



THESE DE DOCTORAT DE L'UNIVERSITE PARIS 6

Spécialité

Biomathématiques

Présentée par

Fadia BEKKAL BRIKCI

Pour obtenir le grade de

DOCTEUR de l'UNIVERSITE PARIS 6

Sujet de la thèse : **MODELISATION DU CYCLE CELLULAIRE ET COUPLAGE AVEC LA DYNAMIQUE DE POPULATION CELLULAIRE (Travail proposé par le regretté Professeur Ovide ARINO).**

Soutenue le...**04 Février 2005**...à l'Amphithéâtre de l'IRD à Bondy.....

Devant le jury composé de :

Mr Bernard CAZELLES	Président	Université Paris 6
Mr Pierre AUGER	Directeur de thèse	Institut de recherche pour le développement
Mr Khashayar PAKDAMAN	Rapporteur	Université Paris 7, Institut Jacques Monod
Mme Eva SANCHEZ	Rapporteur	Universidad Politécnica de Madrid, Espagne
Mr Hassan HBID	Examineur	Université Cadi Ayyad Marrakech, Maroc
Mr Noureddine GHOUALI	Examineur	Université AbouBekr Belkaid, Tlemcen, Algérie
Mme Giovanna CHIORINO	Examineur	Fondo edo Tempia-Biella, Italie
Mr Denis MESTIVIER	Invité	Université Paris 7, Institut Jacques Monod

Remerciements

Je ne pourrais commencer les remerciements sans rendre un grand hommage à mon directeur de thèse **Ovide Arino** qui nous a quitté le lundi 29 septembre 2003, à Bedelowo en Pologne. Je suis triste qu'il ne soit plus parmi nous pour lui exprimer ma profonde reconnaissance et gratitude. Je le remercie pour m'avoir donné la chance de travailler avec lui sur un sujet aussi passionnant, d'être toujours présent et prêt à aider ses étudiants même quand il était loin, d'être si bon et sensible, d'être compréhensif et surtout tolérant. Il nous a quitté trop tôt pour voir mon travail avec lui s'achever et lui dire "merci". Travailler sous la direction d'Ovide était une très belle expérience. J'ai appris avec lui le goût de la recherche et l'ouverture d'esprit sur plusieurs domaines scientifiques. Il a su orienter mes recherches en me faisant découvrir la biologie et la modélisation des phénomènes biologiques. Il a su me laisser libre de mes orientations tout en étant présent chaque fois que j'en ai eu besoin, que ce soit pour fournir une idée importante au moment où j'en manquais, que pour me rassurer quand les doutes m'assaillaient. Ovide était pour moi un être "humain" exceptionnel et un modèle scientifique. Je garde l'image de son sourire dans ma mémoire pour toute ma vie et je ne l'oublierai jamais.

Suite au décès d'Ovide, **Pierre Auger** a accepté gentiment de remplacer Ovide comme directeur de thèse et de la mener jusqu'à la soutenance. Je lui en suis très reconnaissante.

C'est pour moi un grand honneur que **Khashayar Pakdaman** et **Eva Sanchez** aient accepté de rapporter ma thèse. Je les en remercie sincèrement. **Bernard Cazelles** me fait un très grand honneur de présider le jury.

Je remercie **Noureddine Ghouali**, recteur de l'université de Tlemcen, de m'avoir donné la chance de rencontrer Ovide, en m'accordant un stage de recherche au moment où je préparais ma thèse de magistère sous sa direction. Si aujourd'hui je suis à GEODES, c'est grâce à lui. Je le remercie de m'avoir fait confiance et m'encourager à m'investir dans la recherche. Je remercie également tous mes collègues et amis de l'université de Tlemcen en particulier **Tayeb Benouaz** pour sa générosité.

Au début de cette thèse, j'ai eu la chance de connaître **Giovanna Chiorino**, grâce à qui j'ai plongé dans les bouquins de biologie pour pouvoir comprendre la cellule et ces mécanismes qui étaient si difficiles à comprendre pour une mathématicienne. Sa gentillesse, sa compréhension et sa bonté m'ont apporté beaucoup de réconfort et de courage. Grâce à elle, j'ai eu également l'honneur de connaître **Pablo Ubezio** à l'institut Mario Negri de Milan où j'ai pu assister à des expériences sur les cellules qui m'ont d'abord impressionnée, puis m'ont beaucoup aidé à m'approcher de la réalité de la cellule.

Je remercie toute l'équipe du CISD à Marrakech, en particulier **Hassan Hbid** pour ses critiques pertinentes et ses conseils constructifs. Malgré la distance qui rend inévitablement toute communication difficile, j'ai apprécié son soutien. Je lui témoigne ici toute mon amitié. Je remercie également **Khalil Ezzinbi**.

Je remercie sincèrement l'UR GEODES qui m'a accueillie pendant toute la durée de ma thèse. Malgré nos thématiques différentes, j'ai bénéficié de l'ouverture d'esprit de chacun des membres de l'unité. Je remercie en particulier **Gaston Pichon**, sans lequel mon séjour à GEODES n'aurait pas été aussi agréable. Merci de t'être intéressé à mes histoires de cellules, merci d'avoir corrigé mes fautes d'orthographe, merci pour ton humour et ton dynamisme, merci pour toutes tes taquineries, merci de m'avoir fait rire même quand je n'avais pas le moral. J'adresse également mes remerciements à **Edith Perrier** pour son aide et son soutien surtout après le décès d'Ovide et à **Alain Morlière**, le directeur du Centre IRD de Bondy, pour sa sympathie, sa modestie et son attention pour les étudiants de GEODES. J'adresse mes remerciements particuliers à **Chantal Bernard**, la spécialiste du web, de nous avoir gâté par ses gâteaux, sa bonne humeur et sa bonté de maman et à **Kathy Baumont** notre secrétaire pour son sourire, sa gentillesse et sa disponibilité. **Alexander Estacio** et moi avons partagé le même bureau, je le remercie pour avoir supporté mes humeurs de thésarde, pour m'encourager à aller jusqu'au bout de cette thèse, d'accepter de travailler avec moi et de m'avoir appris le java, d'échanger les idées sur tout et rien, sur nos deux pays respectifs et sur la France. C'était un vrai plaisir de le connaître. Je lui témoigne ici ma grande amitié.

Pendant ces années de thèse et bien avant, ma famille a été toujours présente. **Papa et Mama**, je ne serai jamais assez reconnaissante pour l'amour que vous me donnez, pour la confiance que vous avez toujours eu en moi. Merci de croire en moi et me laisser partir loin de vous pour réussir. Sans vous, ce travail n'aurait jamais vu le jour.

