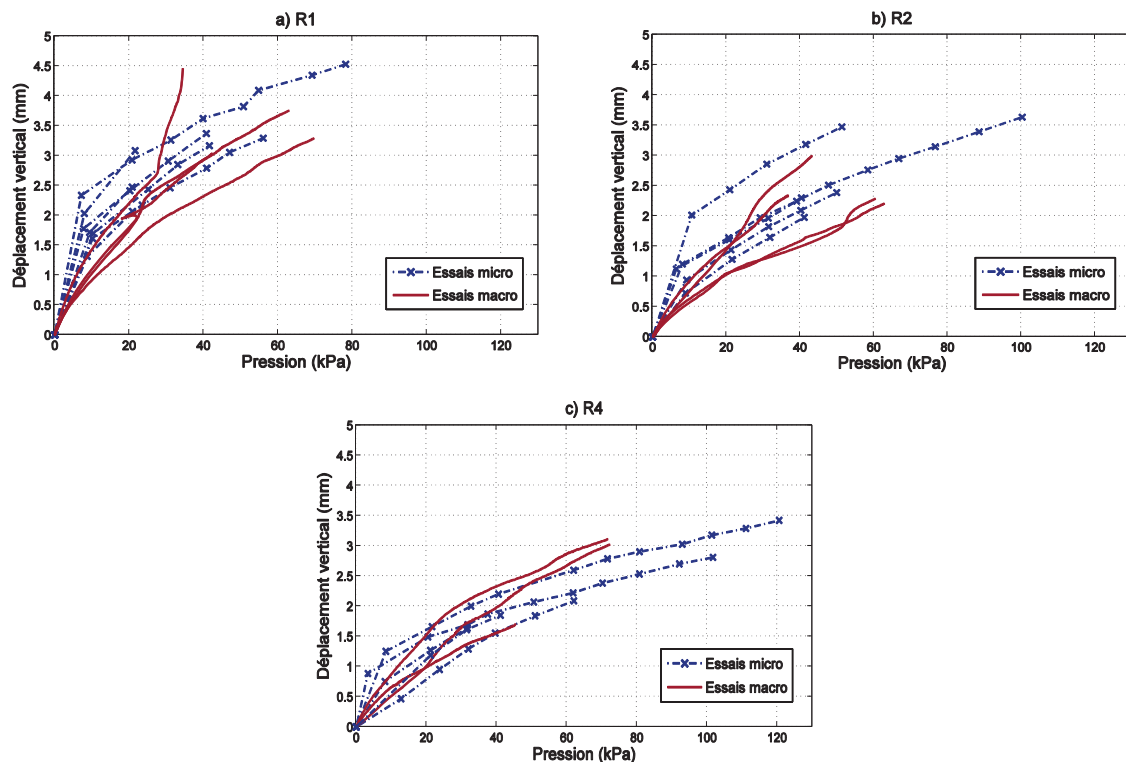
une anisotropie globale, puisque le gonflement d'échantillons initialement circulaires ne mène pas à une forme ellipsoïdale du dôme de gonflement, comme c'est le cas dans Zioupos *et al.* (Zioupos et al., 1992) lors du gonflement de péricarde ou dans Tonge *et al.* (Tonge et al., 2013) pour du gonflement de peau.

La faible erreur entre la position réelle de la capsule et la position approximée par un ellipsoïde indique qu'il est possible d'identifier des déformations macroscopiques à partir de la seule mesure de déplacement du sommet de la capsule, moyennant la modélisation analytique de l'essai.

### 4.3 Retour sur les essais microscopiques

#### 4.3.1 Analyse macroscopique des essais sous microscope

La figure 4.14 présente l'évolution du déplacement de l'apex avec l'augmentation de pression pour les échantillons gonflés sous microscope mis en relation avec les essais de stéréocorrélation pour chaque type. Similairement aux courbes des essais de stéréo (figure 4.6), on constate que les essais équibiaxiaux (circulaires) conduisent à une altitude en moyenne plus élevée que les essais elliptiques. Cette différence provient de la géométrie du montage et notamment des dimensions des conditions aux limites qui, dans le cas équibiaxial, laisse une plus grande surface d'échantillon libre loin de l'encastrement.



**Figure 4.14** : Déplacement vertical en fonction de la pression pour les essais menés sous microscope (en bleu) et les essais de stéréo (en rouge) pour chaque type de chargement.

#### 4. Gonflement de capsule à l'échelle macroscopique : mesures par stéréocorrélation

---

On constate que la variabilité des propriétés mécaniques inter individus n'est pas plus importante que la variabilité inter échantillons au sein d'un même foie, dans la mesure où la dispersion des courbes n'augmente pas radicalement lorsqu'on intègre des données issues de foies différents.

Suite aux résultats montrant la validité de l'approximation de la forme du dôme de gonflement par un ellipsoïde, les déformations macroscopiques ont pu être calculées sur les essais de gonflement sous microscope présentés dans le chapitre 3. Pour plus de lisibilité, et dans toute la suite, on se réfèrera à ces déformations par le terme de « déformations macroscopiques ellipsoïdales », afin de les distinguer des déformations macroscopiques calculées par stéréocorrélation. Les élongations dans les directions X et Y ont été calculées à partir de la mesure du déplacement vertical de l'apex de la capsule grâce au capteur de déplacement de l'objectif du microscope. Les longueurs des méridiens de l'ellipsoïde de gonflement dans les directions X et Y sont calculées via la deuxième formule de Ramanujan d'approximation de la circonférence d'une ellipse (Ramanujan, 1914).

$$L \approx \frac{\pi(a+b)}{4} \left[ 1 + \frac{3h}{10 + \sqrt{4-3h}} \right] \quad (4.29)$$

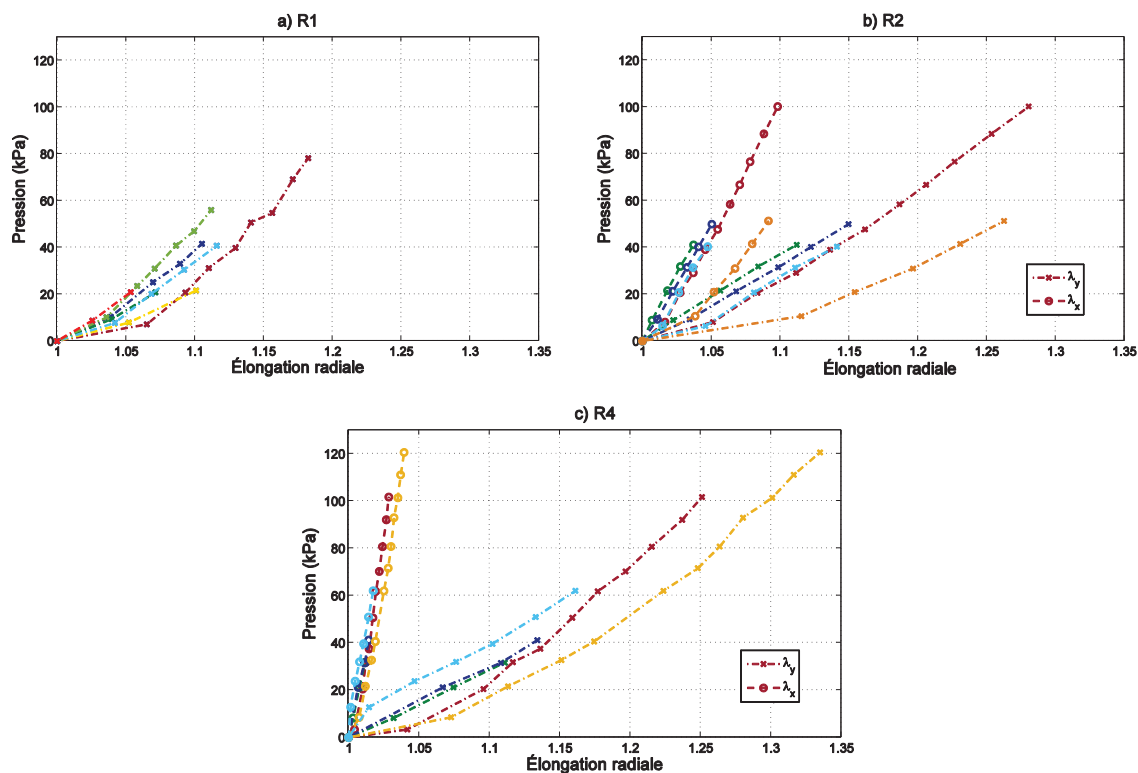
avec

$$h = \left( \frac{a-b}{a+b} \right)^2 \quad (4.30)$$

où  $a$  et  $b$  sont les demi petit axe et demi grand axe de l'ellipse.  $a$  correspond donc au déplacement en Z du sommet de la capsule et  $b$  aux dimensions de l'encastrement.

On obtient alors les élongations  $\lambda_x$  et  $\lambda_y$  en divisant par les dimensions initiales de l'ellipse d'encastrement suivant le cas (R1, R2 ou R4). L'évolution de ces élongations radiales est présentée sur la figure 4.15 pour les différents chargements considérés. On retrouve le comportement caractéristique des tissus mous avec une « toe-region » aux petites déformations suivi d'un raidissement.

Le rapport entre  $\lambda_x$  et  $\lambda_y$  apparait constant entre tous les essais et n'est défini uniquement par la géométrie des échantillons comme le montre les figures 4.15 b et c. Les variations de ce rapport, qui pourraient être induites par une anisotropie locale de la capsule de foie, ne peuvent donc pas être captées dans cette approche par approximation ellipsoïdale.



**Figure 4.15 :** Évolution de la pression en fonction de l'élongation radiale dans la direction X (o) et dans la direction Y (x) pour les échantillons testés sous microscope. Les différents types de chargement (R1 a R2 b et R4 c) sont distingués.

### 4.3.2 Influence de l'état initial sur le calcul de déformations

Evidemment, le choix de l'état initial pour ce calcul de déformations macroscopiques ellipsoïdales influe grandement sur les valeurs ultimes de déformation. Dans la mesure où un reset du capteur de position de l'objectif, qui permet de mesurer la position en Z du sommet de la capsule sur les essais microscopiques, a été fait lorsque la capsule n'est pas encore chargée fortement et présente uniquement une courbure positive ( $P \approx 0.02b$ ), les déformations macroscopiques ellipsoïdales peuvent être calculées relativement à deux états initiaux distincts. Le premier correspond à l'état initial choisi pour le calcul de déformations microscopiques par photoblanchiment correspondant à une pression de 0.1 b, et le second est associé à celui choisi pour les essais de stéréocorrélation qui correspond à la pression nécessaire pour obtenir une courbure positive de la capsule soit 0.02 b.

#### 4. Gonflement de capsule à l'échelle macroscopique : mesures par stéréocorrélation

La figure 4.16 illustre l'influence du choix de l'état initial pour le calcul de déformations macroscopiques ellipsoïdales, sur les valeurs de déformations au cours du chargement. La problématique de la détermination d'un état initial fiable, pour considérer les valeurs de déformation d'une manière quantitative, est alors révélée ici, puisque selon l'état choisi, les valeurs à ruptures diffèrent grandement.

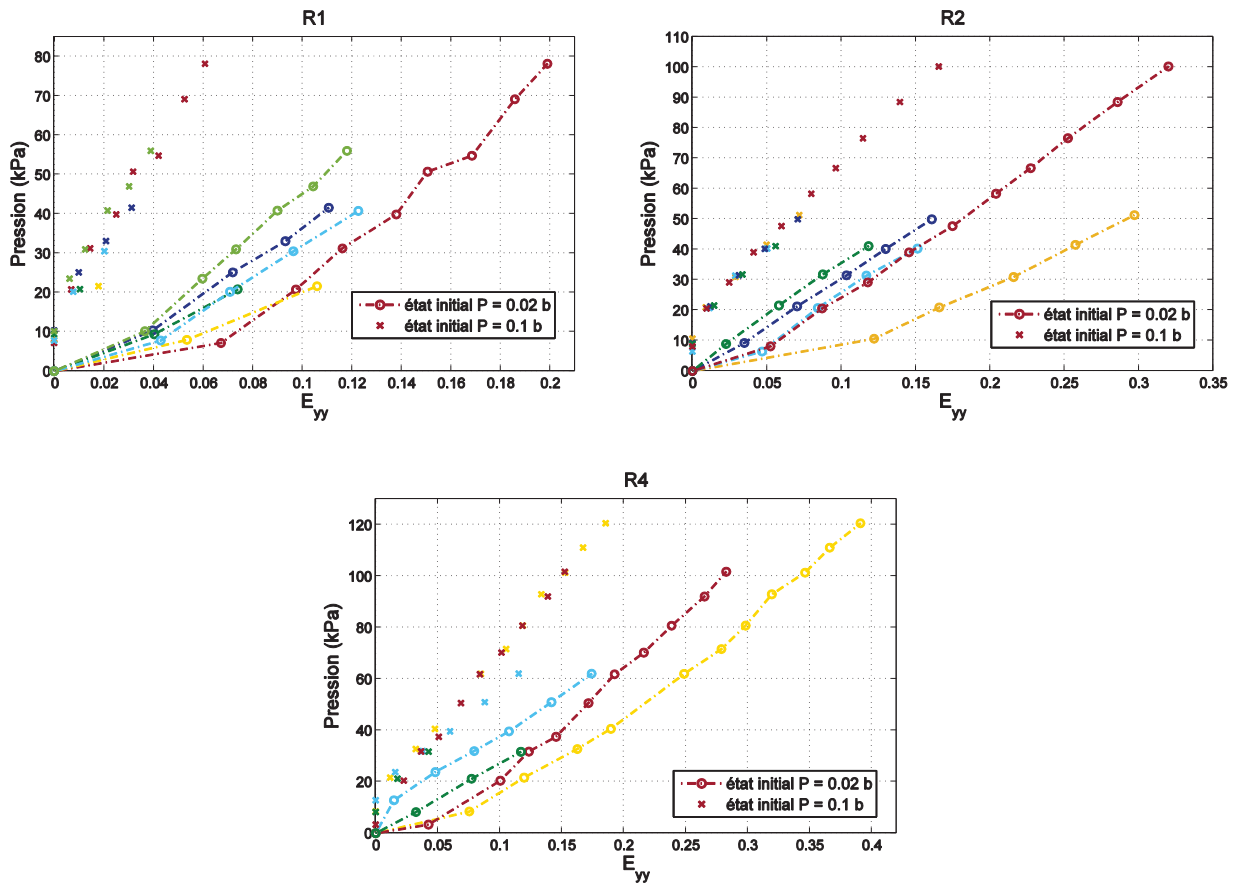


Figure 4.16 : Influence de l'état initial sur les déformations macroscopiques ellipsoïdales dans la direction Y, pour les différents types d'échantillon.

### 4.3.3 Comparaison des déformations macroscopiques stéréo et ellipsoïdales

La possibilité de calculer les déformations macroscopiques des essais sous microscopes pour un état initial de pression égale à 0.02 b, permet de comparer ces déformations à celles calculées pour les essais de stéréocorrélation. On peut alors juger davantage de la variabilité inter-individus et inter-échantillons des propriétés mécaniques en comparant les comportements mécaniques de la capsule des différents foies testés lors de ces deux protocoles expérimentaux.

La figure 4.17 présente l'évolution de la pression en fonction des déformations macroscopiques de Green-Lagrange (dans les directions X et Y), pour les essais sous microscope (en bleu, calculées par l'approximation ellipsoïdale) et les essais de stéréocorrélation (en rouge). Les différents types d'essais (R1, R2 et R4) sont distingués.

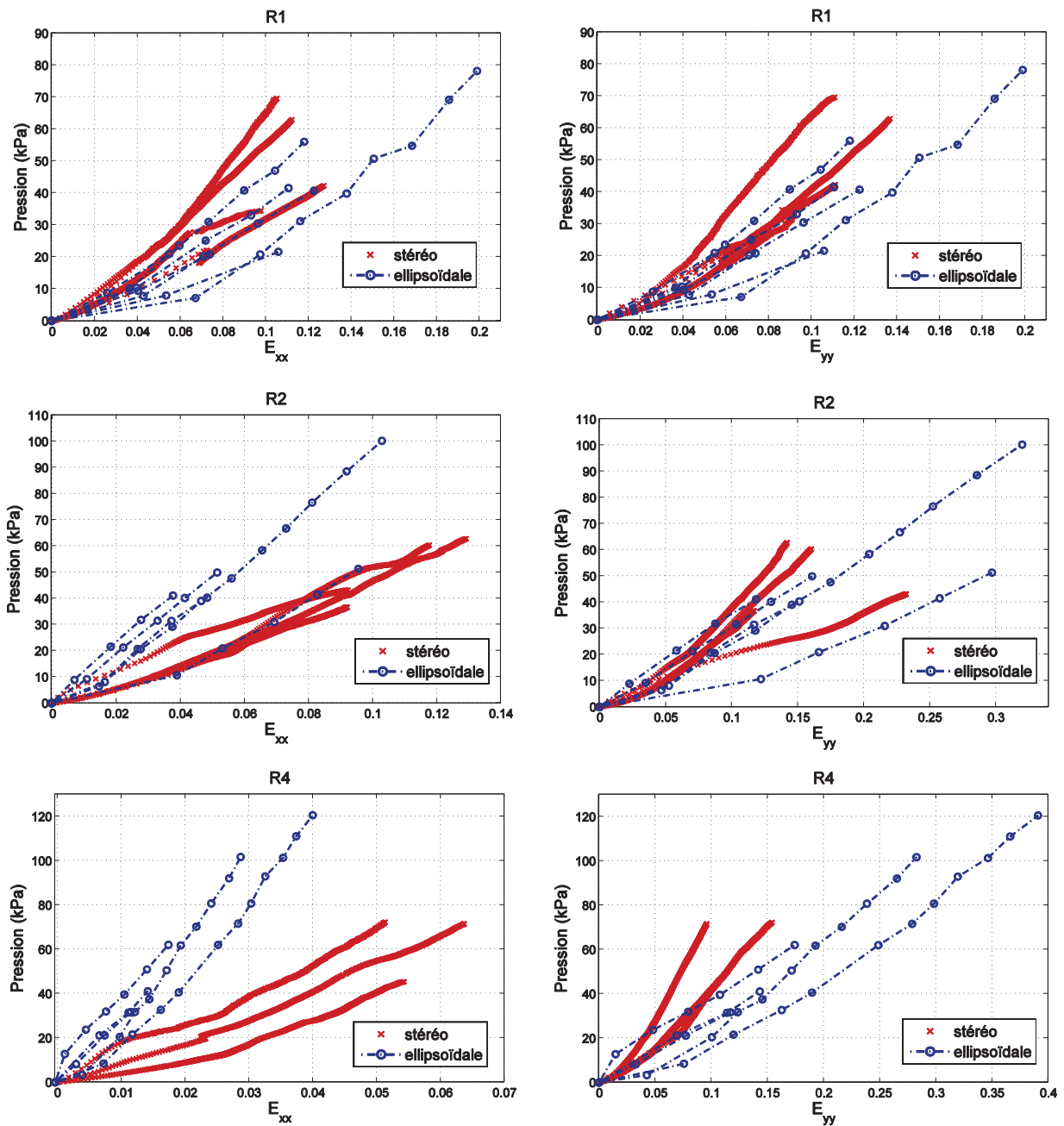
La figure 4.17 regroupe alors les comportements mécaniques de 26 échantillons différents prélevés sur 4 foies différents. On remarque alors que la variabilité inter-échantillons apparaît être du même ordre de grandeur que la variabilité inter-individus, dans la mesure où il n'y a pas de regroupement des courbes pour les échantillons issus d'un même foie.