Un grand merci à mon mari **Hichem** pour sa gentillesse, ses encouragements et son soutien, d'être patient et toujours aussi fier de sa femme. **Wassila**, tu es une sœur exceptionnelle. Je ne connais pas une autre personne d'aussi généreuse que toi en bonté. Je te remercie pour toutes les fois où je n'avais pas le moral, où tu m'as

soutenue et m'as procuré du tonus. A mon frère **Nadir** qui a toujours été fier de sa sœur, qui m'a toujours poussée à aller jusqu'au bout et qui croit en moi.

Je remercie tous mes amis et mes cousins qui ont cru en moi surtout **Souhila et Ghomrassane**. Je n'oublierai pas également toutes les personnes qui étaient et restent toujours là pour moi depuis le début de mon arrivée en France, sur qui j'ai pu compter et m'ont aidé par leurs conseils avisés, leur écoute attentive, leur affection qui a comblé tout le vide que j'ai pu sentir loin de ma famille et leur protection qui m'a rassurée et m'a renforcée pour réussir dans un pays que je ne connaissais pas beaucoup. Je ne leur serai jamais assez reconnaissante.

Je ne terminerai pas mes remerciements sans avoir une pensée pour tous mes nombreux amis en Algérie, en France et au Maroc, que je ne peux tous citer de peur d'en oublier certains.

TABLE DES MATIERES

I	Contexte biologique et modélisation	7
1	Cycle cellulaire	9
1.1	Phases du cycle cellulaire	9
1.2	Cinétique du cycle cellulaire	11
1.2.1	Phase G1	11
1.2.2	Phase S	13
1.2.3	Phase G2	13
1.2.4	Phase M	13
1.2.5	Phase G0, quiescence et sénescence	14
1.2.6	Mort cellulaire	15
1.3	La régulation du cycle cellulaire	16
1.3.1	Interactions moléculaires	16
1.3.2	Les Cyclines et les Cyclin dependent kinases (CDK)	18
1.3.3	Les inhibiteurs des cdk	20
2	Modèle de la dynamique de population cellulaire	23
2.1	Micro-modèles	24

2.2	Macro-modèles de la prolifération cellulaire	27
II	Profil de la cycline E	31
3	Le timing des changements de la cycline E en G1	33
3.1	Introduction	33
3.2	Expérience et analyse des données	34
3.2.1	Marquage des cellules et Cytomètre en flux	35
3.2.2	Expérience	36
3.2.3	Pourcentage des cellules par la théorie de la croissance des populations asynchrones	38
3.2.4	Histogrammes de la cycline E	43
3.3	Interprétation des résultats	47
3.3.1	Changement du contenu de cyclineE dans la phase G1	47
3.3.2	Discussion	51
III	Modélisation mathématique: Cycle cellulaire-dynamique de population	55
4	Modèle mathématique de la phase G1 du cycle cellulaire	57
4.1	Introduction et historique	57
4.2	Une brève description des interactions moléculaires	60
4.3	Modèle mathématique: pRb-CycE/CDK2	64
4.3.1	Analyse mathématique	65

4.4	Modèle: pRb-CyclinE/CDK2-p27	68
4.4.1	Stabilité et bifurcation	71
4.4.2	Direction de bifurcation	73
4.5	Resultats numériques	82
4.6	Conclusion et remarques	87
4.7	Formulation mathématique des phases S, G2 et M	90
5	Couplage cycle cellulaire-dynamique de population	99
5.1	Introduction	99
5.2	Modèle couplé, cycle cellulaire - dynamique de population	101
5.2.1	Propriétés de la fonction T_c	103
5.2.2	Propriété de la fonction f	103
5.3	Etude de la solution	105
5.3.1	Solution du problème d'évolution	110
5.3.2	Semi-groupe d'opérateurs associés à (5.18)	111
5.3.3	Générateur infinitésimal	113
5.3.4	Propriétés du semi-groupe $T(t)$	118
5.4	Conclusion	128
IV	Modélisation informatique	129
6	Simulateur de la division cellulaire	131
6.1	Introduction	131
6.2	Modèle individus centrés (IBM)	132

6.3	Système multi-agents (SMA)	133
6.4	Le modèle du simulateur	135
6.4.1	Modélisation informatique des populations cellulaires	135
6.4.2	Modèle IBM	139
6.4.3	Algorithme du simulateur	143
6.4.4	L'interface graphique du simulateur	145
6.5	Résultats	148
6.5.1	dynamique de la population	148
6.6	Conclusion	152
V	Conclusion générale	155
VI	Outils Mathématiques	169
7	Rappels	171
7.1	Rappels sur les semi-groupes	171
7.1.1	Semi-groupe fortement continu	171
7.1.2	Problème de Cauchy	174
7.2	Bifurcation de Hopf	175
7.2.1	Bifurcation de Hopf pour les équations différentielles ordinaires	175
7.3	Variété centre	176

Introduction

Dans la hiérarchie de l'organisation biologique, la cellule représente le premier niveau capable de vie. Tous les organismes vivants se composent de cellules et toutes les cellules sont susceptibles de se diviser jusqu'à un certain nombre de générations. Les premières observations de la division cellulaire datent d'un siècle et demi. Virchow proposa son célèbre postulat "omni cellula e cellula" (toute cellule provient d'une cellule) en 1826 précédant de peu la description des phases de la division cellulaire par mitose publiée par Shneider en 1875. Ce n'est qu'un siècle plus tard, entre 1950 et 1960, que l'étude de la division cellulaire sort de sa léthargie. Aujourd'hui la description du vivant a atteint un degré de complexité inédit la rendant de plus en plus difficile à appréhender. La biologie des cellules est une science complexe qui a été étudiée pendant longtemps dans plusieurs laboratoires. Chaque jour elle est enrichie par des découvertes intéressantes qui s'ajoutent à sa complexité. Comprendre les phénomènes régissant le comportement des cellules (croissance, division, mort, migration...) est un élément essentiel pour prévoir le fonctionnement des cellules et leur dérèglement (tumeurs, cancer...) et permettre éventuellement de le réparer.

Quels sont les mécanismes essentiels dans le cycle cellulaire pour sa mise en marche et son arrêt? Quel est leur effet sur la population de cellules? Ce sont des questions très importantes pour comprendre l'évolution des maladies, notamment les cancers, au niveau moléculaire mais également au niveau de la population.

Donc, connecter le niveau micro (moléculaire) avec le niveau macro (population) s'appuyant sur l'expérimentation en utilisant la modélisation est une démarche prometteuse pour aborder la compréhension des comportements de cellules cancéreuses.

Il s'avère dorénavant envisageable de modéliser et de simuler des comportements bi-

ologiques en intégrant les différents niveaux de complexité qui les caractérisent : complexité des interactions moléculaires de la régulation de la prolifération cellulaire, complexité des relations cellules/cellules et complexité des relations structure/fonction dans un tissu. Il existe diverses méthodes pour approcher les phénomènes biologiques par des outils mathématiques. Ces méthodes se sont développées et améliorées au cours du vingtième siècle.

Ce travail comprend essentiellement la modélisation du cycle cellulaire et la dynamique de population des cellules. Plusieurs faits nous ont motivé à faire ce travail. En premier, nous avons remarqué que dans la littérature la plupart des modèles proposés sur le cycle cellulaire considèrent le cycle de division de la cellule comme "une répétition périodique de certains événements" [74]. Certes, ces modèles représentent des résultats mathématiques intéressants tels que le comportement de systèmes dynamiques complexes, les cycles limites, les bifurcations...en revanche les résultats mathématiques et la complexité des processus de régulation du cycle cellulaire ne sont pas forcément corrélés. C'est pour cette raison que le modèle du cycle cellulaire établi dans ce travail est basé sur une machinerie moléculaire restreinte à un seul cycle suivant des conditions initiales variables. L'une des difficultés est de parvenir à sélectionner dans le réseau intriqué des nombreuses réactions supposées ou avérées qui se déroulent au cours du cycle cellulaire un nombre suffisamment petit pour ne pas être très compliqué et ayant en même temps une action suffisante sur le cycle pour que les variations des substances engagées dans ces réactions puissent être liées aux étapes importantes du cycle. Le deuxième point est lié bien évidemment à notre intérêt à l'étude mathématique des modèles de prolifération cellulaire. En effet, la

plupart des modèles rencontrés dans la littérature exprimant l'évolution du cycle cellulaire sont étudiés uniquement par des simulations numériques et rarement par les outils mathématiques. Dans ce travail, l'étude des systèmes dynamiques du point de vue: stabilité, bifurcation, variété centre et semi-groupes sont les outils mathématiques principaux pour analyser les modèles proposés. Par ailleurs, une idée très peu développée nous a séduit qui consiste en le couplage d'un modèle du cycle cellulaire (cellule individuelle) avec un modèle de dynamique de population de cellules (population). En effet, ces deux types de modèles sont toujours considérés séparément. Certains modèles de population de cellules tiennent en compte l'âge de cellules et la quantité d'une certaine masse cellulaire mais les évènements déclenchant le cycle cellulaire et la prolifération des cellules ne sont pas considérés. Une démarche proche a été présentée dans [104]. A cela s'ajoute un autre objectif qui a été introduit dans notre travail: il s'agit de la modélisation informatique par un modèle individu centré de la croissance et la division cellulaire. Le problème clé de cette modélisation peut être exprimé avec les deux questions suivantes: Comment étudier et comprendre un organisme cellulaire qui fonctionne en tant qu'entité, à partir des caractéristiques de ses cellules constitutives ? Comment utiliser et intégrer les connaissances acquises à une échelle (atomique, moléculaire), pour améliorer la connaissance et la compréhension des échelles supérieures (cellules, tissus, organes, organismes), et vice versa?

En récapitulatif, ce travail s'articule autour des parties principales suivantes: Analyse de données, modélisation du cycle cellulaire, couplage du modèle cycle cellulaire-modèle de dynamique de population et finalement le comportement de la population cellulaire à partir d'un modèle individu centré. La première partie est divisée en deux

chapitres préliminaires. Dans le premier nous présentons le contexte biologique de notre étude. Nous décrivons les différentes phases du cycle cellulaire et les interactions moléculaires impliquées dans le cycle. Le deuxième comprend les ingrédients nécessaires pour la modélisation. Nous présentons les différentes façons de modéliser le cycle cellulaire (micro-modèles) et la dynamique de populations cellulaires (macro-modèles). En général, les modèles du cycle cellulaire sont donnés par un système d'équations différentielles (EDO) non linéaires. Par contre les modèles de dynamique de population sont souvent structurés en âge ou en une autre variable caractérisant les cellules et donc ils sont présentés sous forme d'un système d'équations aux dérivées partielles (EDP). Le troisième chapitre (deuxième partie) est un travail qui a été publié dans le journal (*experimental cell research*). Nous donnons un profil de la cycline E (protéine nécessaire pour la progression du cycle cellulaire) durant la première phase du cycle cellulaire, en utilisant une méthode d'analyse appelée analyse triparamétrique par cytomètre en flux (appareil d'analyse cellulaire) et la théorie des populations cellulaires asynchrones. En se basant sur la méthode d'optimisation des moindres carrés appliquée sur les données expérimentales recueillies, nous avons réussi à représenter les changements au cours du cycle cellulaire, notamment la phase G1, de la cycline E. La troisième partie comporte le quatrième et le cinquième chapitre. Cette partie s'intéresse à la modélisation mathématique et étude des modèles. Le quatrième chapitre concerne la modélisation mathématique de la phase G1 du cycle cellulaire. Le modèle est donné par un système de quatre équations différentielles ordinaires non linéaires et les variables représentent des protéines essentielles pour la transition de la phase G1 à la phase S. Nous avons également présenté l'étude de

ce modèle (stabilité et bifurcation de la solution) et les interprétations biologiques correspondantes aux résultats obtenus. Le cinquième chapitre est une approche qui consiste en le couplage du modèle du cycle cellulaire avec un modèle simple de la dynamique de population cellulaire. Nous considérons que la variable du modèle du cycle cellulaire représente une variable de structuration du modèle de la dynamique de population. Un problème d'évolution est posé et l'étude de ce problème nécessite l'utilisation de la théorie des semi-groupes et leurs propriétés spectrales. La dernière partie (chapitre six) propose une expérience virtuelle, par simulation informatique, de la croissance et la division cellulaire, prenant en considération le déplacement et l'organisation spatiaux des cellules et le développement de la taille des cellules en fonction de leurs nutriments. Dans ce chapitre nous avons utilisé l'approche du modèle informatique Bacsim [55] appliqué sur la dynamique des bactéries (E-coli). Le modèle nous a permis de tirer des conclusions sur la dynamique de la population cellulaire à partir du modèle individu centré de la cellule. La dernière partie s'attache à proposer la conclusion que l'on peut tirer de ce travail et enfin le dernier chapitre nous donne les outils mathématiques qui sont utilisés dans ce travail.

Partie I

Contexte biologique et modélisation

Chapitre 1

Cycle cellulaire

1.1 Phases du cycle cellulaire

Tous les organismes sont constitués de cellules qui se multiplient par division cellulaire. Un adulte humain a environ 100.000 milliards de cellules toutes originaires d'une même cellule, la cellule oeuf fertilisée. Dans l'organisme adulte, on trouve une quantité énorme de cellules qui sont en division continue. Le rôle principal de la division cellulaire est de permettre le remplacement des cellules mortes (renouvellement) ou perdues par accident (régénération, cicatrisation) pour assurer un nombre de cellules fonctionnelles constant.