On remarque cependant une légère séparation entre les échantillons testés sous microscope et ceux testés par stéréocorrélation. Cette séparation est davantage marquée avec l'anisotropie du chargement puisqu'elle est très nette pour les types R4 et moins évidente pour le R1. Elle provient probablement de l'influence de la vitesse de chargement sur le comportement qui n'a pas été étudié ici. En effet, même si l'on se place à chaque fois dans un cas de chargement quasi-statique, les vitesses de déformations lors des deux protocoles expérimentaux diffèrent significativement du fait des contraintes induites par les modalités d'imageries différentes. Pour les essais de stéréocorrélation, la mémoire limitée des caméras impose de mener les essais plus rapidement que lors du protocole sous microscope, où la vitesse est très lente due au suivi manuel de la ROI en déplaçant l'objectif du microscope. Le post-traitement révèle que les essais de stéréocorrélation ont présentés un taux de déformation moyen, dans la direction Y, de  $2.10^{-3} \text{ s}^{-1}$ , alors que les essais sous microscope ont été menés en moyenne à un taux de déformation de  $7.10^{-5} \text{ s}^{-1}$ .

Le caractère viscoélastique de la capsule est donc mis en évidence ici, et ne permet donc pas de tirer de conclusions définitives sur l'origine de la variabilité des comportements mécaniques observés.



#### 4. Gonflement de capsule à l'échelle macroscopique : mesures par stéréocorrélation



**Figure 4.17 :** Courbes Pressions-Déformations de Green-Lagrange dans la direction X ( $E_{xx}$ ) et dans la direction Y ( $E_{yy}$ ), pour chaque type de chargement. Les déformations macroscopiques calculées à partir de l'approximation ellipsoïdale des essais sous microscope sont présentées en bleu. Les déformations macroscopiques calculées à partir des essais de stéréocorrélation sont présentées en rouge.

##### ***Bilan des essais de gonflement avec stéréocorrélation***

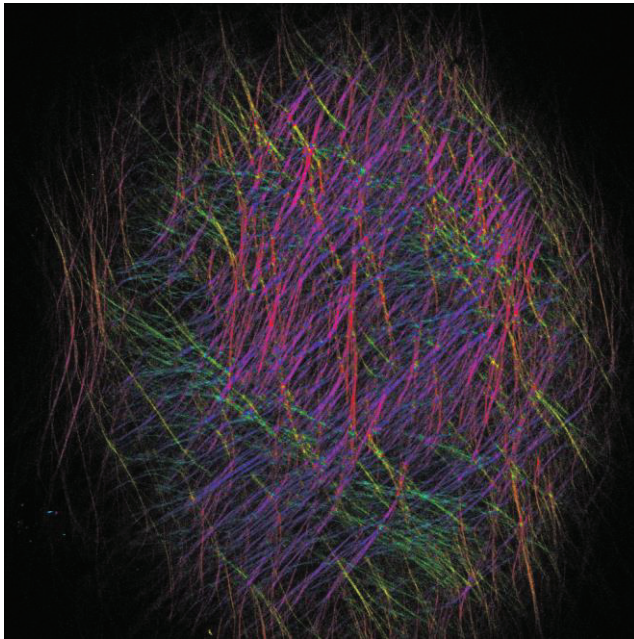
*Reprendre les essais menés sous microscope à l'échelle macroscopique a permis de préciser les conditions de notre essai notamment en termes de conditions aux limites et de géométrie globale de l'échantillon pendant le gonflement.*

*Ainsi, en validant l'hypothèse d'approximation de la forme de la capsule par un ellipsoïde, les essais microscopiques ont pu être analysés d'un point de vue macroscopique, en calculant des élongations globales.*

*Le suivi du déplacement du sommet de la capsule a permis l'identification de modèles hyperélastiques du comportement et notamment de tester l'influence et l'intérêt de l'inclusion du premier et/ou second invariant dans les formulations des potentiels hyperélastiques. Globalement, les déformations admissibles par la capsule de foie avant rupture ne sont pas suffisamment importantes pour que ces deux premiers invariants diffèrent significativement.*

*La mesure de champ par stéréocorrélation offre la possibilité de connaître précisément les conditions aux limites de l'essai. Elle a ainsi mis en évidence une limitation expérimentale importante de nos essais, à savoir la non uniformité du serrage de nos échantillons qui induit des concentrations de contraintes au cours du gonflement.*

---



---

---

---

---

# Chapitre 5

## Confrontation de l'hypothèse de transformation affine aux données expérimentales

*L'hypothèse de transformation affine, permettant de faire le lien entre la déformation macroscopique et microscopique dans les modèles constitutifs, est testée dans ce chapitre. Une comparaison des déformations macroscopiques ellipsoïdales et microscopiques est menée dans un premier temps. Puis, une analyse basée sur la confrontation de la réorientation expérimentale et calculée à partir de cette hypothèse, est proposée pour évaluer sa validité.*

### Sommaire

---

<b>5.1</b>	<b>Introduction .....</b>	<b>126</b>
<b>5.2</b>	<b>Déformation locale vs déformation globale.....</b>	<b>126</b>
<b>5.3</b>	<b>Réorientation relative à la déformation globale .....</b>	<b>129</b>
5.3.1	Méthode .....	129
5.3.2	Résultats et discussion.....	130
<b>5.4</b>	<b>Évolution de l'orientation dans la grille photoblanche .....</b>	<b>133</b>

---

## 5.1 Introduction

Une des principales préoccupations dans le développement de modèles constitutifs basés sur la microstructure est de savoir comment la déformation macroscopique du tissu va être retransmise aux fibres à l'échelle microscopique. La manière de faire le lien entre ces deux échelles a en effet de grandes conséquences sur la réponse du modèle.

Usuellement, l'hypothèse de transformation affine est retenue dans la plupart des modèles. On suppose alors que la déformation locale des fibres est égale à la transformation tensorielle de déformation macroscopique du tissu, appliquée dans la direction particulière des fibres. Dans ce cas, considérant  $\underline{\underline{E}}$  le tenseur des déformations de Green-Lagrange appliqué au tissu global, et  $\mathbf{M}$  le vecteur directeur d'une famille de fibres dans le volume représentatif, on aura  $\underline{\underline{E}}_{fibres}$ , la déformation des fibres orientées dans la direction  $\mathbf{M}$ , donnée par:

$$\underline{\underline{E}}_{fibres} = \mathbf{M}^T \underline{\underline{E}} \mathbf{M} \quad (5.1)$$

L'approximation forte faite dans le cadre de la transformation affine réside dans la non prise en compte des phénomènes structuraux provenant des liaisons entre fibres et entre fibres/matrice. Ces phénomènes peuvent en effet entraîner une sous ou surestimation de la déformation dans la ROI (région d'intérêt), dans la mesure où une partie des déplacements des fibres proviendrait de l'interaction et des contraintes avec l'environnement proche.

Ici, cette hypothèse de transformation affine est testée en la confrontant aux résultats des essais expérimentaux de gonflement de capsule de foie sous microscope présentés dans le chapitre 3. On mène dans un premier temps la comparaison entre les déformations microscopiques mesurées dans la grille de photoblanchiment et les déformations macroscopiques calculées via le modèle ellipsoïdal de la forme de la capsule. Ces déformations locales microscopiques et macroscopiques mesurées permettent également de calculer une évolution théorique de l'orientation des fibres de collagène observées, sous l'hypothèse de transformation affine. Cette évolution théorique est alors mise en relation avec l'évolution de l'orientation mesurée par traitement d'image.

## 5.2 Déformation locale vs déformation globale

La déformation microscopique locale de Green-Lagrange dans la grille de photoblanchiment a été calculée dans les directions X et Y (grand axe et petit axe de l'ellipse respectivement) afin de pouvoir être mise en relation avec les déformations macroscopiques ellipsoïdales. La détermination de ces déformations reprend la méthode décrite dans le chapitre 3. Une moyenne de ces déformations sur toute la grille est alors calculée pour chaque niveau de pression.

De manière similaire à ce qui a été fait au chapitre 4, la déformation macroscopique est calculée en faisant l'hypothèse d'une forme ellipsoïdale pour la géométrie du dôme formé par la capsule gonflée à chaque niveau de pression. Les valeurs de déplacements verticaux de l'apex, relatives à l'état initial pris pour une pression de 0.1b, ainsi que les dimensions de l'ellipse



## 5. Confrontation de l'hypothèse de transformation affine aux données expérimentales

---

d'encastrement permettent d'identifier les dimensions de l'ellipsoïde approximé. Via le calcul des longueurs des arcs dans les directions X et Y (2<sup>ème</sup> approximation de Ramanujan, équation 4.29), on calcule alors les élongations  $\lambda_x$  et  $\lambda_y$  dont on déduit les déformations de Green-Lagrange via :

$$\begin{cases} E_{xx} = \frac{1}{2}(\lambda_x^2 - 1) \\ E_{yy} = \frac{1}{2}(\lambda_y^2 - 1) \end{cases} \quad (5.2)$$

Les courbes d'évolution de la déformation de Green-Lagrange dans la direction X ( $E_{xx}$ ) et dans la direction Y ( $E_{yy}$ ) calculées aux échelles microscopique et macroscopique sont présentées en figure 5.1. Les trois formes d'échantillons différentes (R1, R2 et R4) sont distinguées.

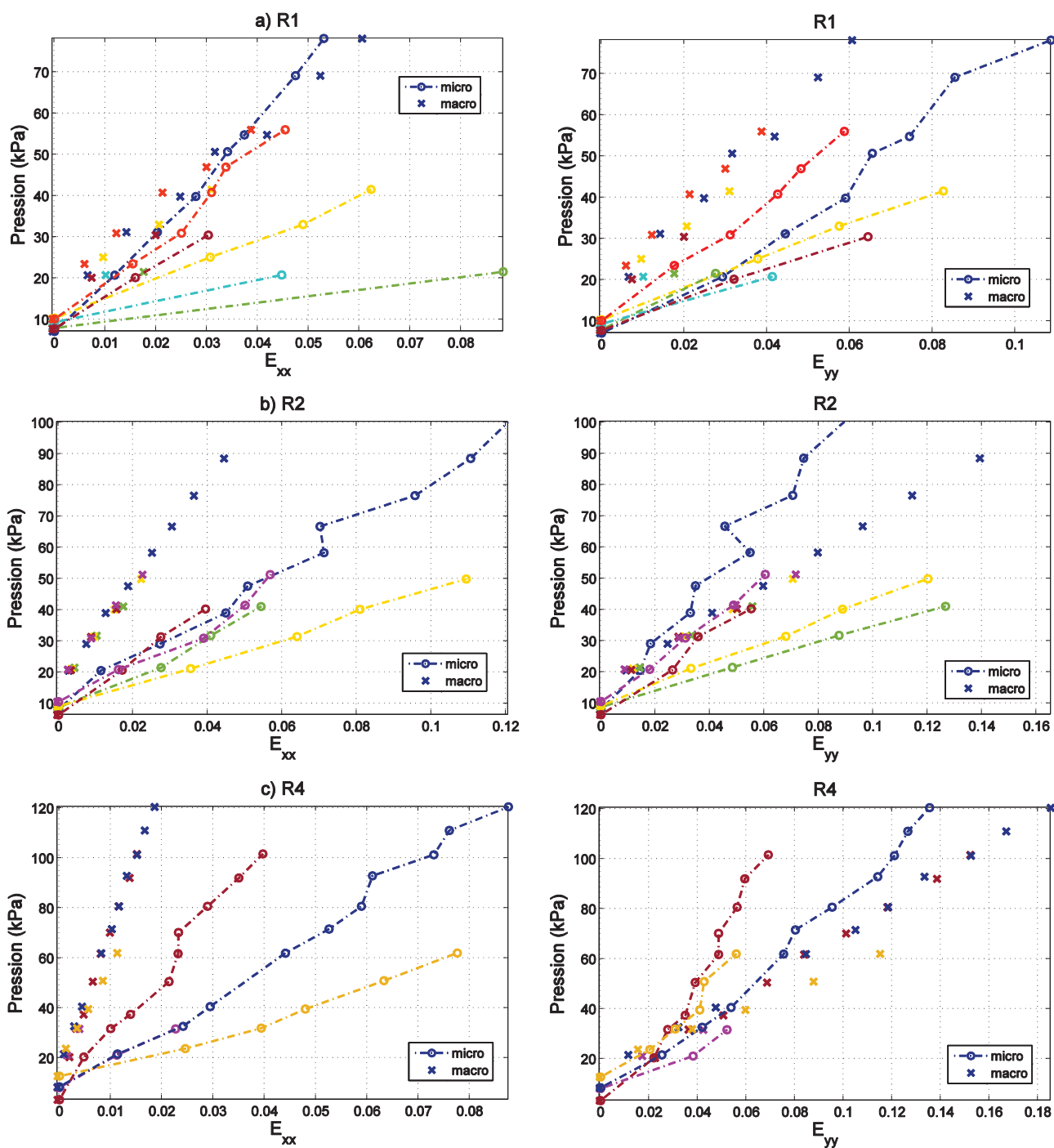
De manière générale, la déformation microscopique ne correspond pas à la déformation macroscopique ellipsoïdale. Pour un même niveau de pression, la déformation microscopique dans la direction X est plus importante que la déformation macroscopique. C'est globalement également le cas pour la déformation dans la direction Y, mais moins systématiquement. Comme observé au chapitre 4, les déformations macroscopiques ellipsoïdales calculées montrent une grande répétabilité entre les échantillons, contrairement aux valeurs de déformations microscopiques qui présentent une plus grande dispersion entre les différents échantillons.

La mesure très locale à l'échelle microscopique est en effet très dépendante du type de structure observé au sommet, et est intrinsèquement liée à l'organisation locale particulière du réseau de fibre au sommet de la capsule. Même si ces organisations présentent des similarités et permettent la description d'une organisation « globale et générale » donnée au chapitre 2, des différences subsistent dans les structures observées et expliquent cette forte variabilité des champs de déformations. Il est intéressant de constater que cette dispersion s'efface quelque peu lors de l'homogénéisation du comportement lorsqu'on passe à l'échelle macroscopique.

L'écart plus ou moins important entre les déformations macroscopique et microscopique suivant les échantillons ne permet pas de valider l'hypothèse de transformation affine de manière satisfaisante. Cependant, les fortes hypothèses faites dans le calcul de ces déformations macroscopiques ellipsoïdales, ont une influence importante sur ces résultats qui doivent donc être interprétés avec précaution.

En effet, le calcul des déformations macroscopiques présuppose d'une forme ellipsoïdale pour la capsule de foie. La validité de cette hypothèse, testée dans le chapitre 4, semblait assurée pour un calcul global permettant de comparer les déformations macroscopiques ellipsoïdales et de stéréocorrélation des échantillons, dans la mesure où les écarts de forme n'introduisait pas un biais important, comparativement à la variabilité inter-individus ou inter-échantillons. Cependant, dans le cas présent, la différence entre la géométrie réelle et la géométrie idéalisée suffirait à sur ou sous-estimer suffisamment la déformation globale pour provoquer les écarts entre déformations macro/micro observés. En effet, une incertitude moyenne de 0.35 mm sur la position du sommet de la capsule, ce qui correspond à l'écart moyen expérimental mesuré entre la géométrie réelle et l'ellipsoïde, entraînerait une variation de 0 à 4.8% sur la déformation. La différence observée entre déformation macroscopique et microscopique pourrait donc provenir de cette approximation.

## 5. Confrontation de l'hypothèse de transformation affine aux données expérimentales



**Figure 5.1 :** Évolution de la déformation de Green-Lagrange microscopique (-o-) et macroscopique (x) dans les directions X ( $E_{xx}$ ) et Y ( $E_{yy}$ ) lors du gonflement de la capsule de foie à différents niveaux de pression. Les différents échantillons sont présentés dans des couleurs différentes et classés par forme : a) circulaire R1, b) elliptiques R2, c) elliptiques R4.

Parallèlement à cette incertitude sur la mesure de la déformation globale, l'hypothèse d'homogénéité de la déformation sur la grille en considérant la moyenne de la déformation microscopique présente également des limites. Les champs de déformations locaux observés dans le réseau fibreux lors des essais de traction (chapitre 2) ou de gonflement (chapitre 3) montrent de fortes hétérogénéités de la déformation dans le plan XY. Le léger décalage entre la grille et la position réelle du sommet pourrait donc entraîner une mauvaise estimation de la déformation microscopique réelle du sommet et ainsi compromettre la correspondance avec la valeur de déformation macroscopique.

### 5.3 Réorientation relative à la déformation globale

#### 5.3.1 Méthode

Dans la suite, lorsque ce n'est pas précisé, le formalisme est issu de l'étude de Fan et Sacks (Fan and Sacks, 2014).

Pour tester le modèle affine, on considère ici l'évolution de l'orientation des fibres de collagène au sommet du dôme de gonflement. À partir de l'orientation initiale des fibres de cette ROI, ainsi que des déformations macroscopiques calculées via l'approximation ellipsoïdale, on peut calculer la réorientation théorique des fibres.

Dans le cas d'un tissu plan, considérons une famille de fibres orientée dans une direction  $\underline{M}$  définie par l'angle  $\theta$ . Soit  $\underline{F}$  le gradient de la transformation et  $\underline{m}$  la nouvelle direction de cette famille de fibre définie par  $\beta$  après déformation, on a alors :

$$\underline{m} = \underline{F} \underline{M} \quad (5.3)$$

d'où 
$$\beta = \tan^{-1} \left( \frac{F_{21} \cos \theta + F_{22} \sin \theta}{F_{12} \sin \theta + F_{11} \cos \theta} \right) \quad (5.4)$$

En négligeant la déformation de cisaillement, on retrouve alors l'expression usuellement utilisée dans les modèles de réorientation (Billiar and Sacks, 1997; Chandran and Barocas, 2005; Rezakhaniha et al., 2012) :

$$\tan \beta = \frac{\lambda_y}{\lambda_x} \tan \theta \quad (5.5)$$

Soit alors  $\Gamma_1(\beta)$  la distribution d'orientation des fibres dans la configuration déformée et  $\Gamma_0(\theta)$ , la distribution de référence. La condition de normalisation des distributions  $\Gamma_1(\beta)$  et  $\Gamma_0(\theta)$  impose :

$$\int_{-\frac{\pi}{2}}^{\frac{\pi}{2}} \Gamma_1(\beta) d\beta = \int_{-\frac{\pi}{2}}^{\frac{\pi}{2}} \Gamma_0(\theta) d\theta = 1 \quad (5.6)$$

d'où 
$$\Gamma_1(\beta) = \Gamma_0(\theta) \frac{d\theta}{d\beta} \quad (5.7)$$

et donc 
$$\Gamma_1(\beta) = \Gamma_0(\theta) \frac{\cos^2 \theta}{\frac{\lambda_y}{\lambda_x} \cos^2 \left( \tan^{-1} \left( \frac{\lambda_y}{\lambda_x} \tan \theta \right) \right)} \quad (5.8)$$

Remarque : La généralisation de cette relation au cas avec cisaillement est donnée par Fan et Sacks (Fan and Sacks, 2014) par :

$$\Gamma_1(\beta) = \Gamma_0(\theta) \frac{\mathbf{m}^T \times \underline{\underline{C}} \times \mathbf{m}}{\det \underline{\underline{F}}} \quad (5.9)$$

On peut alors déterminer pour chaque direction de l'espace 2D entre  $[0, \pi]$ , la réorientation de cette direction vis à vis de la transformation. La distribution d'orientation pour la configuration déformée est alors déduite de la distribution initiale des fibres dans la configuration de référence, associée aux directions réorientées.

On réalise ce calcul de réorientation sur les distributions de chaque image des piles à chaque niveau de chargement en prenant l'hypothèse d'une déformation constante dans l'épaisseur.

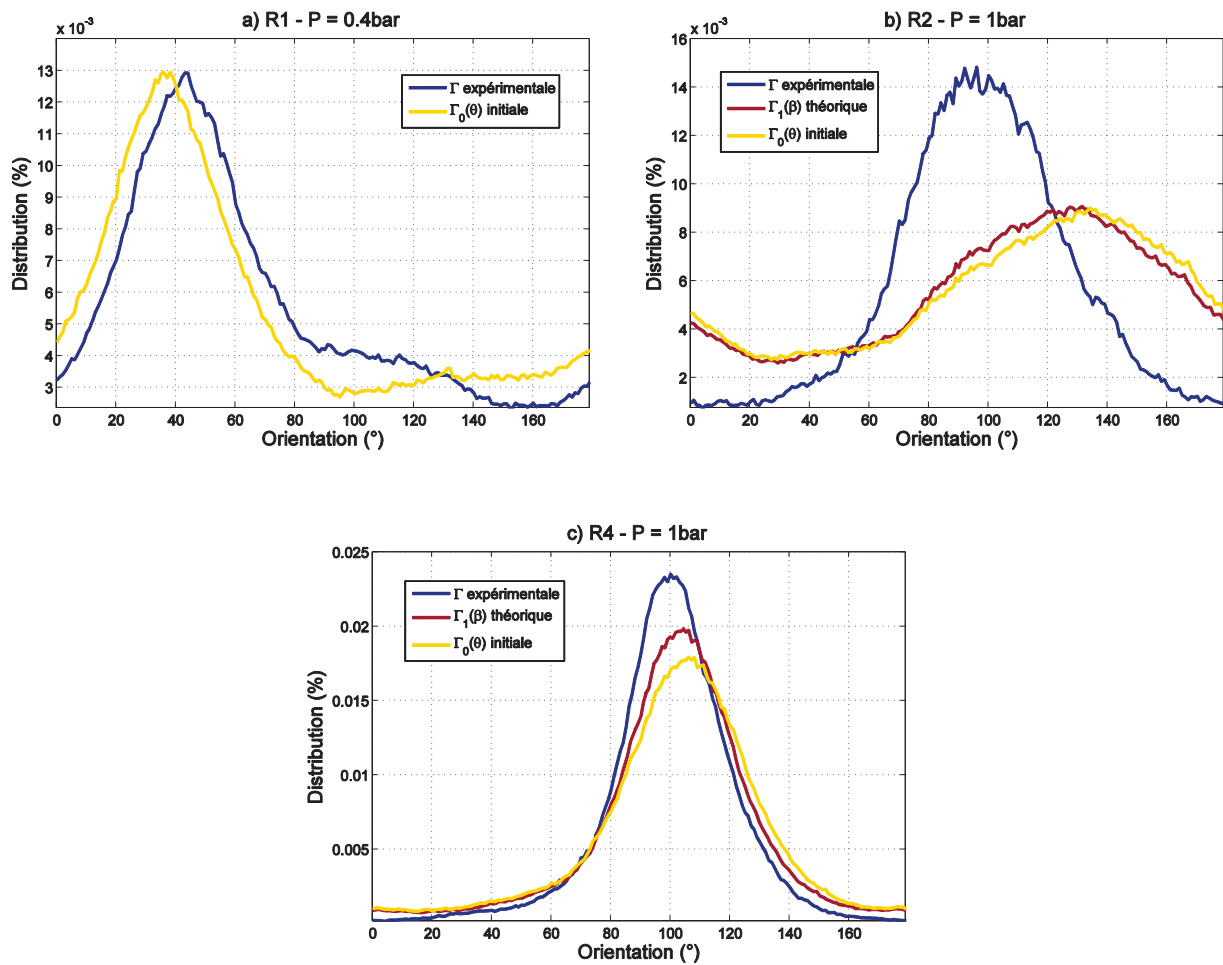
### 5.3.2 Résultats et discussion

Pour plus de lisibilité, les résultats montrent les évolutions d'orientations d'un plan particulier correspondant au plan moyen de la capsule de foie. La figure 5.2 présente des exemples de confrontation entre réorientation théorique et expérimentale pour les différents types d'échantillons et pour différentes distributions initiales d'orientation.

La principale observation émergeant de cette analyse de réorientation est que le modèle de réorientation choisi basé sur des considérations purement géométrique ne suffit pas à reproduire la réorientation observée expérimentalement. Pour les échantillons présentant une réorientation importante au cours du chargement (figure 5.2b), la réorientation estimée à partir des déformations est très inférieure à la réorientation expérimentale obtenue. En pratique, les valeurs de déformations obtenues ne permettent une évolution des orientations que de quelques degrés. Il en résulte une relativement bonne performance de ce modèle pour les échantillons qui se réorientent peu (figure 5.2c), pour lesquelles la distribution d'orientation initiale  $\Gamma_0(\theta)$  est proche de la distribution d'orientation mesurée expérimentalement à la fin du chargement.

## 5. Confrontation de l'hypothèse de transformation affine aux données expérimentales

On remarque que pour les échantillons circulaires, une légère réorientation peu apparaître au cours du chargement (figure 5.2a) qui ne peut pas être prévue par cette approche via les déformations, à cause de l'hypothèse d'équibiaxialité prise pour le type R1. Les distributions initiales et théoriques sont en effet confondues dans le cas équibiaxial puisque le rapport  $\lambda_y/\lambda_x$  vaut 1. Cette faible réorientation peut alors provenir de deux sources différentes. Tout d'abord elle peut être engendrée par une hétérogénéité des déformations radiales induites par un serrage non uniforme. La difficulté de la maîtrise des conditions aux limites des essais a en effet été soulignée lors des essais de stéréocorrélation au chapitre 4. L'autre source de réorientation proviendrait de la structure même du réseau de fibre, dont la complexité de l'arrangement des liaisons entre fibres ferait dévier l'essai circulaire vers de la traction non-équibiaxiale.



**Figure 5.2 :** Distributions d'orientation des fibres de collagène à la fin du chargement dans le plan moyen de la capsule pour un échantillon circulaire R1 (a) elliptique R2 (b) et elliptique R4 (c). La distribution d'orientation initiale des fibres de ce plan est indiquée en jaune. En bleu est présentée la distribution d'orientation mesurée expérimentalement sur les images alors que la distribution d'orientation théorique calculée à partir des déformations macroscopiques est tracée en rouge.

## 5. Confrontation de l'hypothèse de transformation affine aux données expérimentales

---

Cette apparente limite de l'hypothèse de transformation affine a été mise en évidence sur d'autres types de tissus et notamment dans l'étude de Chandran et Barocas (Chandran and Barocas, 2005). Ils comparent deux modèles d'un substitut de tissu composé de fibres de collagènes liées dans une matrice. Ils considèrent alors un modèle affine pour prédire la déformation et la réorientation dans le tissu, et un modèle basé sur le réseau prenant en compte les connections et transferts de force entre fibres. La confrontation de ces deux méthodes de modélisation aboutie à l'observation de différences significatives dans la cinématique de la microstructure. Notamment, l'orientation particulière des fibres individuelles prédite par les deux modèles présente de grandes différences. L'orientation des fibres dans le modèle basé sur le réseau ne semble pas corrélée à la déformation des fibres, mettant ainsi en évidence le fait que la cinématique est dictée par autre chose qu'uniquement la déformation des fibres.

Les auteurs soulignent alors l'importance d'identifier la relation entre le réseau de fibre et son environnement dans un tissu donné, afin de déterminer l'importance de l'effet des connections entre fibres sur la cinématique. En particulier, pour les tissus dont la transmission de force aux fibres s'effectue principalement par les autres fibres, l'hypothèse de transformation affine apparaît alors grandement limitée, et l'impact de l'organisation en réseau ne peut pas être négligé. Au contraire, si la transmission de force semble majoritairement dépendre des conditions de chargement globales, alors, les fibres sont davantage susceptibles de réagir indépendamment, et ainsi confirmer l'hypothèse d'une cinématique affine.

C'est par exemple le cas pour certains type de tissus comme le péricarde ou une bonne corrélation entre simulation et mesures expérimentales a été trouvé via l'hypothèse de transformation affine (Fan and Sacks, 2014). Dans cette étude, les simulations d'essais en traction biaxiale couplées à un modèle de réorientation sous hypothèse affine permettent d'obtenir des réorientations de fibres très proches des observations expérimentales acquises au SALS (Small Angle Light Scattering) dans (Billiar and Sacks, 1997).

Au vu des résultats présentés ici, la validation de l'hypothèse affine pour prédire la réorientation de la capsule de foie, se trouve compliquée. Tout d'abord, les conditions aux limites des essais peuvent créer des hétérogénéités de déformations et engendrer une cinématique non affine extrinsèque ne provenant pas de phénomènes structuraux.

D'autre part, le calcul d'orientation des fibres de collagène sur les images présente également des limitations. Il est en effet difficile de comparer les orientations dans la même ROI au cours du chargement, notamment à cause des changements de formes de la capsule. L'hypothèse de planéité du tissu qui a justifié une évaluation 2D des orientations semble légitime mais demeure tout de même une approximation. La courbure de la capsule, bien que faible, devrait être considérée et entraîner la nécessité d'une évaluation 3D de l'orientation des fibres. Cette reconstruction 3D de la forme de la capsule représente cependant un défi important en termes de résolution dans la direction de l'épaisseur. Les paramètres d'imagerie utilisés dans notre étude (un pas de  $\sim 0.4 \mu\text{m}$  entre chaque image dans la direction Z), n'ont pas permis cette reconstruction de manière satisfaisante. Pour résoudre cette difficulté, il faut alors considérer l'orientation 2D dans une ROI beaucoup plus restreinte, et évaluer la correspondance de la réorientation mesurée et calculée à partir des déformations locales.

## 5.4 Évolution de l'orientation dans la grille photoblanche

Afin de contourner l'incertitude provenant de la mesure d'orientation et de la considération d'une valeur moyenne de la déformation, une étude plus locale a été envisagée. Au sein de la grille photoblanche, l'évolution théorique de la distribution d'orientation est calculée via (5.9), pour chaque élément du maillage à partir des déformations locales calculées. La figure 5.3 présente les distributions d'orientation expérimentales, théoriques et initiales pour chaque élément du maillage de la grille, pour les exemples donnés dans la figure 5.2.

Les résultats sont alors assez similaires à ceux observés avec l'orientation globale. Pour les échantillons sans réorientation (5.3a et c), le faible écart d'orientation entre expérimental et théorique, observé précédemment lors du calcul de l'orientation globale, ne se retrouve pas dans les différents éléments du maillage. La considération de l'orientation plus locale et donc plus précise permet donc de supprimer un léger biais dans l'évaluation de l'orientation théorique et/ou expérimentale.

Cependant, pour les zones où la réorientation est très importante (5.3b), les résultats ne diffèrent pas de ceux avec l'orientation globale. Si la réorientation n'est pas la même pour chaque zone de l'échantillon, globalement la prédiction des réorientations n'est pas meilleure. Ces résultats tendent à montrer que l'approximation faite lors du calcul d'orientation, i.e. négliger la courbure de la capsule, n'est pas une mauvaise approximation. De même, l'hypothèse d'homogénéité de la déformation dans l'épaisseur n'est pas non plus la source de l'incapacité du modèle à prédire la réorientation. Ici, le problème généré par les conditions aux limites qui entraîneraient des hétérogénéités de déformation a également été écarté par la mesure locale des déformations effectives de la structure.

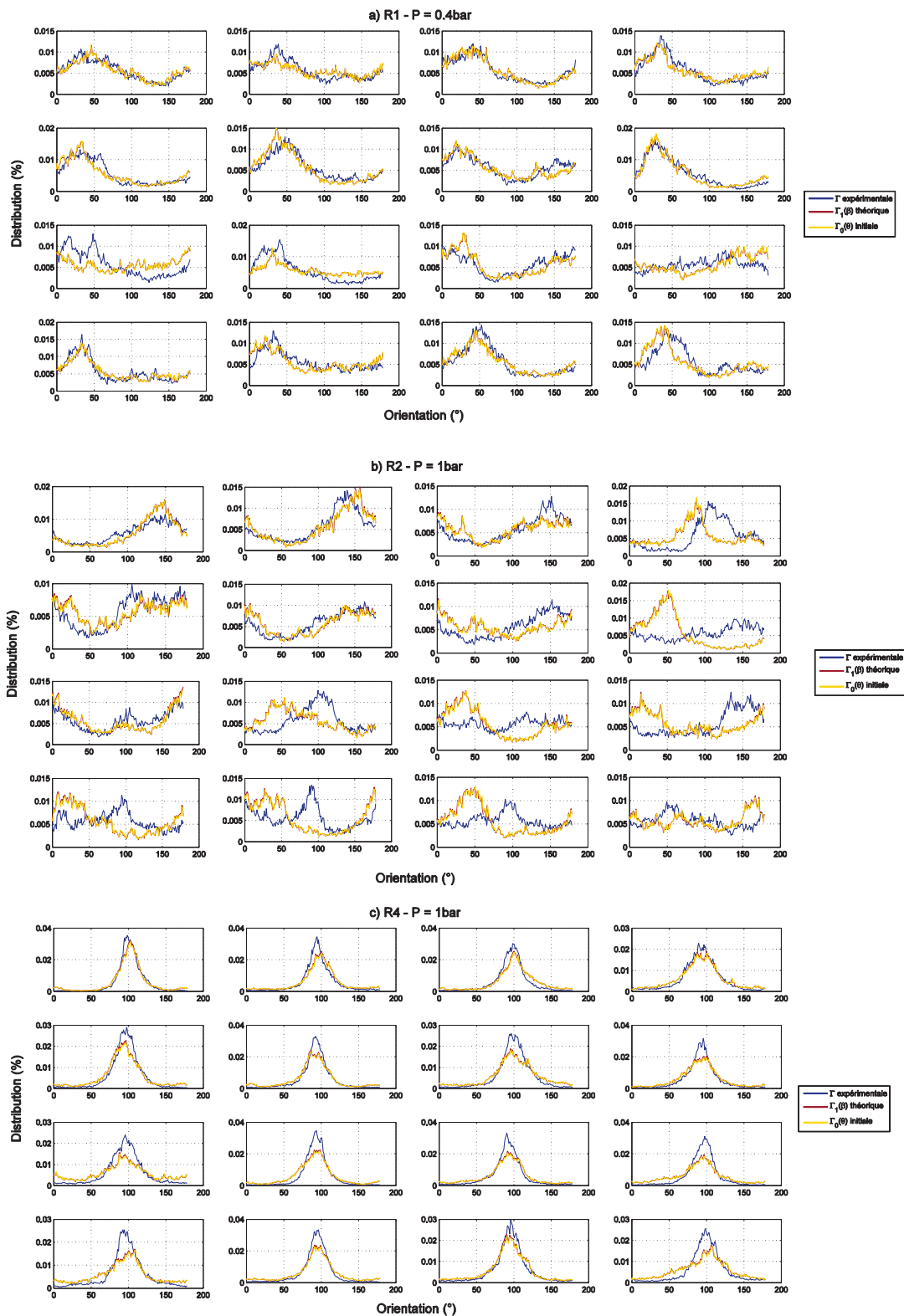
Si la correction de ces approximations, faite ici, permet de corriger légèrement l'évaluation de l'orientation théorique, et donc d'améliorer la correspondance pour les échantillons sans réorientation, elle ne permet pas néanmoins de prédire une réorientation proche de celle observée expérimentalement de manière satisfaisante.