Le concept de "cycle" cellulaire découle des travaux de Howard et Pelc [46] Ils ont découvert que l'ADN était synthétisé durant une période limitée de la vie de la cellule, que l'intervalle entre la phase de synthèse de l'ADN était une phase de durée plutôt longue et que l'intervalle entre la phase de synthèse de l'ADN et la mitose était plutôt une phase courte. Ils ont démontré ainsi que les processus de division cellulaire et de

la duplication des chromosomes étaient dissociés.

Sous l'influence des facteurs de croissance, la cellule reçoit le signal de se diviser.

Avant qu'une cellule puisse se diviser, il faut qu'elle grandisse jusqu'à une certaine taille, qu'elle duplique ses chromosomes et qu'elle sépare ses chromosomes avec une distribution exacte entre les deux cellules filles. Tous ces processus sont coordonnés durant le cycle cellulaire. Un dérèglement du cycle cellulaire conduit en général à une tumeur. Une des conséquences d'un dérèglement du cycle est le cancer qui correspond à un excès de production de cellules. Comprendre son fonctionnement implique une analyse profonde du cycle afin de pouvoir trouver des traitements anticancéreux.

Les cellules se divisent suivant un cycle qui comporte deux parties: la division cellulaire proprement dite (mitose) et la période de croissance qui sépare deux divisions successives (l'interphase).

L'interphase comprend trois phases :

Phase de croissance initiale: phase G1 (G vient du mot anglais gap qui veut dire une partie non distincte du cycle).

Phase de réplication ou de la synthèse de l'ADN: phase S.

Deuxième phase de croissance: phase G2 (pour gap2) qui vient juste avant la mitose.

Finalement la phase M ou mitose aboutira à la division de deux nouvelles cellules.

Une cellule qui ne se divise pas (cellule quiescente) se maintient en une phase appelée G0. Il arrive que des cellules quiescentes entrent en division mais parfois se multiplient à un rythme anormalement élevé. C'est le cas des cellules normales lorsqu'elles forment une cicatrice ou des cellules cancéreuses.

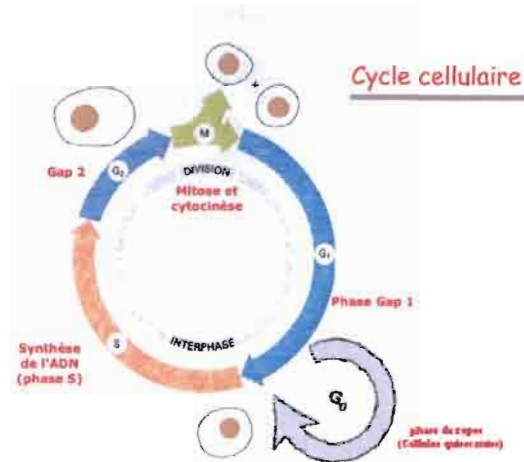


Figure 1.1: Schéma du cycle cellulaire

1.2 Cinétique du cycle cellulaire

Les durées du cycle cellulaire varient d'un type cellulaire à l'autre (chez l'homme il existe plus de 200 types cellulaires) et d'une espèce à une autre. Chez la plupart des cellules de mammifères cela dure entre 10 et 30 heures.

Dans un même type cellulaire et pour une même espèce les durées du cycle peuvent également être très variables et cela est dû au fait de la variabilité de la phase G₁. Néanmoins les phases S et G₂ ont des durées constantes.

1.2.1 Phase G₁

Durant la première phase, la cellule croît et devient plus large. La phase G₁ a une durée variable d'une cellule à une autre en fonction de la nature de la cellule. Sa durée diminue considérablement pour les cellules cancéreuses.

Au début de la phase G₁, les cellules viennent de se diviser: elles possèdent donc un faible volume cytoplasmique. Au cours de cette phase, la réplication de l'ADN ne

Tab. 2. Durées des phases du cycle cellulaire *in vitro* et *in vivo* de quelques types cellulaires différents (d'après Baserga 85 p18 et Wright *et al.* 84 p433). La phase M est généralement considérée comme possédant une durée fixe de 1 à 3 heures suivant les espèces.

Type cellulaire	Durée du cycle cellulaire (h)	Durée des phases du cycle cellulaire (h)		
		G ₁	S	G ₂ /M
<i>In vitro</i>				
Fibroblastes humains	18	6.5	7.5	4.0
HeLa S3	21	8.0	9.5	3.5
3T3	19	8.0	7.0	4.0
<i>In vivo</i>				
Homme				
Epithélium de Colon	25	9	14	2
Epithélium rectal	48	33	10	5
Epithélium stomacal	24	9	12	3
Cellules de la moelle osseuse	18	2	12	4
Carcinome des cellules basales	67	36	19	12
Carcinome épidermoïde	24	9	11	4
Souris				
Epithélium de Colon	19	9	8	2
Cellules des alvéoles pulmonaires	71	45	22	4

Figure 1.2: Durées des phases du cycle cellulaire

se produit pas mais le volume cytoplasmique de la cellule augmente par rapport au volume du noyau : ceci permet de repérer le moment où la cellule entre dans la phase S.

La cellule a besoin d'un activateur pour passer de la phase G₁ à la phase S et elle doit franchir un stade irréversible pour entrer en phase S. Si la cellule reste bloquée trop longtemps en phase G₁, elle sort du cycle cellulaire et entre dans la phase G₀. Dès qu'une cellule passe de la phase G₁, elle parcourt les phases S, G₂ et M, en dépit des conditions de l'environnement.

En effet, il existe un point de non-retour, point de restriction appelé point (R) au-delà duquel les cellules entrent obligatoirement dans cette succession de phases quelles que soient les conditions du milieu. Ce point de non-retour découvert chez les levures en

culture [101] existe aussi chez les cellules eucaryotes. Il se situe à un stade tardif de la phase G1 et donc en ce point de contrôle, la cellule choisit de continuer le cycle et se proliférer, d'attendre et rentrer dans une phase de repos ou de se différencier.

1.2.2 Phase S

Elle démarre lorsque le rapport en volume entre le cytoplasme et le noyau est particulier. Il y a alors l'activation de la transcription des gènes qui impliquent la synthèse des enzymes de synthèse de l'A.D.N. Sa durée, peu variable, est principalement dépendante de la quantité d'ADN à répliquer et du nombre de sites de réplication actifs en parallèle.

La phase S dure environ 8h.

1.2.3 Phase G2

Les cellules en phase G2 contiennent une quantité d'ADN double due à la synthèse d'ADN pendant la phase S. Cette phase est en général très courte, parfois même inexistante. Durant la phase G2, la cellule contrôle si la réplication de l'ADN a bien été réalisée (réparation post-réplivative) et prépare la division cellulaire. Il s'agit d'une phase de sécurité au cours de laquelle la cellule a le temps de réparer d'éventuelles erreurs commises lors de la réplication de son ADN. Le déclenchement de la mitose en fin de G2 est marqué par la phosphorylation de nombreuses protéines.

La phase G2 dure 2 à 3 heures.