La réorientation reste donc globalement sous-évaluée lorsqu'elle est importante. La réorganisation du réseau ne dépend donc pas uniquement des déformations appliquées aux fibres individuelles. Les mouvements autorisés pour les fibres sont également conditionnés par la structure du réseau et les liaisons entre fibres qui peuvent favoriser ou défavoriser la réorientation d'une fibre particulière dans une direction particulière.

Envisager la réorientation via des équations dérivant simplement de la géométrie semble donc limité pour décrire complètement la cinématique des fibres. Des phénomènes structuraux entrent bel et bien en jeu lors de la réorganisation du réseau, et l'hypothèse de transformation affine présente effectivement des limites lorsqu'elle ne rend pas compte des interactions entre fibres qui influencent apparemment la cinématique.



## 5. Confrontation de l'hypothèse de transformation affine aux données expérimentales



**Figure 5.3** : Exemple de distributions d'orientation expérimentale (bleu), théorique (rouge) et initiale (jaune) des fibres de collagène dans chaque élément du maillage éléments finis réalisé sur la grille de photoblanchiment (chaque portion de graphe correspond à un élément).

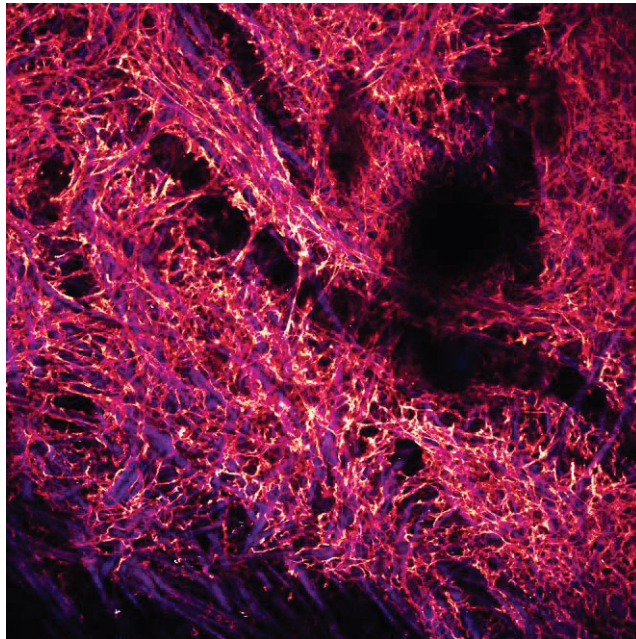
### ***Bilan du test de l'hypothèse de transformation affine :***

*L'hypothèse de transformation affine permettant de déduire la déformation à l'échelle des fibres de la transformation globale du tissu, apparaît donc ici comme une forte approximation, au vue de la confrontation entre les résultats expérimentaux et le modèle théorique basé sur cette hypothèse.*

*Il apparaît difficile de comparer directement les déformations macroscopiques et microscopiques compte tenu des nombreuses hypothèses réalisées lors du calcul de ces dernières. Les écarts importants entre les résultats ne permettent pas de conclure sur la pertinence de l'hypothèse affine.*

*L'approche par comparaison de réorientations expérimentale et théorique présente également de fortes hypothèses qui compliquent l'analyse de l'influence de l'hypothèse affine. Notamment, les conditions aux limites induisent des hétérogénéités de déformations qui peuvent créer des réorientations et une cinématique décorrélées de l'hypothèse de transformation affine.*

*Finalement la comparaison des réorientations à l'échelle locale basées sur les déformations microscopiques permet de lever bon nombre de ces hypothèses. Les résultats indiquent alors que, dans le cas de la déformation de la capsule de foie, les phénomènes structuraux nés d'interactions entre fibres sont prédominants dans le mécanisme de déformation. L'hypothèse de transformation affine, qui néglige l'impact de ces phénomènes n'est donc pas une bonne approximation pour ce cas de figure. La formalisation d'un modèle constitutif de la capsule de foie basé sur la microstructure devra donc impérativement inclure ces considérations d'interactions, pour prédire de manière fidèle le comportement du tissu, et faire le lien entre l'échelle macroscopique et microscopique.*



---

# Conclusion & perspectives

Le travail réalisé dans le cadre de cette thèse répond à deux objectifs que sont le développement de méthodes expérimentales pour caractériser les tissus fibreux au niveau structurel, afin de permettre l'élaboration de modèles constitutifs, et l'application de cette méthodologie pour caractériser mécaniquement la capsule de Glisson d'un point de vue microstructurale. Ces problématiques s'inscrivent dans une démarche d'amélioration de la prédiction du risque de blessures lors d'un choc ou d'une chirurgie, via l'élaboration de modèles numériques bio-fidèles validés du corps humain. La connaissance des mécanismes de déformation, ainsi que du comportement à rupture, sont donc les points de départ aux développements de ces modèles, aux applications multiples.

Une attention particulière a été portée sur la rupture de la capsule hépatique qui intervient lors du phénomène de lacération surfacique. Mais, d'un point de vue global, ce travail sur la capsule de foie a également permis de fournir un cas d'étude particulièrement intéressant à l'élaboration de méthodes expérimentales, applicables aux tissus fibreux en général.

La microscopie confocale biphotonique a permis d'acquérir des informations sur l'organisation de la microstructure de la capsule de foie, et d'en donner une description détaillée dans toute son épaisseur. L'organisation par couche de fibres superposées, aux caractéristiques particulières, a ainsi été mise en évidence.

Parallèlement à ces observations, les essais de traction uniaxiale sous microscope ont permis de développer une méthode de mesure de champs de déformations locaux en utilisant le photoblanchiment. Par cette méthode non destructive, il est alors possible de décrire l'état de déformation d'un volume représentatif local, à l'échelle des fibres, durant le chargement. Cette mesure de champs de déformation locaux a alors mis en évidence la forte hétérogénéité de l'état micromécanique dans le réseau de fibre, indiquant la prédominance de phénomènes structuraux dans les mécanismes de déformation.

Le caractère non-destructif de la méthode a été vérifié d'un point de vue géométrique dans un premier temps, en observant les mouvements des fibres photoblanchies. L'impact sur le comportement mécanique global a aussi été considéré, afin de s'assurer que le photoblanchiment n'influe pas sur les propriétés mécaniques macroscopiques. En vue de valider la méthode de mesure, et de compléter l'analyse de l'impact de la grille photoblanchie sur la cinématique locale des fibres, une approche de mesure par corrélation d'images a été envisagée. Cependant, l'important saut de déformation entre deux acquisitions d'images

complique considérablement la corrélation, et n'a pas permis l'obtention de résultats fiables. Ces difficultés de convergence du calcul de corrélation d'images pourraient alors être résolues lors d'une nouvelle campagne expérimentale, avec une fréquence d'acquisition des images plus élevée. Il serait alors possible de valider et comparer ces deux méthodes de mesure de champs de déplacements locaux, qui pourraient alors être utilisées de manière complémentaire.

Les essais de traction uniaxiale ont été choisis dans un premier temps en raison de leur simplicité de mise en œuvre. Cependant, les lacérations surfaciques interviennent principalement suite à une sollicitation multiaxiale de la capsule engendrée par une surpression. Un chargement un peu plus réaliste a donc été considéré, pour caractériser le comportement mécanique de la capsule. Un essai de gonflement sous microscope a été mis en place afin d'observer les changements de la microstructure, lors d'une sollicitation en traction biaxiale de la membrane. La méthode de mesure de déformations par photoblanchiment a été reprise, pour évaluer la déformation locale au sommet du dôme de gonflement. Une analyse de l'orientation des fibres de collagène, au cours du chargement, a également permis d'évaluer quantitativement le changement d'organisation de la microstructure induit par le gonflement.

Les résultats indiquent alors que la réorientation des fibres est un phénomène majeur en cas d'anisotropie du chargement uniquement. En effet cette réorientation n'est observée que lors des essais non-équibiaxiaux et se révèle être un phénomène graduel, prenant place tout au long du chargement, et non total. Les fibres ne participent donc pas toutes à la réponse mécanique du tissu, puisque la rupture intervient avant le recrutement total des fibres de toutes les couches. Ce mécanisme de recrutement partiel de fibres induit alors des hétérogénéités dans les champs de déformation. Cependant, les valeurs de la déformation méridionale à rupture sont assez homogènes sur les échantillons testés, et peuvent donc, de ce point de vue, être utilisées comme un critère de prédiction de rupture.

Il est à noter que les paramètres quantitatifs présentés dans cette thèse sont donnés à titre indicatif. En effet, le faible nombre de foies différents testés lors de chaque protocole, ne permet pas la réalisation d'une étude statistique satisfaisante et représentative de la variabilité inter-individu. Nos essais mettent toutefois en évidence que, sur les différents foies testés, la variabilité inter-échantillons apparaît être du même ordre que celle inter-individu. Les mécanismes de déformation et de réorientation des fibres étant assez reproductibles d'un échantillon à l'autre, on peut alors conclure qualitativement sur la réaction de la microstructure face au chargement mécanique.

De manière générale, de nombreuses difficultés ont dû être surmontées au cours des essais expérimentaux. Le temps important passé sur chaque échantillon, dû aux long temps d'acquisition d'image via le microscope, est à l'origine du nombre limité d'échantillons testés. D'autre part, au cours de cette thèse, tous les échantillons sont issus de corps obtenus via le programme français de don du corps à la science. La provenance de ces échantillons induit une autre problématique, qui porte sur la validité du modèle cadavre, qui reste une question à part entière. L'alternative qui aurait consisté à travailler sur des tissus d'origine animale n'a pas été considérée, dans la mesure où il existe des différences significatives de structure et de propriétés entre les tissus d'origine différente. Pour la capsule de foie notamment, ces différences ont été mises en évidence dans plusieurs études, et la représentativité du tissu animal vis-à-vis de l'humain n'est donc pas assurée.

Un autre défi expérimental rencontré réside dans le couplage entre des essais mécaniques macroscopiques et l'observation microscopique, qui s'est avéré particulièrement délicat, à cause des différentes échelles de travail. En effet, dans la mesure où les différentes grandeurs sont mesurées soit à l'échelle macroscopique (comme le niveau de force), soit à l'échelle microscopique (déplacement de la région d'intérêt), la mise en relation de ces différents paramètres est délicate. Il serait notamment très intéressant de pouvoir obtenir des informations microscopiques moins locales en augmentant le champ d'observation du microscope, via la réalisation de prises d'images en mosaïque par exemple, ou l'utilisation d'un objectif différent. Le champ de déformation à l'échelle microscopique pourrait alors être calculé sur tout l'échantillon, et les chances d'observer la rupture dans la zone d'intérêt seraient augmentées. Un couplage entre deux méthodes d'imagerie à deux échelles différentes présenterait également un intérêt tout particulier pour la comparaison des déformations macroscopiques et microscopiques. Ainsi le développement d'un protocole expérimental couplant simultanément une mesure par stéréocorrélation de la forme globale, avec une observation de la microstructure, apparaît comme une perspective très intéressante à ce travail.

Des essais de gonflement couplés à une mesure de champs de déplacements par stéréocorrélation ont été développés, afin de valider des hypothèses sur les conditions aux limites des essais, ainsi que sur l'approximation de la forme globale par un ellipsoïde. Ils ont ainsi permis de mettre en évidence la non-uniformité des conditions aux limites appliquées, ce qui représente une limitation de l'étude, et de mesurer l'écart entre la forme réelle et un ellipsoïde, afin de calculer l'erreur commise sur la déformation macroscopique calculée sur les essais sous microscope.

Ces essais de stéréocorrélation ont aussi été développés pour tester différentes lois de comportement hyperélastiques, pour identifier le comportement de la capsule de foie. L'influence de l'inclusion dans la loi du premier ou deuxième invariant, a notamment été étudiée. On constate alors que les niveaux de déformation atteints avant rupture, ne sont pas suffisamment conséquent pour générer un écart significatif entre les invariants. De plus, la variabilité inter-échantillon étant importante, on ne cherche à représenter qu'un comportement moyen. Une loi à simple invariant apparaît donc suffisante pour reproduire le comportement, pourvu qu'elle soit d'ordre assez élevée.

Toutes les mesures de déformation réalisées ici sont relatives à l'état initial de référence choisi pour la capsule de foie. On se retrouve alors confronté à la problématique complexe de la détermination de l'état initial des tissus mous. Pour les essais de gonflement, cet état initial a été choisi pour correspondre à une configuration où la capsule est soumise à une pression égale à la pression physiologique. La validation de cette hypothèse forte apparaît nécessaire pour confirmer les valeurs de déformation présentées. La détermination de cet état de déformation initial nécessite une étude à part entière portant sur l'organe complet afin de prendre en compte les interactions entre la capsule et le parenchyme qui déterminent l'état de tension initiale de la membrane. Cet état initial varie d'ailleurs probablement avec l'emplacement considéré sur le foie, mais également avec la géométrie de l'organe, le degré de vascularisation, etc... Il s'agit donc d'un problème très complexe qui devra être abordé dans de futurs travaux.

Evidemment, afin d'élaborer un modèle complet du foie, il est indispensable d'étudier les autres composants de l'organe, notamment le parenchyme et les vaisseaux sanguins. L'influence de la vascularisation, et notamment la cartographie du réseau vasculaire dans le foie, influe non seulement sur l'état initial de la capsule, mais également sur les conditions de chargement



auxquelles elle est susceptible d'être soumise en cas de choc. Une surpression dans ces vaisseaux, engendrée par un choc par exemple, crée une sollicitation mécanique de la capsule. Ainsi, en fonction de leur taille et de leur emplacement, la capsule n'est probablement pas chargée de manière homogène sur toute la surface du foie. Dans une optique de simulation de choc et de prédiction des blessures, il serait donc intéressant d'étudier ces conditions de chargements variables et anisotropes, via la mise en relation avec la cartographie du réseau vasculaire.

L'étude du couplage entre le parenchyme et la capsule est une autre problématique importante pour la détermination du comportement global du foie. Notamment, nous avons pu remarquer au cours des prélèvements que l'adhérence de la capsule au parenchyme dépendait grandement de la zone du foie considérée. La caractérisation de cette adhérence plus ou moins importante apparaît donc essentielle pour définir les conditions aux limites du chargement ainsi que l'état de déformation initial de la capsule. L'étude de ce couplage pourrait, par exemple, être réalisée via le prélèvement d'échantillons de bimatériau parenchyme + capsule, qui seraient testés avec le protocole de gonflement développé ici sous microscope.

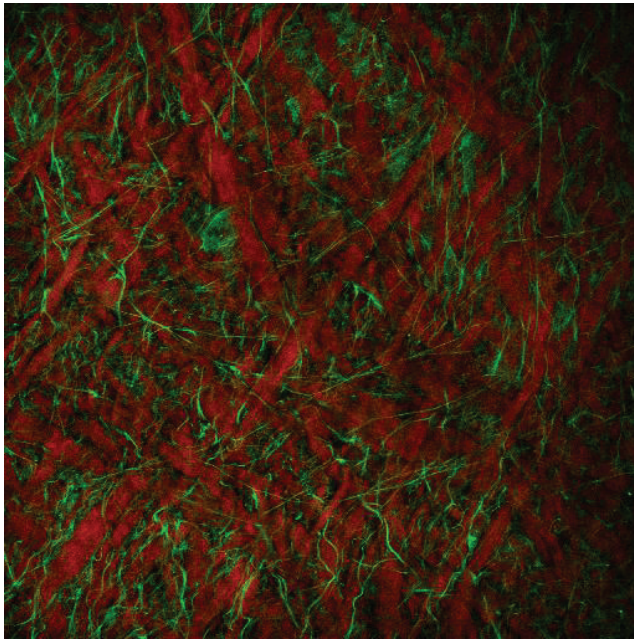
Les données expérimentales obtenues au cours de ces divers protocoles ont permis de tester une des hypothèses principales adoptées dans les modèles analytiques constitutifs : la transformation affine. Afin de tester la validité de cette hypothèse, deux approches ont été envisagées. Premièrement, la déformation mesurée à l'échelle microscopique via la grille de photoblanchiment a été mise en relation avec la déformation macroscopique ellipsoïdale calculée. Cependant les approximations réalisées lors du calcul de la déformation macroscopique ellipsoïdale ne permettent pas de conclure quant à l'influence de l'hypothèse affine sur les résultats. Deuxièmement, les réorientations théoriques affines et expérimentales ont été comparées. Les résultats révèlent alors que l'hypothèse affine présente de fortes limitations pour notre tissu. Afin de modéliser la capsule de foie de manière satisfaisante, il apparaît donc important d'intégrer des phénomènes structuraux et notamment de modéliser les interactions entre fibres. Il faudrait par exemple inclure dans les modèles des informations sur les ponts de protéoglycane, qui agissent pour transmettre la force entre les fibres. Des essais de traction uniaxiale dans la direction normale aux fibres, pourraient alors se révéler être un moyen intéressant pour étudier expérimentalement les caractéristiques de ces liens.

L'observation de la cinématique des fibres au cours du gonflement révèle les autres phénomènes importants à intégrer aux modèles. Le dépliement apparaît légèrement pour les fibres de collagène de la capsule de foie car les fibres présentent un degré de tortuosité peu important. En revanche, le recrutement des fibres graduel et non total est une observation majeure de cette étude, car il implique que toutes les fibres ne participent pas à la réponse mécanique du tissu. Enfin, la réorientation apparaît elle aussi être un phénomène graduel et est à intégrer lors de sollicitations en chargements non-équibiaxiaux.

Ces considérations permettront alors de développer un modèle analytique constitutif réaliste de la capsule de foie humaine, reproduisant des phénomènes observés expérimentalement. Une perspective plus large de ce travail réside dans la réalisation d'un modèle numérique détaillé et personnalisable du foie humain incluant ses différents composants, les interactions fluides/structures et reproduisant finement le comportement mécanique de chaque composant. A terme, ce type de modèle serait un outil précieux pour de nombreuses applications dans le domaine de la chirurgie ou la prédiction de blessures dues aux chocs.