1.2.4 Phase M

La mitose représente le partage égal du matériel héréditaire entre les deux cellules filles issues d'une division. Elle comporte quatre étapes : prophase, métaphase, anaphase,

télophase.

La prophase: c'est une phase de préparation de la mitose qui consiste en la formation du fuseau de division bipolaire, la condensation de la chromatine et la disparition du ou des nucléoles.

La prométaphase: correspond à la mise en place dans la cellule de l'appareil de division et de la fragmentation de l'enveloppe nucléaire.

La métaphase: c'est une phase d'équilibre. Tous les centromères des chromosomes sont alignés à l'équateur du fuseau.

L'anaphase: correspond au clivage centromérique avec ascension des chromatides vers les pôles opposés.

La télophase: cette phase correspond à la séparation des deux lots chromosomiques répartis entre les deux cellules filles.

La cytokynèse: correspond à la division du cytoplasme et la séparation des deux cellules filles avec l'apparition d'un sillon de division à l'équateur de la cellule.

La mitose dure environ 1 heure.

1.2.5 Phase G₀, quiescence et sénescence

En absence des signaux proliférative, les cellules ne passent pas le point de départ et restent dans la phase G₁. A un certain moment, les cellules décident de ne plus rester en G₁ parce elles meurent en restant trop longtemps dans cette phase et donc elles entrent dans la phase G₀ et deviennent quiescentes. Les cellules en G₀ ont vraiment quitté le cycle cellulaire et les remettre en route prendra beaucoup de temps. Pour le redémarrage d'un cycle, les cellules quiescentes passent par une phase de compétence

avant d'entrer en phase G1.

En G0, les cellules sont dans un état réversible où il existe peu de synthèse protéique et de transport membranaire. C'est le cas des cellules souches hématopoïétiques ou des cellules en cultures. Ces dernières, en effet, lorsqu'elles tapissent la boîte de culture, s'arrêtent mais si on en les remet dans une autre boîte plus grande et avec un milieu favorable alors elles redémarrent le cycle cellulaire.

1.2.6 Mort cellulaire

Dans des conditions favorables à la croissance, les cellules en culture se dédoublent régulièrement, mais après un nombre déterminé de divisions (au maximum 40), elles deviennent sénescents, elles atteignent une phase où elles arrêtent de proliférer. Les cellules entrent en G0, d'où elles ne ressortiront jamais, malgré la présence de fortes concentrations de signaux prolifératifs. De ce fait, le nombre de divisions en culture est dépendant de l'âge de l'organisme d'où les cellules proviennent, par exemple les fibroblastes en provenance d'un nouveau-né se diviseront 40 fois en moyenne, alors que les fibroblastes d'un adulte de 50 ans n'effectueront que 20 divisions lorsqu'elles seront mises en culture. Cela indique que les cellules normales sont pré-programmées pour une série limitée de divisions. Par ailleurs, la mort de la cellule peut avoir deux formes: apoptose ou nécrose.

L'apoptose (mort programmée) apparaît sous des conditions physiologiques normales et la cellule participe à sa propre mort: c'est le suicide cellulaire. Ce suicide peut se produire dans n'importe quelle étape du cycle, aussi bien dans la phase de prolifération que dans la phase de repos. La cellule apoptotique se fragmente en plusieurs petits

sacs étanches qui sont absorbés et éliminés par les cellules environnantes ce qui ne cause aucun dégât. L'autre forme de mort cellulaire est la nécrose. Ce n'est pas une mort programmée. La nécrose survient accidentellement lorsque la cellule est malmenée, par exemple lors de brûlures ou de fortes compressions. La cellule meurt alors en éclatant. Son contenu se retrouve dans le milieu environnant et provoque une réaction inflammatoire. La nécrose se compare ainsi à l'explosion d'un édifice: il y a des dommages aux bâtiments voisins (les autres cellules), un ménage et des réparations sont nécessaires.

1.3 La régulation du cycle cellulaire

Il était connu plus de cent ans que les cellules se multiplient par division. C'est pourtant au cours des vingt dernières années qu'il est devenu possible d'identifier les mécanismes et les molécules qui régulent le cycle et la division cellulaires. La connaissance de ces molécules permet de mieux comprendre les mécanismes de cancérisation.

1.3.1 Interactions moléculaires

Le contrôle biologique du cycle cellulaire a fait l'objet de travaux récompensés par un prix Nobel de médecine en 2001 [44]. Les travaux de Liebermann et al. [62], suggérant l'existence d'une série de réactions biochimiques contrôlant le cycle cellulaire, ont fait des émules et depuis le début des années 1970, les recherches se sont orientées vers la compréhension du contrôle moléculaire du cycle cellulaire. Ces recherches sur la régulation du cycle cellulaire pourraient aider à développer de nouveaux traitements pour soigner les cancers et les tumeurs.

La machine du contrôle du cycle cellulaire eucaryote est composée de protéines qui sont activées dans un ordre précis et qui déclenchent l'initialisation d'événement spécifiques, comme la réplication de l'ADN, la destruction de l'enveloppe nucléaire, la formation des fuseaux achromatiques et la ségrégation chromosomique. A partir des années 1980 les interactions biochimiques entre un nombre de plus en plus grand de molécules ont été détaillées. On trouve des protéines de la famille poches (pocket proteins: pRb, p107...), des cyclines (D, E, A, B), des kinases dépendantes de cyclines (CDK), des protéines inhibitrices de CDK (CKI), des facteurs de croissances (famille des E2Fs), des facteurs de traduction, les gènes eux mêmes...[39]. Il est très difficile d'associer une fonction à chacune des protéines découvertes actuellement est de la replacer dans son contexte et de nouveaux outils comme les puces à ADN permettent déjà de prévoir une augmentation encore plus importante des données disponibles. Certains mécanismes centraux du contrôle du cycle cellulaire n'ont été élucidés que très récemment, comme le rôle de la protéine du Rétinoblastome (son nom vient du nom d'un cancer particulier le rétinoblastome, à propos duquel elle a été découverte) [18] ou les principes moléculaires de la régulation des kinases dépendantes de cyclines (CDK) [70].

Les complexes formés des protéines poches (tel que le Rétinoblastome) et des facteurs de la famille E2F sont responsables du contrôle direct de l'expression des gènes régulateurs ou structuraux nécessaires à la prolifération et/ou différenciation et leur activité est régulée par les complexes cycline-kinase. Chaque complexe protéique est composé d'une protéine régulatrice (la cycline) et d'une protéine catalytique (Cyclin dependent kinase, CDK).

C'est principalement la formation, l'activation et la destruction de la cycline qui régule l'activité de ces complexes. Les complexes Cycline-CDK possèdent des inhibiteurs spécifiques dont l'action se situe avant ou après l'association des deux protéines.