---



---

---

---

---

# Annexe A

## Paramètres de la séquence de corrélation d'images sur la plateforme YaDICs

*Le fichier de paramètres pour la corrélation d'images via la plateforme YaDICs présenté au chapitre 2 est donné ici. Deux séquences ont été définies et sont présentées. La première consiste à chercher les déplacements de corps rigides des images, et d'enregistrer les images recalées qui serviront comme données d'entrée pour la deuxième séquence, où les champs de déplacements entre les images (sans corps rigide) sont calculés. Les paramètres relatifs à la première séquence de recherche de mouvement rigide sont mis en commentaires pour permettre de distinguer les 2 séquences.*

```
netcdf DIC_parameter_file {  
  
dimensions:  
  
    dim_sample = UNLIMITED;  
    dim_tmp = 9; // number of sample to correlate  
    dim_system = 1; // number of image composing the observed field  
    dim_camera = 1; // 1 for correlation or more for stereocorrelation  
    dim_image = 2; // couple of image to correlate  
    dim_string = 180; // image name  
  
    dim_mode = 1; // number of image modes plus 1  
    dim_space = 3; // associated dimensions
```

## A. Paramètres de la séquence de corrélation d'images sur la plateforme YaDICs

---

```
variables:

    byte format;
        format:type="float_float";

//-----Mesh-----

    byte mesh_OFI;// for the moment : only 2D [Rigid, Homogeneous Def,
Blade]
        mesh_OFI:path = "none";// for external mesh (not activated yet)
        mesh_OFI:type = "global";// default for OFI (don't change)
        mesh_OFI:component = "x,y,z";// space component (x,y and z)

    byte mesh_OFFEM;// for the moment : only 2D or 3D
        mesh_OFFEM:path = "none";// for external mesh (not activated yet)
        mesh_OFFEM:type = "generate_regularFem";// default for block-
matching (don't change)
        mesh_OFFEM:pitch = 32,32,32;// pitch between two windows
        mesh_OFFEM:component = "x,y,z";// space component (x,y and z)

//-----Mesh-----

//-----Correlation Method-----

    byte OFI_RB;
        OFI_RB:type = "OFI";// Optical-Flow Integrated
        OFI_RB:mesh = "mesh_OFI";// associated mesh
        OFI_RB:shape = "homogeneous";// assumed kinematics [RigidBody,
Homogeneous, Blade,brasilian]
        OFI_RB:modes = "Tx,Ty,Tz,Rx,Ry,RZ";// desired modes
        OFI_RB:refX = -1;//shape function X reference, to improve
        OFI_RB:refY = -1;//shape function Y reference, to improve
        OFI_RB:refZ = -1;//shape function Z reference, to improve
        OFI_RB:convergence_speed = 1e-3;//convergence criterion
(Epsilon_(i+1) - Epsilon(i))

    byte OFI_H;
        OFI_H:type = "OFI";// Optical-Flow Integrated
        OFI_H:mesh = "mesh_OFI";// associated mesh
        OFI_H:shape = "homogeneous";// assumed kinematics [RigidBody,
Homogeneous, Blade,brasilian]
        OFI_H:modes = "Tx,Ty,Tz,Exx,Eyy,Ezz";// desired modes
        OFI_H:refX = -1;//shape function X reference, to improve
        OFI_H:refY = -1;//shape function Y reference, to improve
        OFI_H:refZ = -1;//shape function Z reference, to improve
        OFI_H:convergence_speed = 5e-2;//convergence criterion
(Epsilon_(i+1) - Epsilon(i))
```

## A. Paramètres de la séquence de corrélation d'images sur la plateforme YaDICs

---

```
byte OFFEM;
  OFFEM:type = "OFFEM";// Optical-Flow Integrated
  OFFEM:mesh = "mesh_OFFEM";// associated mesh
  OFFEM:method = "gradient";// newton or gradient
  OFFEM:alpha0 = 1;// init coef /10 for gradient method
  OFFEM:shape = "C8";// assumed kinematics [RigidBody, Dilatation,
Homogeneous, Blade]
  OFFEM:convergence_speed = 1e-3;//convergence criterion
(Epsilon_(i+1) - Epsilon(i))
  OFFEM:median_filter = 11;// box for median filter [+mf/2] in
pixels
  OFFEM:iter_max = 100;//max number of authorized iterations =
OFFEM:interpolation_loop = "cubic";
  OFFEM:interpolation_final = "cubic";

//-----Correlation Method-----

//-----Correlation sequence per image couple-----

byte sequence;

// sequence:analysis =
"OFI_RB,OFI_RB,OFI_RB,OFI_RB,OFI_RB";//correlation sequence list
// sequence:filter = 4,3,2,1,0;//associated scale : pixel average
over 0^2x0^2 pix, 1^2x1^2, 2^2x2^2, 3^2x3^2

sequence:analysis =
"OFI_H,OFI_H,OFI_H,OFI_H,OFFEM,OFFEM,OFFEM";//correlation sequence
list
sequence:filter = 4,3,2,1,3,2,1;//associated scale : pixel average
over 0^2x0^2 pix, 1^2x1^2, 2^2x2^2, 3^2x3^2

//-----Correlation sequence per image couple-----

//-----image list-----
char image_list(dim_sample, dim_tmp, dim_image, dim_string);

image_list:type = "File";//File or Grab(not activated yet)
image_list:mask = "";//"mask.tif";//"";// mask name (must be in
"path" directory)
// image_list:mode = 0;//0:dependent mode (Image sequence) -
1:separate mode (PIV)
image_list:mode = 1;//0:dependent mode (Image sequence) -
1:separate mode (PIV)
image_list:path =
"/home/charles/Documents/Correlation/Test_traction/Elastine";

//declare desired outputs and pixel size
float output;
output:display_mode = 0;//Allow a real time field display
output:store_img = 1;//store input data in netcdf format
```

## A. Paramètres de la séquence de corrélation d'images sur la plateforme YaDICs

---

```
output:store_def = 1;//store the deformed image after correction
output:store_field = 1;//store converged displacement fields
output:store_res = 1;//store converged residue field
output:store_strain = 0;//store converged residue field
output:ratio_pxmm = 1;//Allow to output fields in physical units
// output:format = "tiff";//or other is netcdf default
output:format = "";//or other is netcdf default

//-----image list-----

char mode_img(dim_sample, dim_mode, dim_space, dim_string);

data:

format =1;

mesh_OFI = 1;
mesh_OFFEM = 1;

OFI_RB = 1;
OFI_H = 1;
OFFEM = 1;

sequence =1;

// image list =
// "0.1N - C=1_ref.tif", "0.1N - C=1_ref.tif",
// "0.1N - C=1_ref.tif", "0.23N - C=1.tif",
// "0.1N - C=1_ref.tif", "0.47N - C=1.tif",
// "0.1N - C=1_ref.tif", "0.68N - C=1.tif",
// "0.1N - C=1_ref.tif", "0.9N - C=1.tif",
// "0.1N - C=1_ref.tif", "1.1N - C=1.tif",
// "0.1N - C=1_ref.tif", "1.35N - C=1.tif",
// "0.1N - C=1_ref.tif", "1.5N - C=1.tif",
// "0.1N - C=1_ref.tif", "1.7N - C=1.tif";

image_list =
"Test_RT_deform_00000.tiff", "Test_RT_deform_00001.tiff",
"Test_RT_deform_00001.tiff", "Test_RT_deform_00002.tiff",
"Test_RT_deform_00002.tiff", "Test_RT_deform_00003.tiff",
"Test_RT_deform_00003.tiff", "Test_RT_deform_00004.tiff",
"Test_RT_deform_00004.tiff", "Test_RT_deform_00005.tiff",
"Test_RT_deform_00005.tiff", "Test_RT_deform_00006.tiff",
"Test_RT_deform_00006.tiff", "Test_RT_deform_00007.tiff",
"Test_RT_deform_00007.tiff", "Test_RT_deform_00008.tiff";

mode_img =
"Exx.png",    "zero.png",
"zero.png",   "Eyy.png",
"Eyy.png",    "Exx.png";
}
```

---

# Annexe B

## Test des paramètres pour le calcul d'orientation via le plugin OrientationJ d'ImageJ

*Les choix des paramètres pour le calcul d'orientation sur les images de microscopie confocale biphotonique sont présentés ici. Afin de déterminer ces paramètres, des tests ont été effectués sur une image représentative de nos conditions d'imagerie, présentant différentes orientations de fibres.*

### Sommaire

---

<b>B.1</b>	<b>Introduction .....</b>	<b>148</b>
<b>B.2</b>	<b>Choix du tenseur de structure.....</b>	<b>150</b>
<b>B.3</b>	<b>Choix de la taille de la fenêtre de la ROI.....</b>	<b>152</b>
<b>B.4</b>	<b>Test des valeurs seuils d'énergie et de cohérence .....</b>	<b>154</b>

---



## B.1 Introduction

La théorie et formalisme rappelés ici est issue des travaux de Rezakhaniha *et al.* (Rezakhaniha et al., 2012).

Le calcul d'orientation local sur une image à partir du plugin OrientationJ d'ImageJ passe par l'évaluation, en chaque pixel de l'image, d'un tenseur de structure, qui permet de déterminer des paramètres relatifs au degré d'orientation local et d'isotropie (l'énergie et la cohérence).

On définit alors le tenseur de structure par :

$$J = \begin{bmatrix} \langle f_x, f_x \rangle_w & \langle f_x, f_y \rangle_w \\ \langle f_x, f_y \rangle_w & \langle f_y, f_y \rangle_w \end{bmatrix} \quad (\text{B.1})$$

avec  $f_x$  et  $f_y$  les dérivées partielles de l'image  $f(x,y)$  dans les directions X et Y respectivement. Le produit scalaire pondéré entre 2 images distinctes  $g$  et  $h$  est défini par :

$$\langle g, h \rangle_w = \iint_{R^2} w(x, y) g(x, y) h(x, y) dx dy \quad (\text{B.2})$$

où  $w(x, y)$  est la fonction de pondération Gaussienne déterminant la région d'intérêt (ROI).

A partir de ce tenseur de structure, on peut alors déterminer la direction locale d'orientation qui correspond à la direction du plus grand vecteur propre du tenseur, donnée par :

$$\theta = \frac{1}{2} \arctan \left( 2 \frac{\langle f_x, f_y \rangle_w}{\langle f_y, f_y \rangle_w - \langle f_x, f_x \rangle_w} \right) \quad (\text{B.3})$$

Le paramètre d'énergie  $E$  qui détermine le degré d'anisotropie de la structure observée, est calculé comme la trace de la matrice du tenseur de structure.

$$E = \text{Trace}(J) = \langle f_x, f_x \rangle_w + \langle f_y, f_y \rangle_w \quad (\text{B.4})$$

Les pixels présentant une grande énergie correspondent alors à des structures fortement anisotropes.

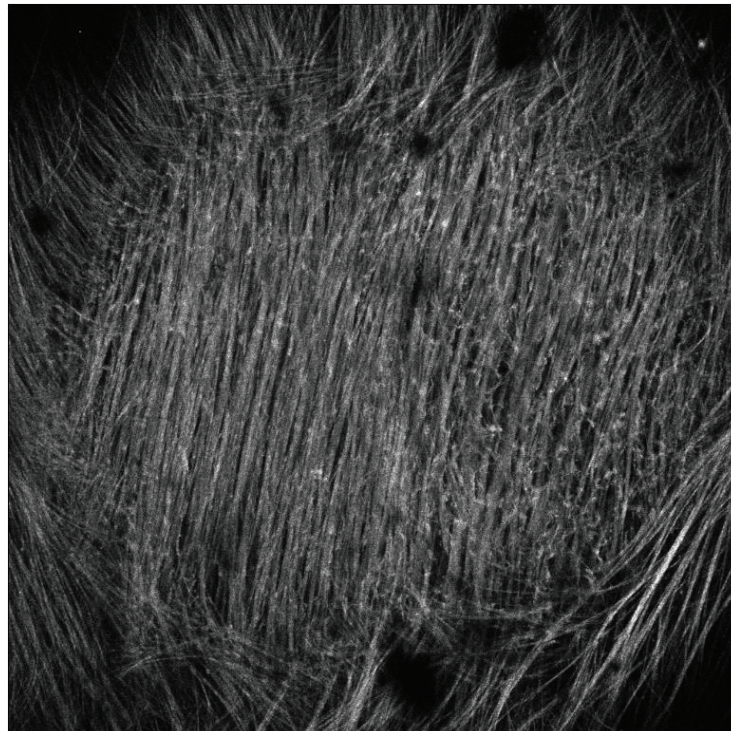
Le paramètre de cohérence  $C$  renseigne également sur le degré d'isotropie de la ROI observée, puisqu'il correspond à la différence normalisée des valeurs propres. Une cohérence de 1 correspond donc à une structure très orientée dans la ROI, alors qu'une cohérence de 0 correspond à l'isotropie de la zone observée.

$$C = \frac{\lambda_{max} - \lambda_{min}}{\lambda_{max} + \lambda_{min}} \tag{B.5}$$
$$= \frac{\sqrt{(\langle f_y, f_y \rangle_w - \langle f_x, f_x \rangle_w)^2 + 4 \langle f_x, f_y \rangle_w}}{\langle f_x, f_x \rangle_w + \langle f_y, f_y \rangle_w}$$

avec  $\lambda_{max}$  et  $\lambda_{min}$  les plus grande et plus petite valeurs propres respectivement.

La méthode du calcul du gradient de l'image pour la détermination du tenseur de structure est paramétrable dans OrientationJ, de même que la taille de la fenêtre de calcul  $w$ . Les valeurs d'énergie et de cohérence peuvent également être utilisées comme filtre, afin de conserver les valeurs d'orientation calculées uniquement lorsqu'elles ont un sens, *i.e.* dans les zones anisotropes où l'on peut détecter des fibres, et non dans les zones isotropes qui correspondent au fond de l'image et où l'orientation calculée est associée au bruit.

Dans toute la suite, différentes valeurs pour les paramètres présentés ici ont été testées afin de déterminer une combinaison satisfaisante pour l'analyse de nos images. Pour ce faire, une image teste représentative de nos conditions d'imagerie a été utilisée et est présentée sur la figure B.1.



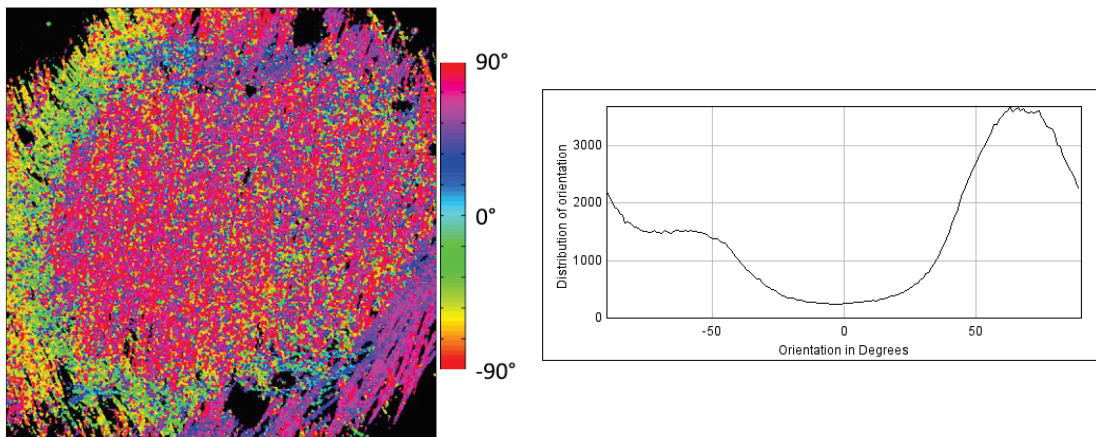
**Figure B.1** : Image teste de la capsule de foie montrant les fibres de collagène vue sur le canal de SHG du microscope confocal biphotonique et présentant différentes orientations.

## B.2 Choix du tenseur de structure

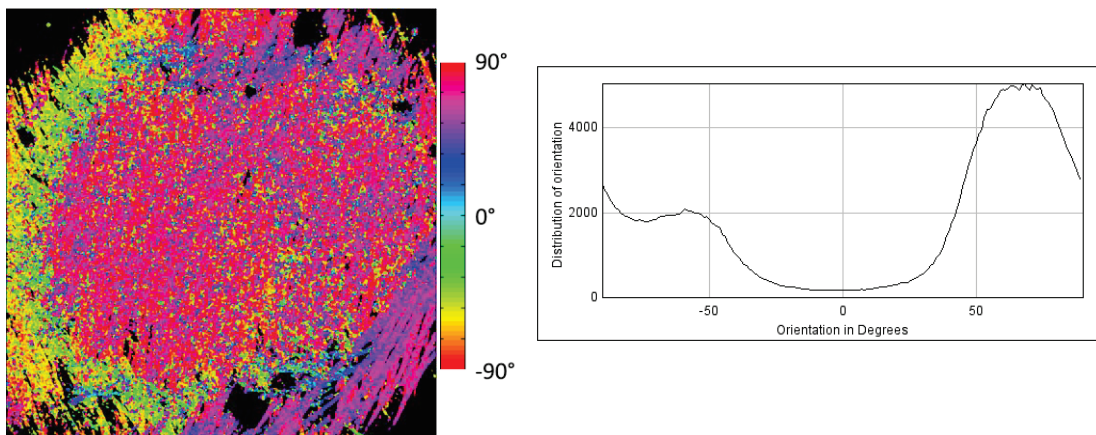
Pour tester l'effet du choix de la méthode de calcul du gradient pour déterminer le tenseur de structure, le paramètre de la taille de la fenêtre a été réglé à 1 pixel, et les paramètres d'énergie et de cohérence ont été fixés à 2%.