1.3.2 Les Cyclines et les Cyclin dependent kinases (CDK)

Chez les eucaryotes supérieurs, il existe de nombreuses CDK qui sont impliquées dans le contrôle des divers processus cellulaires comme le passage des points de contrôle du cycle cellulaire, la réplication d'ADN, la mitose, la migration des chromosomes... Chaque CDK est capable de s'associer à une ou plusieurs cyclines pour former des complexes actifs lors des différentes phases du cycle cellulaire.

Contrairement aux CDK, dont les niveaux restent pratiquement constants durant les phases du cycle cellulaire les cyclines sont synthétisées et dégradées [16]. Elles sont synthétisées à des moments différents du cycle cellulaire, se lient à des kinases spécifiques et permettent ainsi la progression du cycle cellulaire. Elles sont dégradées de façon abrupte lors de la fin de leur activité.

Le début du cycle coïncide avec la production, la stabilisation et l'activation de la cycline D. Les taux de cycline D restent élevés et ne diminuent qu'après la mitose. La Cycline D, ligand de la CDK4/6, est présente dans des cellules normales durant la phase G1[24] et sa surexpression accélère la phase G1 [63]. Elle n'est pas observée chez les cellules au repos et des modifications de sa structure sont observées dans les cellules cancéreuses. L'activation de la cycline E suit l'activation du complexe cyclineD/CDK4. Cette dernière s'associe à la CDK2 et est exprimée durant la fin de la phase G1. Par ailleurs, le principal but des cyclines de la phase G1 est d'inactiver

la protéine de Rétinoblastome. Dans les cellules au repos (phase G0) et au début de la phase G1, la protéine pRb est liée au facteur de transcription nucléaire appelé E2F, nécessaire à l'initiation de la phase S. Au début du cycle cellulaire, la pRb hypophosphorylée (active) séquestre E2F et durant la phase G1 et sous l'effet des complexes Cycline/CDK de la phase G1, elle devient hyperphosphorylée (inactive) et libère le facteur E2F permettant les transcriptions d'un grand nombre de gènes. En particulier, au début de la phase G1, ce sont les complexes Cycline D/CDK qui commencent la phosphorylation de pRb et ensuite vers la fin de la phase G1, le CyclineE/CDK2 phosphoryle entièrement la pRb et ainsi le facteur de transcription E2F est libéré (voir Figure 1.4). Le facteur de transcription E2F stimule entre autres la transcription des cyclines E et A. D'une manière générale, les cyclines favorisent l'expression des cyclines de la phase suivante, répriment l'expression ou favorisent la dégradation des cyclines de la phase précédente. La cycline A appelée également "cycline mitotique" s'associe à une kinase et forme le complexe CyclineA/CDK2 dont l'expression coïncide avec l'entrée à la phase S. La quantité maximum de CyclineA/CDK2 correspond au début de la réplication de l'ADN [81]. Le complexe Cycline A/CDK2 agit avec le E2F pour réguler les gènes nécessaires pour la réplication de l'ADN [24]. Finalement après la réplication de l'ADN, le complexe CyclineB/CDK1 (appelé aussi MPF pour "maturation promoting factor") est impliqué dans le contrôle de la mitose. Ce complexe permet à la cellule la progression du cycle notamment la transition de G2/M. Ce complexe est également nécessaire pour l'initialisation de la prophase et ensuite l'anaphase. La dégradation de la cycline B est nécessaire pour permettre à la cellule de sortir de la mitose.

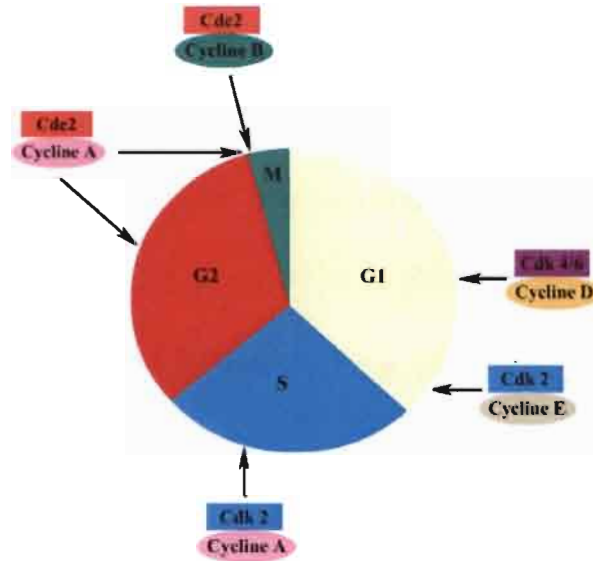


Figure 1.3: Principaux complexes cyclines/CDK impliqués dans le cycle cellulaire

1.3.3 Les inhibiteurs des cdk

Un autre niveau de la régulation des complexes Cyclines/CDK est les CKI (Cyclin dependent kinase inhibitor). Les CKI inhibent l'activité des Complexes Cycline/CDK.

Les CKI se répartissent dans deux familles: les INK4 et les KIP/CIP.

Les membres de la famille des INK4 (p15, p16, p18 et p19) ont été découverts comme des protéines qui se lient à CDK4 et CDK6. Ce qui va empêcher ces dernières leur association avec la Cycline D. Les INK4 sont bien décrits comme suppresseurs de tumeurs. Ils sont fréquemment mutés dans de nombreux cancers. Les p15 et p16 sont considérés comme des compétiteurs de la cycline D et prennent sa place pour former les complexes: p15-CDK4/6 ou p16-CDK4/6 [43]. Il n'existe aucune évidence expérimentale du recyclage des CDK4/6 après leur liaison avec les INK4. Ces inhibiteurs pourraient donc servir de corbeille pour CDK4/6.

La famille des KIP/CIP comprend trois membres (p21, p27, p57). Il s'agit d'un en-

semble de protéines inhibitrices des cdk de la phase G1 qui se lient aux complexes cyclines/CDK déjà formés mais c'est pour les complexes cyclineE/CDK2 qu'elles ont la plus grande affinité [89]. La protéine p21 est stimulée par le p53, en réponse à une atteinte de l'ADN. Elle a un effet inhibiteur sur la liaison Cycline E /cdk2.

Dans notre travail, on s'intéresse particulièrement à l'inhibiteur de kinase p27. Le p27 a été identifié comme un inhibiteur de prolifération dans les cellules traitées au TGF β [82]. In vitro, la quantité de p27 exprimée dans les cellules en prolifération contribue à la longueur de G1. Plus la quantité du p27 est importante, plus la phase G1 est longue et l'absence de p27 rend les cellules insensibles aux facteurs anti-mitogènes en fin de phase G1 [21]. Les interactions de p27 et du complexe Cycline E/CDK2 sont de deux types:

- (1) association forte à Cycline E/CDK2 (formation du complexe Cycline E/CDK2/p27) et inhibition de Cycline E/CDK2 [88].
- (2) phosphorylation de p27 lié à Cycline E/CDK2 par le Cycline E/CDK2. Ce qui l'empêchera de se relier au complexe Cycline E/CDK2 et entraînant sa dégradation plus tard en phase G1 [79].

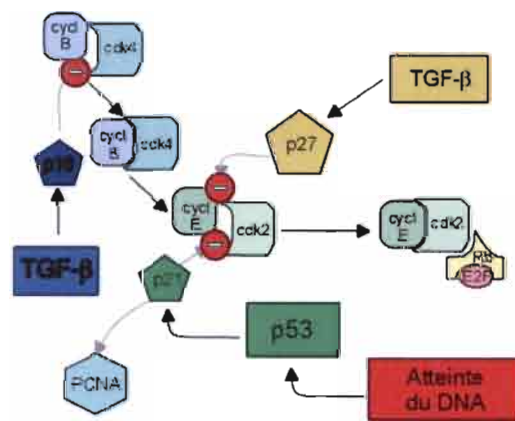


Figure 1.4: Interactions moléculaires de la phase G1

Chapitre 2

Modèle de la dynamique de population cellulaire

Toute démarche expérimentale vise à accroître la connaissance par l'observation et/ou la mesure.

L'expérimentation nourrit le modèle qui nourrit à son tour l'expérimentation afin d'améliorer le paradigme en cours ou d'en proposer un nouveau plus conforme aux données expérimentales et/ou aux suggestions émanant du modèle.

Les progrès récents de la compréhension des mécanismes biochimiques de régulation de la prolifération ont rendu indispensable le développement d'outils de modélisation de la complexité de ces réseaux de régulation.

De très nombreux modèles mathématiques ont été réalisés sur la croissance de populations cellulaires, en cultures, dans les tissus en général et les tissus cancéreux en particulier. Plutôt que de distinguer ces modèles suivant leur nature (modèles déterministes, modèles stochastiques, modèles compartimentaux, modèles à bases d'automates

cellulaires, modèles logiques ou Bayésiens, etc.), ou suivant les systèmes biologiques qu'ils abordent (cellules eucaryotes inférieurs ou eucaryotes supérieurs, normales, embryonnaires ou cancéreuses), nous distinguons les macro-modèles des micro-modèles comme le suggère Kholodenko [50]. Les micro-modèles, plus récents, détaillent les mécanismes biochimiques à la base des régulations biologiques ou physiologiques alors que les macro-modèles s'encombrent moins de détails et proposent un regard plus phénoménologique de ces mécanismes (exp: caractérisation de la dynamique d'une population).

2.1 Micro-modèles

Grâce aux progrès de la biologie moléculaire, le réseau très complexe de contrôle du cycle cellulaire comporte des interactions moléculaires chaque jour plus nombreuses, découvrant de nouvelles boucles de régulation positives ou négatives et donc, du point de vue de la modélisation, une augmentation des possibilités de comportements non linéaires. Les micro-modèles ont suivi de très près l'évolution récente des connaissances en biologie moléculaire.

Parvenir à des consensus de formalisation de la biologie moléculaire est une nécessité. Si l'intérêt pour le biologiste est évident : disposer d'un langage commun de description de la réalité, il l'est encore plus pour le modélisateur disposer du langage le plus explicite et optimal pour développer les modèles de la réalité les plus simples et précis. De nombreux formalismes ont déjà été proposés. Certaines approches étant manuelles et d'autres automatisées, liées à la construction de bases de données.

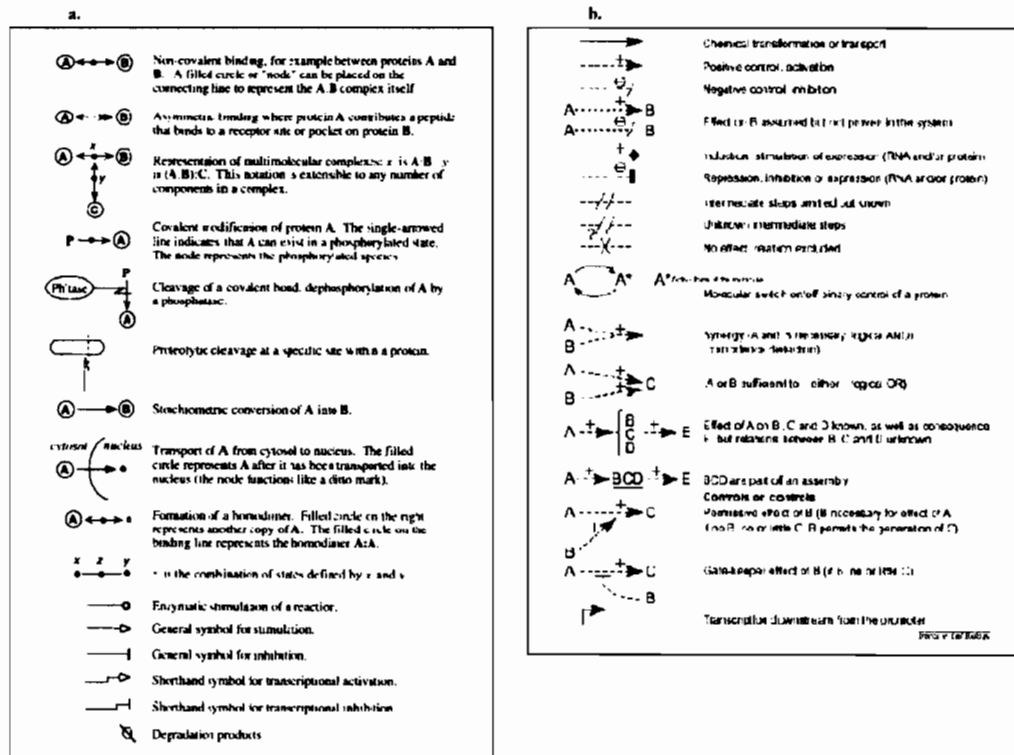


Figure 2.1: Quelques représentations des interactions moléculaires

Tout d'abord les biologistes ont commencé par faire des représentations des protéines, des enzymes... et leur interactions [1] [90] mais le manque d'unicité de ces représentations, avec les difficultés de compréhension lors du passage de l'une à l'autre a poussé d'autres auteurs à proposer des notations plus formelles. Certaines sont destinées aux systèmes biochimiques de types enzymatiques [107], d'autres aux interactions moléculaires en générale [54] (voir Figure 2.1).

Novak et Tyson [74] [98] [100] [100] [101] ont développé des modèles mathématiques de contrôle du cycle cellulaire des eucaryotes simples unicellulaires. Cette étude au long terme (8 ans entre leur premier et leur dernier papier) s'attache à décrire la

dynamique des mécanismes de contrôle de la prolifération de levures. La dernière version du modèle a permis de décrire avec le meilleur rapport précision/simplicité le rôle des protéines Cycline B, CDK, CKI, cdc20, Cdh1 et APC qui sont l'équivalent chez les eucaryotes inférieurs des protéines de contrôle de la prolifération cellulaire. Malheureusement, ce modèle est basé sur des hypothèses qui ne sont pas transposables dans le cas de cellules d'eucaryotes supérieurs unicellulaires considérés comme des membres d'un organisme.