La figure B.2 présente les différentes cartes d'orientation obtenues via les différentes méthodes de calcul du gradient proposée dans OrientationJ, ainsi que les histogrammes d'orientation associés.

a) Cubic spline Gradient



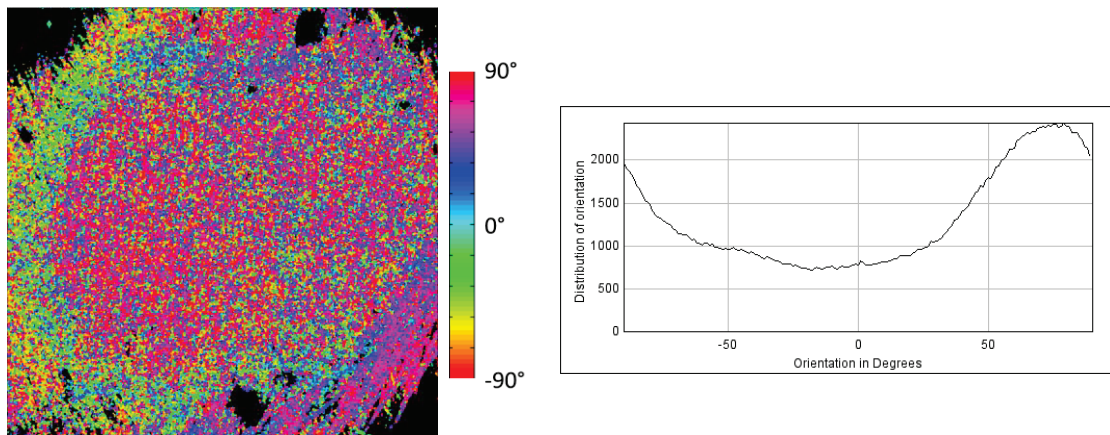
b) Finite difference Gradient



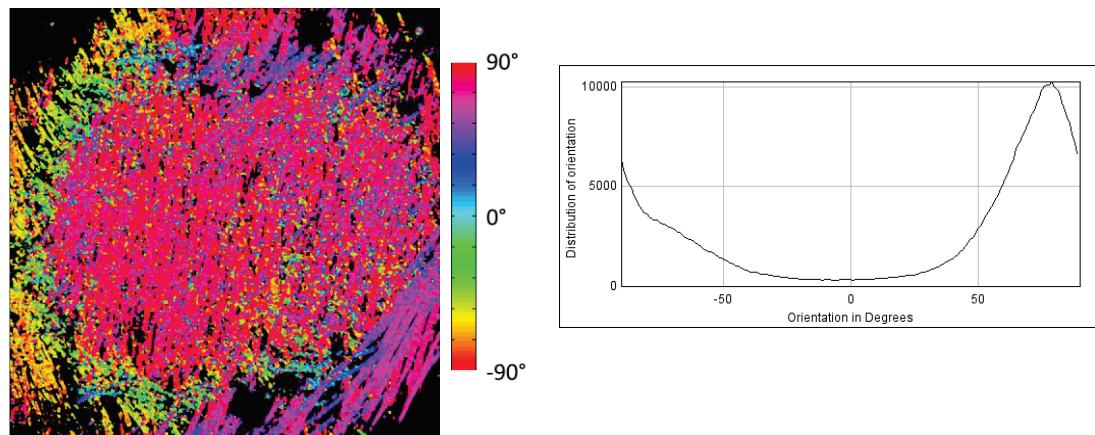


## B. Test des paramètres pour le calcul d'orientation via le plugin OrientationJ d'ImageJ

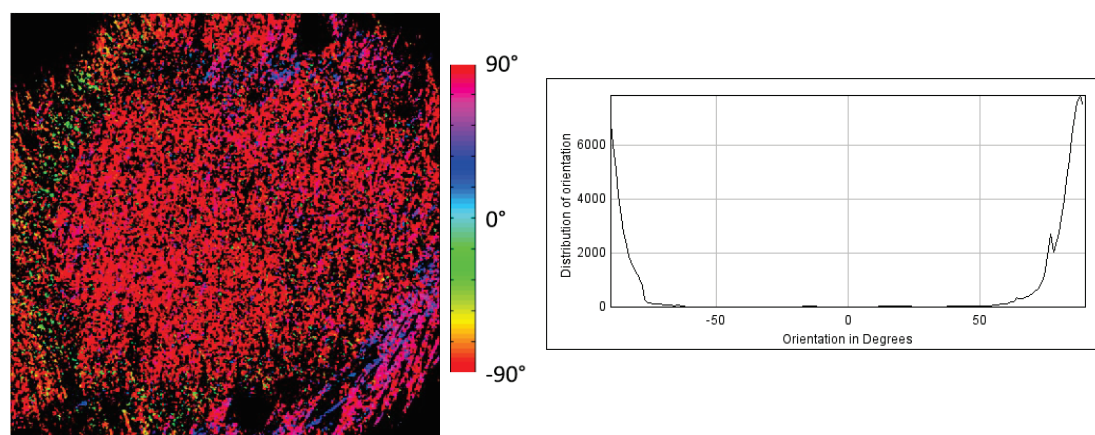
c) Fourier Gradient



d) Gaussian Gradient



e) Finite Difference Hessian



**Figure B.2 :** Comparaison des différentes méthodes de calcul du gradient de l'image pour une fenêtre de 1 pixel, énergie = 2%, cohérence = 2%.

## B. Test des paramètres pour le calcul d'orientation via le plugin OrientationJ d'ImageJ

---

On constate alors que le gradient par interpolation de splines cubiques (figure B.2a) et le gradient aux différences finies (figure B.2b) donnent des résultats similaires. Les différents pics d'orientation sont détectés de manière satisfaisante par ces méthodes qui parviennent à faire la distinction entre les différentes familles de fibres.

Le gradient par transformée de Fourier (figure B.2c) discrétise beaucoup la structure et ne détecte pas bien les orientations dominantes. On obtient une distribution plus proche de l'isotropie avec cette méthode qui a donc été rejetée.

Le gradient gaussien (figure B.2d) présente des résultats similaires au cubic spline gradient et au finite difference gradient, mais davantage lissés. On observe sur les cartes d'orientation que les fibres sont plus « individualisées » par cette méthode.

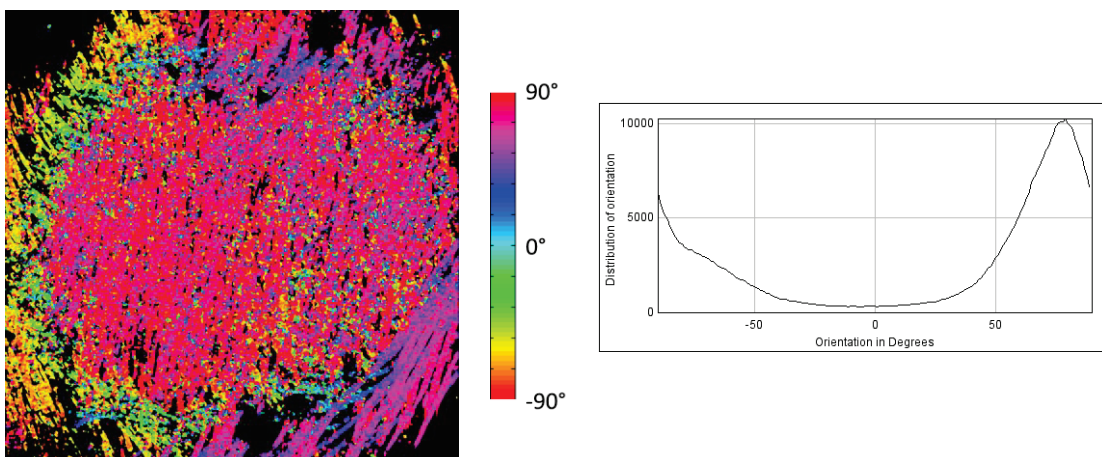
Le gradient par différence finie de la matrice hessienne (figure B.2e) présente le plus de discontinuité dans les cartes de déformations et ne parvient donc pas à capter le caractère continu des fibres et ainsi à détecter toutes les orientations dominantes.

Le choix d'utiliser le gradient gaussien a donc été fait, dans la mesure où les différentes orientations des fibres de collagène de l'image teste sont bien captées par cette méthode, qui présente des résultats plus lisses que les méthodes par splines cubiques ou différence finie.

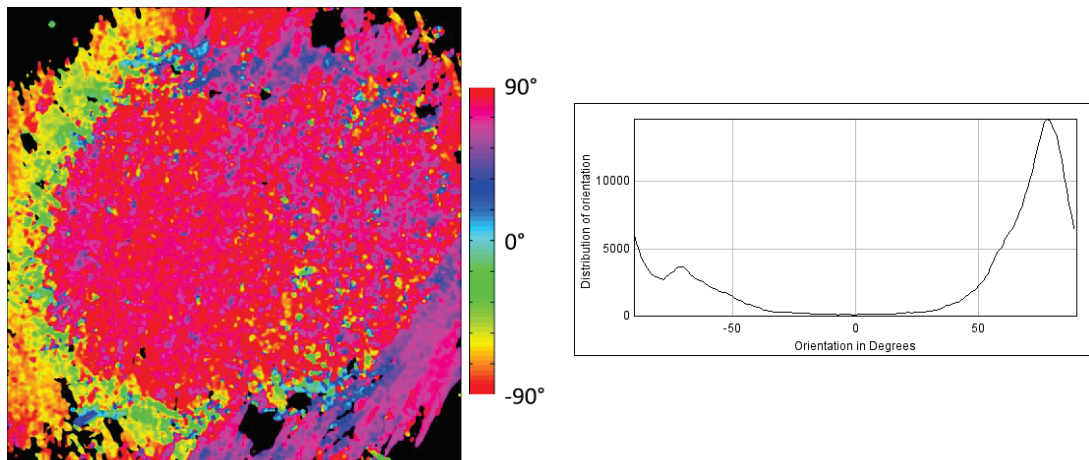
### B.3 Choix de la taille de la fenêtre de la ROI

Ici, l'influence de la taille de la fenêtre gaussienne sur laquelle est évalué le gradient est testé. On utilise le gradient gaussien pour les tests avec une énergie et une cohérence de 2%. La figure B.3 présente les résultats obtenus pour différentes tailles de fenêtre gaussienne.

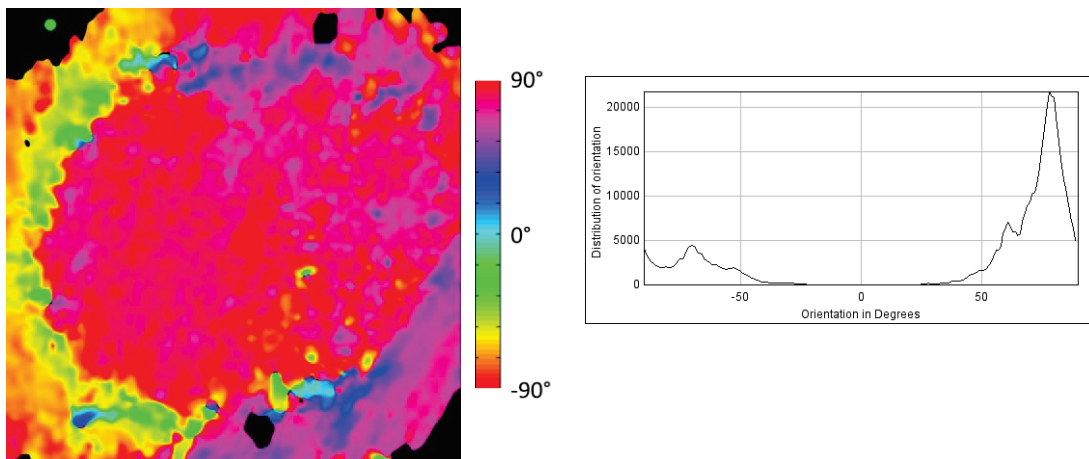
a) 1 pixel



b) 2 pixels



c) 5 pixels



**Figure B.3 :** Influence de la taille de la fenêtre gaussienne sur l'évaluation des orientations locales. Résultats obtenus avec une méthode de calcul par gradient gaussien, énergie = 2%, cohérence = 2%.

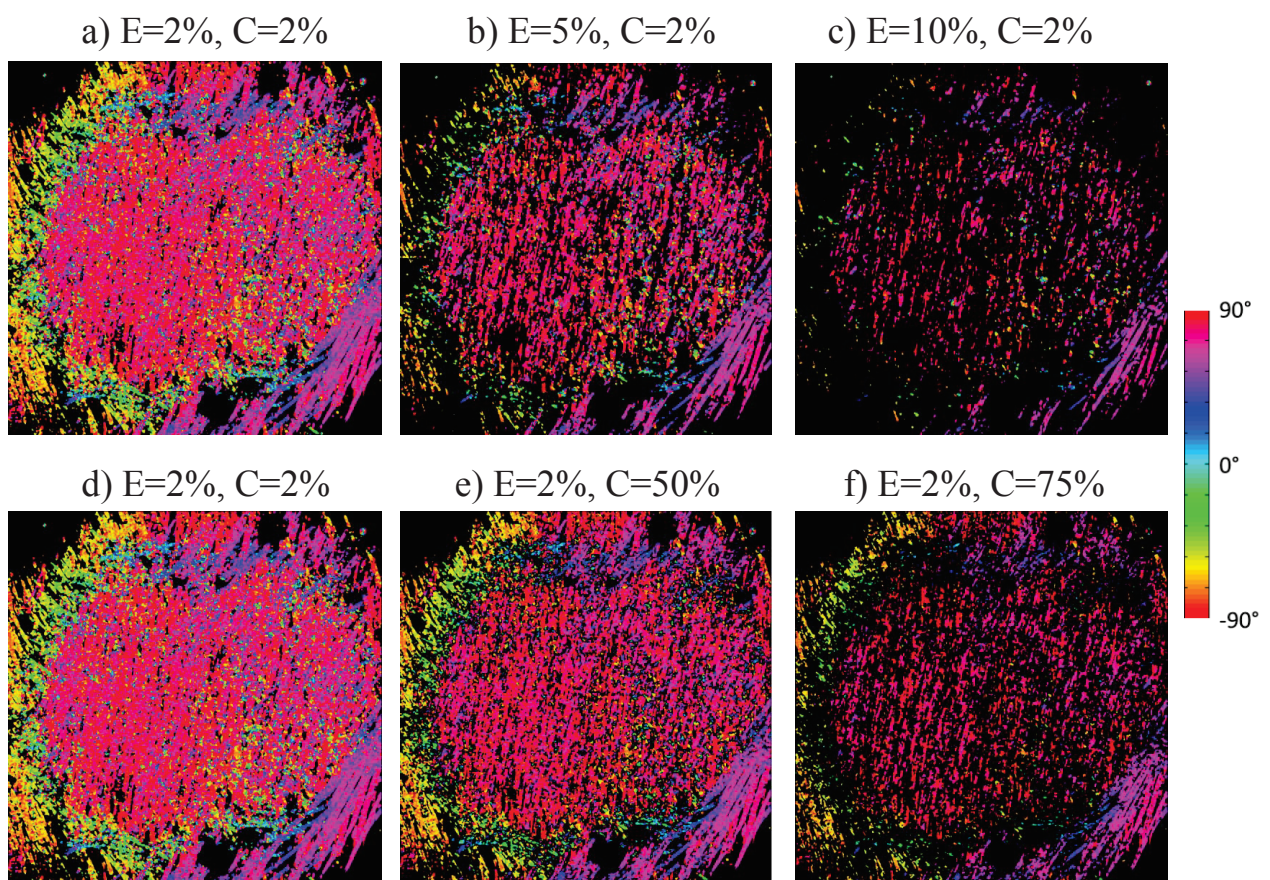
On remarque alors qu'un moyennage important est effectué avec une augmentation de la taille de la fenêtre gaussienne. Cette taille est à mettre en relation avec la taille des structures que l'on cherche à distinguer sur les images, à savoir les fibres de collagène. Sur nos images, une fibre de collagène de la capsule de foie humaine mesure entre 2 et 5  $\mu\text{m}$  de diamètre, soit entre 4 et 10 pixels pour la résolution choisie des images. Pour individualiser les fibres de manière satisfaisante et ainsi compter les orientations de manière pertinente, la taille de cette fenêtre doit donc être adaptée à la taille caractéristique des fibres. Une fenêtre gaussienne de 1 pixel a donc été choisie pour les mesures d'orientation.



## B.4 Test des valeurs seuils d'énergie et de cohérence

Afin de tester l'influence du filtrage par les valeurs d'énergie et de cohérence, des tests ont été menés sur l'image de référence en effectuant une analyse paramétrique avec un calcul par gradient gaussien pour une taille de fenêtre gaussienne de 1 pixel.

La figure B.4 présente les cartes d'orientation pour différentes valeurs seuils d'énergie lorsque la cohérence est fixée à 2% (a-c) et pour différentes valeurs seuils de cohérence lorsque l'énergie est fixée à 2% (d-f)



**Figure B.4 :** Influence du filtrage par les valeurs seuils d'énergie (E) et de cohérence (C) sur les cartes d'orientations. a-c) Variation d'énergie pour une valeur seuil de cohérence de 2%.  
d-f) Variation de cohérence pour une valeur seuil d'énergie de 2%.



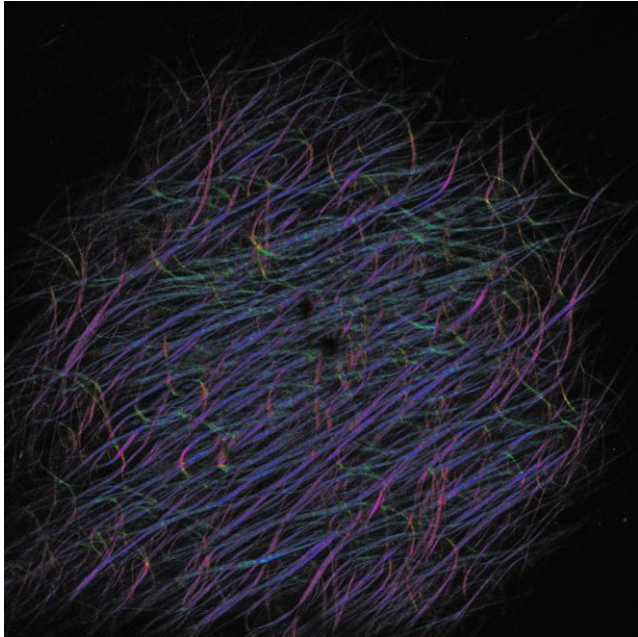
## B. Test des paramètres pour le calcul d'orientation via le plugin OrientationJ d'ImageJ

---

Les valeurs seuils d'énergie et de cohérence permettent de filtrer les orientations afin de restreindre l'analyse dans les zones où l'anisotropie est fortement prononcée. On remarque que l'énergie permet un premier filtrage « grossier » alors que l'influence de la cohérence est plus fine. Par ce filtrage, il est alors possible de supprimer une composante isotrope dans l'analyse, qui correspondrait par exemple à du bruit sur les images.

Cependant, dans la mesure où nos images présentent une qualité suffisante, ce filtrage n'apparaît pas nécessaire. Des valeurs basses de seuil d'énergie et de cohérence, réglé à 2%, apparaissent suffisantes pour supprimer l'influence du faible bruit des images, et conserver dans l'analyse l'orientation qui provient exclusivement des fibres de collagène.

---



---

---

# Nomenclature

## Scalars

$A$	Aire d'un carré du maillage éléments finis
$N_{i,x}$	Dérivées des fonctions d'interpolations bilinéaires par rapport à $x$
$N_x$	Tension au sommet du dôme de gonflement dans la direction $X$
$r_x$	Rayon de courbure de l'ellipsoïde approximé dans la direction $X$
$a$	Petit axe de l'ellipse
$b$	Grand axe de l'ellipse
$L$	Longueur d'un arc d'ellipse
$\lambda_x$	Élongation dans la direction $X$
$t$	Épaisseur de la capsule
$I_i$	Invariants du tenseur des déformations de Cauchy-Green ( $i=1,2$ )
$W_i$	Potentiel d'énergie de déformation
$\Gamma_i(\theta)$	distribution d'orientation des fibres dans la configuration $i$

## Vecteurs

$U$	Vecteur déplacement
$X_i$	Vecteur position
$M$	Vecteur directeur d'une famille de fibres

## **Tenseurs**

$\underline{F}$	Tenseur gradient de la transformation
$\underline{C}$	Tenseur des déformations de Cauchy-Green droit
$\underline{E}$	Tenseur des déformations de Green-Lagrange
$\underline{\sigma}$	Tenseur des contraintes de Cauchy
$\underline{Id}$	Tenseur identité

---

# Bibliographie

- AIS 2008, The AIS© 2005 Update 2008, Association for the Advancement of Automotive Medicine, AAAM, des Plaines, IL, USA, 2008.
- Akeson, W.H., Amiel, D., Woo, S.L., 1980. Immobility effects on synovial joints the pathomechanics of joint contracture. *Biorheology* 17, 95–110.
- Akeson, W.H., Woo, S.L., Amiel, D., Coutts, R.D., Daniel, D., 1973. The connective tissue response to immobility: biochemical changes in periarticular connective tissue of the immobilized rabbit knee. *Clin. Orthop. Relat. Res.* 356–62.
- Aspden, R.M., 1986. Relation Between Structure and Mechanical Behaviour of Fibre-Reinforced Composite Materials at Large Strains. *Proc. R. Soc. A Math. Phys. Eng. Sci.* 406, 287–298.
- Augenstein, J., Bowen, J., Perdeck, E., Singer, M., Stratton, J., Horton, T., Rao, A., Digges, K., Malliaris, A., Steps, J., 2000. Injury Patterns in Near-Side Collisions.
- Axelrod, D., Koppel, D.E., Schlessinger, J., Elson, E., Webb, W.W., 1976. Mobility measurement by analysis of fluorescence photobleaching recovery kinetics. *Biophys. J.* 16, 1055–69.
- Bancelin, S., 2013. Quantitative Imaging of Collagen by Second Harmonic Generation. *Ecole Polytechnique X*.
- Bel-Brunon, A., Coret, M., Bruyère-Garnier, K., Combescure, A., 2013. Compared prediction of the experimental failure of a thin fibrous tissue by two macroscopic damage models. *J. Mech. Behav. Biomed. Mater.*
- Bernas, T., Zarebski, M., Cook, R.R., Dobrucki, J.W., Cook, P.R., 2004. Minimizing photobleaching during confocal microscopy of fluorescent probes bound to chromatin: role of anoxia and photon flux. *J. Microsc.* 215, 281–96.
- Besnard, G., Hild, F., Roux, S., 2006. “Finite-element” displacement fields analysis from digital images: Application to Portevin-Le Châtelier bands. *Exp. Mech.* 46, 789–803.

- Billiar, K.L., Sacks, M.S., 1997. A method to quantify the fiber kinematics of planar tissues under biaxial stretch. *J. Biomech.* 30, 753–756.
- Blomfield, J., Farrar, J.F., 1969. The Fluorescent Properties of Maturing Arterial Elastin 161–170.
- Briones, A.M., González, J.M., Somoza, B., Giraldo, J., Daly, C.J., Vila, E., Carmen González, M., McGrath, J.C., Arribas, S.M., 2003. Role of elastin in spontaneously hypertensive rat small mesenteric artery remodelling. *J. Physiol.* 552, 185–195.
- Brown, I.A., 1973. A scanning electron microscope study of the effects of uniaxial tension on human skin. *Br. J. Dermatol.* 89, 383–393.
- Brunon, A., 2011. Caractérisation et modélisation de la rupture des tissus hépatiques.
- Brunon, A., Bruyère-Garnier, K., Coret, M., 2010. Mechanical characterization of liver capsule through uniaxial quasi-static tensile tests until failure. *J. Biomech.* 43, 2221–2227.
- Brunon, A., Bruyère-Garnier, K., Coret, M., 2011. Characterization of the nonlinear behaviour and the failure of human liver capsule through inflation tests. *J. Mech. Behav. Biomed. Mater.* 4, 1572–81.
- Butler, D.L., Goldstein, S. a, Guilak, F., 2001. Functional tissue engineering: the role of biomechanics in articular cartilage repair. *Clin. Orthop. Relat. Res.* 122, S295–S305.
- Çakmak, U.D., Kallaí, I., Major, Z., 2014. Temperature dependent bulge test for elastomers. *Mech. Res. Commun.* 60, 27–32.
- Campagnola, P.J., Millard, A.C., Terasaki, M., Hoppe, P.E., Malone, C.J., Mohler, W.A., 2002. Three-dimensional high-resolution second-harmonic generation imaging of endogenous structural proteins in biological tissues. *Biophys. J.* 82, 493–508.
- Carter, F.J., Frank, T.G., Davies, P.J., McLean, D., Cuschieri, A., 2001. Measurements and modelling of the compliance of human and porcine organs. *Med. Image Anal.* 5, 231–6.
- Chandran, P.L., Barocas, V.H., 2005. Affine Versus Non-Affine Fibril Kinematics in Collagen Networks: Theoretical Studies of Network Behavior. *J. Biomech. Eng.* 128, 259.
- Chapman, G.B., Eagles, D. a, 2007. Ultrastructural features of Glisson’s capsule and the overlying mesothelium in rat, monkey and pike liver. *Tissue cell* 39, 343–351.
- Chaudhry, H., Max, R., Antonio, S., Findley, T., 2012. Mathematical model of fiber orientation in anisotropic fascia layers at large displacements. *J. Bodyw. Mov. Ther.* 16, 158–64.
- Cheng, V.W.T., Screen, H.R.C., 2007. The micro-structural strain response of tendon. *J. Mater. Sci.* 42, 8957–8965.



- Chuong, C.J., Fung, Y.C., 1983. Three-Dimensional Stress Distribution in Arteries. *J. Biomech. Eng.* 105, 268.
- Cortes, D.H., Lake, S.P., Kadlowec, J. a, Soslowky, L.J., Elliott, D.M., 2010. Characterizing the mechanical contribution of fiber angular distribution in connective tissue: comparison of two modeling approaches. *Biomech. Model. Mechanobiol.* 9, 651–658.
- Daly, C.H., 1982. Biomechanical properties of dermis. *J. Invest. Dermatol.* 79 Suppl 1, 17s–20s.
- Dan, D., 1999. Caractérisation mécanique du foie humain en situation de choc (Mechanical characterization of human liver in impact). Ph D thesis, Univ. Paris 7, Paris.
- Deyl, Z., Macek, K., Adam, M., Vancíková, O., 1980. Studies on the chemical nature of elastin fluorescence. *Biochim. Biophys. Acta* 625, 248–54.
- Diani, J., Brieu, M., Gilormini, P., 2006. Observation and modeling of the anisotropic visco-hyperelastic behavior of a rubberlike material. *Int. J. Solids Struct.* 43, 3044–3056.
- Diaspro, A., Chirico, G., Usai, C., Ramoino, P., Dobrucki, J., 2006. Photobleaching. In: Pawley, J.B. (Ed.), *Handbook Of Biological Confocal Microscopy SE* - 39. Springer US, pp. 690–702.
- Dobrin, P., Baker, W., Gley, W., 1984. Elastolytic and collagenolytic studies of arteries: Implications for the mechanical properties of aneurysms. *Arch. Surg.* 119, 405–409.
- Dunn, G. a, Dobbie, I.M., Monypenny, J., Holt, M.R., Zicha, D., 2002. Fluorescence localization after photobleaching (FLAP): a new method for studying protein dynamics in living cells. *J. Microsc.* 205, 109–12.
- Elhagediab, A.M., Rouhana, S.W., 1998. Patterns of abdominal injury in frontal automotive crashes. In: *16th International ESV Conference Proceedings*. pp. 327–337.
- Engler, A.J., Sen, S., Sweeney, H.L., Discher, D.E., 2006. Matrix Elasticity Directs Stem Cell Lineage Specification. *Cell* 126, 677–689.
- Fan, R., Sacks, M.S., 2014. Simulation of planar soft tissues using a structural constitutive model: Finite element implementation and validation. *J. Biomech.* 47, 2043–2054.
- Farshad, M., Barbezat, M., Flüeler, P., Schmidlin, F., Graber, P., Niederer, P., 1999. Material characterization of the pig kidney in relation with the biomechanical analysis of renal trauma. *J. Biomech.* 32, 417–425.
- Federico, S., Gasser, T.C., 2010. Nonlinear elasticity of biological tissues with statistical fibre orientation. *J. R. Soc. Interface R. Soc.* 7, 955–966.
- Federico, S., Herzog, W., 2008. Towards an analytical model of soft biological tissues. *J. Biomech.* 41, 3309–3313.

- Flügge, W., 1960. Stresses in Shells.
- Fratzl, P., Misof, K., Zizak, I., Rapp, G., Amenitsch, H., Bernstorff, S., 1998. Fibrillar structure and mechanical properties of collagen. *J. Struct. Biol.* 122, 119–22.
- Fujimori, E., 1985. Changes induced by ozone and ultraviolet light in type I collagen. Bovine Achilles tendon collagen versus rat tail tendon collagen. *Eur. J. Biochem.* 152, 299–306.
- Fujimoto, D., Akiba, K., Nakamura, N., 1977. Isolation and characterization of a fluorescent material in bovine achilles tendon collagen. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 76, 1124–1129.
- Gao, Z., Desai, J.P., 2010. Estimating zero-strain states of very soft tissue under gravity loading using digital image correlation. *Med. Image Anal.* 14, 126–37.
- Gasser, T.C., 2011. An irreversible constitutive model for fibrous soft biological tissue: a 3-D microfiber approach with demonstrative application to abdominal aortic aneurysms. *Acta Biomater.* 7, 2457–66.
- Gasser, T.C., Ogden, R.W., Holzapfel, G. a, 2006. Hyperelastic modelling of arterial layers with distributed collagen fibre orientations. *J. R. Soc. Interface R. Soc.* 3, 15–35.
- Gelse, K., Pöschl, E., Aigner, T., 2003. Collagens—structure, function, and biosynthesis. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 55, 1531–1546.
- Gentleman, E., Lay, A.N., Dickerson, D.A., Nauman, E.A., Livesay, G.A., Dee, K.C., 2003. Mechanical characterization of collagen fibers and scaffolds for tissue engineering. *Biomaterials* 24, 3805–13.
- Georgakoudi, I., Jacobson, B.C., Müller, M.G., Sheets, E.E., Badizadegan, K., Carr-Locke, D.L., Crum, C.P., Boone, C.W., Dasari, R.R., Van Dam, J., Feld, M.S., 2002. NAD(P)H and collagen as in vivo quantitative fluorescent biomarkers of epithelial precancerous changes. *Cancer Res.* 62, 682–687.
- Gizzi, A., Vasta, M., Pandolfi, A., 2014. Modeling collagen recruitment in hyperelastic bio-material models with statistical distribution of the fiber orientation. *Int. J. Eng. Sci.* 78, 48–60.
- Goulam Houssen, Y., Gusachenko, I., Schanne-Klein, M.-C., Allain, J.-M., 2011. Monitoring micrometer-scale collagen organization in rat-tail tendon upon mechanical strain using second harmonic microscopy. *J. Biomech.* 44, 2047–2052.
- Graham, J.S., Vomund, A.N., Phillips, C.L., Grandbois, M., 2004. Structural changes in human type I collagen fibrils investigated by force spectroscopy. *Exp. Cell Res.* 299, 335–42.
- Guo, Z.Y., Peng, X.Q., Moran, B., 2006. A composites-based hyperelastic constitutive model for soft tissue with application to the human annulus fibrosus. *J. Mech. Phys. Solids* 54, 1952–1971.

- Hannafin, J.A., Arnoczky, S.P., 1994. Effect of cyclic and static tensile loading on water content and solute diffusion in canine flexor tendons: an in vitro study. *J. Orthop. Res.* 12, 350–6.
- Henninger, H.B., Valdez, W.R., Scott, S. a., Weiss, J. a., 2015. Elastin Governs the Mechanical Response of Medial Collateral Ligament Under Shear and Transverse Tensile Loading. *Acta Biomater.*
- Herbert, L.A., Chen, W.C., Hartmann, A., Garancis, J.C., 1976. Mechanical properties of the dog renal capsule. *J. Appl. Physiol.* 40, 164–70.
- Hildebrandt, J., Fukaya, H., Martin, C.J., 1969. Stress-strain relations of tissue sheets undergoing uniform two-dimensional stretch. *J. Appl. Physiol.* 27, 758–762.
- Hill, M.R., Duan, X., Gibson, G. a, Watkins, S., Robertson, A.M., 2012. A theoretical and non-destructive experimental approach for direct inclusion of measured collagen orientation and recruitment into mechanical models of the artery wall. *J. Biomech.* 45, 762–71.
- Hollenstein, M., Mazza, E., 2012. Mechanical Characterization of the Human Liver. In: *Computer Models in Biomechanics: From Nano to Macro.*
- Hollenstein, M., Nava, A., Valtorta, D., Snedeker, J.G., Mazza, E., 2006. Mechanical characterization of the liver capsule and parenchyma. *Lect. Notes Comput. Sci. (including Subser. Lect. Notes Artif. Intell. Lect. Notes Bioinformatics)* 4072 LNCS, 150–158.
- Holzapfel, G.A., Gasser, T.C., Ogden, R.A.Y.W., 2000. A New Constitutive Framework for Arterial Wall Mechanics and a Comparative Study of Material Models 1–48.
- Holzapfel, G.A., Stadler, M., Schulze-Bauer, C.A.J., 2002. A Layer-Specific Three-Dimensional Model for the Simulation of Balloon Angioplasty using Magnetic Resonance Imaging and Mechanical Testing. *Ann. Biomed. Eng.* 30, 753–767.
- Hulmes, D.J., Wess, T.J., Prockop, D.J., Fratzl, P., 1995. Radial packing, order, and disorder in collagen fibrils. *Biophys. J.* 68, 1661–70.
- Humphrey, J.D., 2003. Review Paper: Continuum biomechanics of soft biological tissues. *Proc. R. Soc. A Math. Phys. Eng. Sci.* 459, 3–46.
- Ibanez, L., Schroeder, W., Ng, L., J, C., 2005. *The ITK Software Guide Second Edition.* Kitware Inc.
- Ishikawa-Ankerhold, H.C., Ankerhold, R., Drummen, G.P.C., 2012. Advanced fluorescence microscopy techniques--FRAP, FLIP, FLAP, FRET and FLIM. *Molecules* 17, 4047–132.
- Jacquemoud, C., Bruyere-Garnier, K., Coret, M., 2007. Methodology to determine failure characteristics of planar soft tissues using a dynamic tensile test. *J. Biomech.* 40, 468–475.
- Johannknecht, R., Jerrams, S.J., 1999. The need for equi-biaxial testing to determine elastomeric material properties. In: *Constitutive Models for Rubber, Volume 1.*

- Joyce, E.M., 2009. Micromechanical mechanisms of fetal membrane failure. University of Pittsburgh.
- Kato, Y.P., Christiansen, D.L., Hahn, R.A., Shieh, S.J., Goldstein, J.D., Silver, F.H., 1989. Mechanical properties of collagen fibres: a comparison of reconstituted and rat tail tendon fibres. *Biomaterials* 10, 38–42.
- Keyes, J.T., Haskett, D.G., Utzinger, U., Azhar, M., Vande Geest, J.P., 2011. Adaptation of a planar microbiaxial optomechanical device for the tubular biaxial microstructural and macroscopic characterization of small vascular tissues. *J. Biomech. Eng.* 133, 075001.
- Keyes, J.T., Lockwood, D.R., Simon, B.R., Vande Geest, J.P., 2013. Deformationally dependent fluid transport properties of porcine coronary arteries based on location in the coronary vasculature. *J. Mech. Behav. Biomed. Mater.* 17, 296–306.
- Klatt, D., Asbach, P., Rump, J., Papazoglou, S., Somasundaram, R., Modrow, J., Braun, J., Sack, I., 2006. In vivo determination of hepatic stiffness using steady-state free precession magnetic resonance elastography. *Invest. Radiol.* 41, 841–8.
- Koch, R.G., Tsamis, A., D'Amore, A., Wagner, W.R., Watkins, S.C., Gleason, T.G., Vorp, D. a., 2014. A custom image-based analysis tool for quantifying elastin and collagen micro-architecture in the wall of the human aorta from multi-photon microscopy. *J. Biomech.* 47, 935–43.
- Kuang, C., Luo, D., Liu, X., Wang, G., 2013. Study on factors enhancing photobleaching effect of fluorescent dye. *Measurement* 46, 1393–1398.
- Kyriacou, S.K., Mohamed, A., Miller, K., Neff, S., 2002. Brain mechanics For neurosurgery: modeling issues. *Biomech. Model. Mechanobiol.* 1, 151–64.
- Lake, S.P., Miller, K.S., Elliott, D.M., Soslowky, L.J., 2009. Effect of fiber distribution and realignment on the nonlinear and inhomogeneous mechanical properties of human supraspinatus tendon under longitudinal tensile loading. *J. Orthop. Res.* 27, 1596–602.
- Lanir, Y., 1983. Constitutive equations for fibrous connective tissues. *J. Biomech.* 16, 1–12.
- Lanir, Y., Salant, E.L., Foux, A., 1988. Physico-chemical and microstructural changes in collagen fiber bundles following stretch in-vitro. *Biorheology* 25, 591–603.
- Lau, I. V, Horsch, J.D., Viano, D.C., Andrzejak, D. V, 1987. Biomechanics of liver injury by steering wheel loading. *J. Trauma* 27, 225–35.
- Liao, J., Yang, L., Grashow, J., Sacks, M.S., 2005. Molecular orientation of collagen in intact planar connective tissues under biaxial stretch. *Acta Biomater.* 1, 45–54.
- Limb, J.O., Murphy, J.A., 1975. Estimating the Velocity of Moving Images in Television Signals. *Comput. Graph. Image Process.* 4, 311–327.

- 
- Liu, Z., Smith, B.N., Kahn, H., Ballarini, R., Eppell, S.J., 2006. Nanofibrils Using MEMS Technology 00, 6–9.
- Marckmann, G., Verron, E., Gornet, L., Chagnon, G., Charrier, P., Fort, P., 2002. A theory of network alteration for the Mullins effect. *J. Mech. Phys. Solids* 50, 2011–2028.
- Marcu, L., Grundfest, W.S., Maarek, J.M., 1999. Photobleaching of arterial fluorescent compounds: characterization of elastin, collagen and cholesterol time-resolved spectra during prolonged ultraviolet irradiation. *Photochem. Photobiol.* 69, 713–21.
- Mauri, a., Perrini, M., Mateos, J.M., Maake, C., Ochsenbein-Koelble, N., Zimmermann, R., Ehrbar, M., Mazza, E., 2013. Second harmonic generation microscopy of fetal membranes under deformation: Normal and altered morphology. *Placenta* 34, 1020–1026.
- Mauri, A., Ehret, A.E., Perrini, M., Maake, C., Ochsenbein-Kölble, N., Ehrbar, M., Oyen, M.L., Mazza, E., 2015a. Deformation mechanisms of Human amnion: Quantitative studies based on second harmonic generation microscopy. *J. Biomech.*
- Mauri, A., Perrini, M., Ehret, A.E., De Focatiis, D.S. a., Mazza, E., 2015b. Time-dependent mechanical behavior of human amnion: Macroscopic and microscopic characterization. *Acta Biomater.* 11, 314–323.
- Mays, E.T., 1966. Bursting Injuries of the Liver. *Arch. Surg.* 93, 92.
- Mazza, E., Nava, A., Hahnloser, D., Jochum, W., Bajka, M., 2007. The mechanical response of human liver and its relation to histology: an in vivo study. *Med. Image Anal.* 11, 663–72.
- Merckel, Y., Diani, J., Roux, S., Brieu, M., 2011. A simple framework for full-network hyperelasticity and anisotropic damage. *J. Mech. Phys. Solids* 59, 75–88.
- Miyazaki, H., Hayashi, K., 1999. Tensile tests of collagen fibers obtained from the rabbit patellar tendon. *Biomed. Microdevices* 2, 151–157.
- Mooney, M., 1940. A Theory of Large Elastic Deformation. *J. Appl. Phys.* 11.
- Moore, E.E., Cogbill, T.H., Jurkovich, G.J., Shackford, S.R., Malangoni, M.A., Champion, H.R., 1995. Organ injury scaling: spleen and liver (1994 revision). *J. Trauma* 38, 323–4.
- Moran, E.C., Raghunathan, S., Evans, D.W., Vavalle, N.A., LeRoith, T., Smith, T.L., Sparks, J.L., 2012. Porohyperviscoelastic model simultaneously predicts parenchymal fluid pressure and reaction force in perfused liver. *J. Biomech. Eng.* 134, 091002.
- Myers, K.M., Coudrillier, B., Boyce, B.L., Nguyen, T.D., 2010. The inflation response of the posterior bovine sclera. *Acta Biomater.* 6, 4327–4335.
- Netter, F.H., 2010. Atlas of Human Anatomy, Saunders E. ed.
-

- Nguyen, T.D., Jones, R.E., Boyce, B.L., 2008. A nonlinear anisotropic viscoelastic model for the tensile behavior of the corneal stroma. *J. Biomech. Eng.* 130, 041020.
- Ottani, V., Raspanti, M., Ruggeri, a, 2001. Collagen structure and functional implications. *Micron* 32, 251–260.
- Oyen, M.L., Cook, R.F., Stylianopoulos, T., Barocas, V.H., Calvin, S.E., Landers, D. V., 2005. Uniaxial and biaxial mechanical behavior of human amnion. *J. Mater. Res.* 20, 2902–2909.
- Pandolfi, A., Holzapfel, G. a, 2008. Three-dimensional modeling and computational analysis of the human cornea considering distributed collagen fibril orientations. *J. Biomech. Eng.* 130, 061006.
- Pandolfi, A., Vasta, M.C.W., 2012. Fiber distributed hyperelastic modeling of biological tissues. *Mech. Mater.* 44, 151–162 ST – Fiber distributed hyperelastic model.
- Parry, D. a, 1988. The molecular and fibrillar structure of collagen and its relationship to the mechanical properties of connective tissue. *Biophys. Chem.* 29, 195–209.
- Patterson, G.H., Piston, D.W., 2000. Photobleaching in two-photon excitation microscopy. *Biophys. J.* 78, 2159–62.
- Pawley, J., 2006. Fundamental Limits in Confocal Microscopy. In: Pawley, J.B. (Ed.), *Handbook Of Biological Confocal Microscopy SE - 2*. Springer US, pp. 20–42.
- Perrini, M., Bürzle, W., Haller, C., Ochsenbein-Kölbl, N., Deprest, J., Zimmermann, R., Mazza, E., Ehrbar, M., 2013. Contractions, a risk for premature rupture of fetal membranes: a new protocol with cyclic biaxial tension. *Med. Eng. Phys.* 35, 846–51.
- Pins, G.D., Christiansen, D.L., Patel, R., Silver, F.H., 1997. Self-assembly of collagen fibers. Influence of fibrillar alignment and decorin on mechanical properties. *Biophys. J.* 73, 2164–72.
- Pizzo, a M., Kokini, K., Vaughn, L.C., Waisner, B.Z., Voytik-Harbin, S.L., 2005. Extracellular matrix (ECM) microstructural composition regulates local cell-ECM biomechanics and fundamental fibroblast behavior: a multidimensional perspective. *J. Appl. Physiol.* 98, 1909–1921.
- Poissant, J., Barthelat, F., 2012. In Situ Mechanical Testing of Hydrated Biological Nanofibers Using a Nanoindenter Transducer. *Exp. Mech.* 52, 1287–1295.
- Purslow, P.P., 1989. Strain-induced reorientation of an intramuscular connective tissue network: Implications for passive muscle elasticity. *J. Biomech.* 22, 21–31.
- Purslow, P.P., Wess, T.J., Hukins, D.W., 1998. Collagen orientation and molecular spacing during creep and stress-relaxation in soft connective tissues. *J. Exp. Biol.* 201, 135–142.

- 
- Raina, A., Linder, C., 2014. A homogenization approach for nonwoven materials based on fiber undulations and reorientation. *J. Mech. Phys. Solids* 65, 12–34.
- Ramanujan, S., 1914. Modular equations and approximations to pi. *Q. J. Math.* 45, 350–372.
- Rezakhaniha, R., Agianniotis, a, Schrauwen, J.T.C., Griffa, a, Sage, D., Bouten, C.V.C., van de Vosse, F.N., Unser, M., Stergiopoulos, N., 2012. Experimental investigation of collagen waviness and orientation in the arterial adventitia using confocal laser scanning microscopy. *Biomech. Model. Mechanobiol.* 11, 461–73.
- Ricci, L.L., 1980. NCSS statistics: passenger cars.
- Richards-Kortum, R., Sevick-Muraca, E., 1996. Quantitative optical spectroscopy for tissue diagnosis. *Annu. Rev. Phys. Chem.* 47, 555–606.
- Rivlin, R.S., 1997. Large Elastic Deformations. In: Barenblatt, G., Joseph, D. (Eds.), *Collected Papers of R.S. Rivlin* SE - 23. Springer New York, pp. 318–351.
- Rivlin, R.S., Saunders, D.W., 1951. Large Elastic Deformations of Isotropic Materials. VII. Experiments on the Deformation of Rubber. *Philos. Trans. R. Soc. London A Math. Phys. Eng. Sci.* 243, 251–288.
- Roach, M.R., Burton, A.C., 1957. The reason for the shape of the distensibility curves of arteries. *Can. J. Biochem. Physiol.* 35, 681–90.
- Robert, A., Robert, L., 1980. Biology and Pathology of Elastic Tissues. In: Robert, A., Robert, L. (Eds.), *Frontiers of Matrix Biology*. Basel: Karger.
- Robert, L., 2002. Elastin, past, present and future. *Pathol. Biol.* 50, 503–511.
- Robertson, A., Hill, M., Li, D., 2012. Structurally motivated damage models for arterial walls. Theory and application. In: Ambrosi, D., Quarteroni, A., Rozza, G. (Eds.), *Modeling of Physiological Flows* SE - 6, MS&A — Modeling, Simulation and Applications. Springer Milan, pp. 143–185.
- Robitaille, M.C., Zareian, R., DiMarzio, C. a., Wan, K.-T., Ruberti, J.W., 2011. Small-angle light scattering to detect strain-directed collagen degradation in native tissue. *Interface Focus* 1, 767–776.
- Roeder, B. a, Kokini, K., Sturgis, J.E., Robinson, J.P., Voytik-Harbin, S.L., 2002. Tensile mechanical properties of three-dimensional type I collagen extracellular matrices with varied microstructure. *J. Biomech. Eng.* 124, 214–222.
- Röhrnbauer, B., Ozog, Y., Egger, J., Werbrück, E., Deprest, J., Mazza, E., 2013. Combined biaxial and uniaxial mechanical characterization of prosthetic meshes in a rabbit model. *J. Biomech.* null.
- Rouhana, S.W., Foster, M.E., 1985. Lateral Impact-An Analysis of the Statistics in the NCSS.
-



- Rubbens, M.P., Driessen-Mol, A., Boerboom, R. a, Koppert, M.M.J., Van Assen, H.C., TerHaar Romeny, B.M., Baaijens, F.P.T., Bouten, C.V.C., 2009. Quantification of the Temporal Evolution of Collagen Orientation in Mechanically Conditioned Engineered Cardiovascular Tissues. *Ann. Biomed. Eng.* 37, 1263–1272.
- Sacks, M.S., 2003. Incorporation of Experimentally-Derived Fiber Orientation into a Structural Constitutive Model for Planar Collagenous Tissues. *J. Biomech. Eng.* 125, 280.
- Sasaki, N., Odajima, S., 1996. Elongation mechanism of collagen fibrils and force-strain relations of tendon at each level of structural hierarchy. *J. Biomech.* 29, 1131–6.
- Schmidt, T., Balzani, D., Holzapfel, G. a., 2014. Statistical approach for a continuum description of damage evolution in soft collagenous tissues. *Comput. Methods Appl. Mech. Eng.* 278, 41–61.
- Screen, H.R.C., 2008. Investigating load relaxation mechanics in tendon. *J. Mech. Behav. Biomed. Mater.* 1, 51–58.
- Screen, H.R.C., Evans, S.L., 2009. Measuring Strain Distributions in Tendon using Confocal Microscopy and Finite Elements. *J. Strain Anal. Eng. Des.* 44, 327–335.
- Screen, H.R.C., Lee, D.A., Bader, D.L., Shelton, J.C., 2004. An investigation into the effects of the hierarchical structure of tendon fascicles on micromechanical properties. *Proc. Inst. Mech. Eng. H.* 218, 109–19.
- Seghir, R., Witz, J.F., Coudert, S., 2014. YaDICs - Digital Image Correlation 2/3D software.
- Sherman, V.R., Yang, W., Meyers, M.A., 2015. The Materials science of collagen. *J. Mech. Behav. Biomed. Mater.*
- Snedeker, J.G., Niederer, P., Schmidlin, F.R., Farshad, M., Demetropoulos, C.K., Lee, J.B., Yang, K.H., 2005. Strain-rate dependent material properties of the porcine and human kidney capsule. *J. Biomech.* 38, 1011–1021.
- Song, L., Hennink, E.J., Young, I.T., Tanke, H.J., 1995. Photobleaching kinetics of fluorescein in quantitative fluorescence microscopy. *Biophys. J.* 68, 2588–600.
- Sparks, J.L., 2007. Biomechanics of blunt liver injury: relating internal pressure to injury severity and developing a constitutive model of stress-strain behavior.
- Stelzer, E.H.K., 1998. Contrast , resolution , pixelation , dynamic range and signal- to-noise ratio : fundamental limits to resolution in fluorescence light microscopy 189, 15–24.
- Strupler, M., Pena, a-M., Hernest, M., Tharaux, P.-L., Martin, J.-L., Beaurepaire, E., Schanne-Klein, M.-C., 2007. Second harmonic imaging and scoring of collagen in fibrotic tissues. *Opt. Express* 15, 4054–4065.

- 
- Susilo, M.E., Roeder, B. a, Voytik-Harbin, S.L., Kokini, K., Nauman, E. a, 2010. Development of a three-dimensional unit cell to model the micromechanical response of a collagen-based extracellular matrix. *Acta Biomater.* 6, 1471–1486.
- Sutton, M., Orteu, J., Schreier, H., 2009. Image correlation for shape, motion and deformation measurements, Springer, New York, doi.
- Svensson, R.B., Hassenkam, T., Grant, C. a, Magnusson, S.P., 2010. Tensile properties of human collagen fibrils and fascicles are insensitive to environmental salts. *Biophys. J.* 99, 4020–4027.
- Takamizawa, K., Hayashi, K., 1987. Strain energy density function and uniform strain hypothesis for arterial mechanics. *J. Biomech.* 20, 7–17.
- Timoshenko, S., Woinowsky-Krieger, S., 1959. Theory of plates and shells.
- Tinkoff, G., Esposito, T.J., Reed, J., Kilgo, P., Fildes, J., Pasquale, M., Meredith, J.W., 2008. American Association for the Surgery of Trauma Organ Injury Scale I: spleen, liver, and kidney, validation based on the National Trauma Data Bank. *J. Am. Coll. Surg.* 207, 646–55.
- Tonge, T.K., Atlan, L.S., Voo, L.M., Nguyen, T.D., 2013a. Full-field bulge test for planar anisotropic tissues: part I--experimental methods applied to human skin tissue. *Acta Biomater.* 9, 5913–25.
- Tonge, T.K., Voo, L.M., Nguyen, T.D., 2013b. Full-field bulge test for planar anisotropic tissues: part II--a thin shell method for determining material parameters and comparison of two distributed fiber modeling approaches. *Acta Biomater.* 9, 5926–42.
- Tower, T.T., Neidert, M.R., Tranquillo, R.T., 2002. Fiber alignment imaging during mechanical testing of soft tissues. *Ann. Biomed. Eng.* 30, 1221–1233.
- Tsakalagos, T., Jankowski, A.F., 1986. Mechanical Properties of Composition-Modulated Metallic Foils. *Annu. Rev. Mater. Sci.* 16, 293–313.
- Umale, S., Chatelin, S., Bourdet, N., Deck, C., Diana, M., Dhumane, P., Soler, L., Marescaux, J., Willinger, R., 2011. Experimental in vitro mechanical characterization of porcine Glisson's capsule and hepatic veins. *J. Biomech.* 44, 1678–1683.
- Van der Rijt, J.A.J., van der Werf, K.O., Bennink, M.L., Dijkstra, P.J., Feijen, J., 2006. Micromechanical testing of individual collagen fibrils. *Macromol. Biosci.* 6, 697–702.
- Vicente, N.B., Zamboni, J.E.D., Adur, J.F., Paravani, E. V, Casco, V.H., 2007. Photobleaching correction in fluorescence microscopy images. *J. Phys. Conf. Ser.* 90, 012068.
- Voss, B., Rauterberg, J., Allam, S., Pott, G., 1980. Distribution of collagen type I and type III and of two collagenous components of basement membranes in the human liver. *Pathol. Res. Pract.* 170, 50–60.
-

- Wang, R., Brewster, L.P., Gleason, R.L., 2013. In-situ characterization of the uncrimping process of arterial collagen fibers using two-photon confocal microscopy and digital image correlation. *J. Biomech.* 46, 2726–9.
- Weisbecker, H., Viertler, C., Pierce, D.M., Holzapfel, G. a, 2013. The role of elastin and collagen in the softening behavior of the human thoracic aortic media. *J. Biomech.* 46, 1859–65.
- Wenger, M.P.E., Bozec, L., Horton, M.A., Mesquida, P., 2007. Mechanical properties of collagen fibrils. *Biophys. J.* 93, 1255–63.
- Zhang, X., Li, Q., Liu, J., Sottini, S., 1996. Chemical mechanism of photobleaching of poly-3BCMU film. *J. Photochem. Photobiol. A Chem.* 95, 239–244.
- Zioupos, P., Barbenel, J.C., Fisher, J., 1992. Mechanical and optical anisotropy of bovine pericardium. *Med. Biol. Eng. Comput.* 30, 76–82.
- Zipfel, W.R., Williams, R.M., Webb, W.W., 2003. Nonlinear magic: multiphoton microscopy in the biosciences. *Nat Biotech* 21, 1369–1377.
- Zoumi, A., Lu, X., Kassab, G.S., Tromberg, B.J., 2004. Imaging coronary artery microstructure using second-harmonic and two-photon fluorescence microscopy. *Biophys. J.* 87, 2778–2786.
- Zoumi, A., Yeh, A., Tromberg, B.J., 2002. Imaging cells and extracellular matrix in vivo by using second-harmonic generation and two-photon excited fluorescence. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 99, 11014–9.