La découverte de nouvelles molécules a entraîné la construction de modèles plus complexes, intégrant de plus en plus de cyclines et de kinases [76] [75]. Dès lors que le nombre de molécules impliquées dans le modèle est grand et que certaines molécules, plus particulièrement les enzymes, sont impliquées dans plusieurs réactions à la fois, ou lorsque plusieurs isoformes possèdent des fonctions partiellement redondantes, il est possible de parler de réseaux de réactions [109].

Faute d'outils suffisamment performants pour identifier l'ensemble des paramètres nécessaires à la construction de réseaux biochimiques réalistes et manque de données expérimentales la plupart des modèles de réseaux de réactions ont utilisé le découpage des modèles en sous-systèmes [1] [109] [99] [101] [53]. Le comportement du modèle dans son ensemble ne serait alors plus dépendant du choix de chacun de ses paramètres mais plutôt de l'équilibre entre ses sous-systèmes.

L'enthousiasme actuel dans le domaine des micro-modèles laisse supposer qu'ils fournissent la matière à la découverte d'outils performants de gestion de la complexité en biologie. Pourtant, la plupart des micro-modèles sont peu évolutifs et donc rapidement périmés par des résultats expérimentaux apportant sans cesse de nouvelles

connaissances. Paradoxalement, cette richesse cache une inadéquation entre modèles et données, condamnant les modèles à des objets théoriques et les données à une accumulation désordonnée. Ces modèles possèdent pourtant un potentiel impressionnant. Lorsque les données provenant des approches expérimentales à grande échelle à la fois dans le domaine de la génomique et dans celui de la protéomique seront quantifiées avec suffisamment de confiance ces modèles seront là pour accueillir toutes ces informations et fournir un outil d'analyse prospectif puissant.

2.2 Macro-modèles de la prolifération cellulaire

Les macro-modèles de la prolifération cellulaire sont pour la plupart des modèles mixtes dits compartimentaux. Ce type de démarche est généralement basé sur le découpage du cycle cellulaire en phases distinctes. Chronologiquement, ils correspondent à l'avènement de la cytométrie en flux au début des années 1980 qui permit de distinguer facilement les phases du cycle cellulaire suivant, notamment, le contenu en ADN des cellules.

Suivant les modèles, les compartiments ont été défini comme des phases du cycle cellulaire soit explicitement (G1, S, G2, M, etc) soit implicitement (phase de prolifération active, phase de quiescence, état d'inhibition active, etc). Par ailleurs, il existe différentes formulations des modèles de dynamique de population cellulaire : certains tiennent compte de l'âge des cellules, d'autres de leur maturité, ou encore de leur taille.

Tout dépend en fait de l'étude du type de population cellulaire que l'on effectue.

D'autre part, certaines maladies comme le développement incontrôlé de cellules dans le cas du cancer, ou bien l'attaque massive d'une population cellulaire par des virus comme le SIDA, engendrent des comportements complètement différents suivant les cas de figure.

Au niveau individuel, les cellules se distinguent par leur âge, leur taille, leur maturité, leur état (proliférant ou quiescent), et d'autres propriétés physiques. La structure de la population par rapport à ces traits caractéristiques influence alors l'extinction, la croissance, la stabilisation, les oscillations ou d'autres comportements de la population totale. Ces modèles structurés de populations cellulaires sont en général des équations aux dérivées partielles dans lesquelles les variables sont le temps, et les différentes variables caractérisant la cellule.

Le premier papier traitant de la dynamique de population cellulaire semble être dû à Bell et Anderson en 1967 [12]. Quelques auteurs apportent une contribution dans ces années là, comme Fredrickson et al. [33] la même année, ainsi que Sinko et al. en 1967 [91], et Painter en 1968 [78]. Dans les années soixante-dix Miyata et al. montrent que certains modèles théoriques structurés en taille correspondent bien avec les données biologiques expérimentales.

Un nombre d'ouvrages parmi lesquels Webb [108], Metz et Diekmann [65], Lasota et Mackey [58], illustrent le développement rapide du sujet. Pendant les années quatre-vingt-dix, l'intérêt pour ces modèles continue de s'accroître, et la liste de publications d'articles et d'ouvrages traitant de ce sujet s'allonge considérablement.

Une large classification des modèles de population de cellules peut être faite, selon la variable de structure choisie:

- Modèle structuré en âge, dans lesquels l'âge des cellules est la variable de structure à la population. Dans ce cas-ci, l'âge se développe avec la même vitesse chronologique que le temps et il est égal à zéro à chaque début du cycle cellulaire (juste après la mitose) et habituellement ne dépasse pas une certaine valeur puisque le cycle a une durée maximum.

- Modèle de type simple, où on suppose que la masse de la cellule ou son volume ou son contenu en ARN ou une autre protéine est considéré comme une variable de structuration et donc on a un modèle du type

$$\frac{\partial}{\partial t} p(x, t) + \frac{\partial}{\partial x} (\underbrace{g(x)}_{\substack{\text{comportement} \\ \text{individuel}}} p(x, t)) = \underbrace{B(x, t)}_{\substack{\text{terme de naissance} \\ \text{par division}}} - \underbrace{D(x, t)}_{\text{terme de mortalité}}$$

$$\frac{dx}{dt} = g(x)$$

- Modèle de type double avec deux compartiments (prolifération et quiescence), des probabilités de transition sont habituellement données pour modéliser le fait que les cellules peuvent commuter d'un type à l'autre. Un tel modèle a été d'abord développé et analysé par Gyllenberg et Webb [42] qui étaient motivés par l'étude des tumeurs.

- Modèle à compartiments où le modèle est divisé en sous-cycles. La transition d'un compartiment à un autre doit être indiquée comme étant une condition au bord

du modèle.

$$\left\{ \begin{array}{l} \frac{\partial}{\partial t} p(a, t) + \frac{\partial}{\partial a} p(a, t) = - \left(y(a) + v_p(a) + \underbrace{\lambda_p(a)}_{\text{mortalité}} \right) p(a, t) \\ \quad + \underbrace{v_q(a) q(a, t)}_{\text{passage à la quiescence}} \quad \text{prolifération} \\ \frac{\partial}{\partial t} q(a, t) = - \left(v_q(a) + \underbrace{\lambda_q(a)}_{\text{mortalité}} \right) q(a, t) + \underbrace{v_p(a) p(a, t)}_{\text{passage à la prolifération}} \quad \text{quiescence.} \end{array} \right.$$

- Modèle de génération de cellules, où la variable de temps est le nombre de générations $n \in N$. Les cellules à la 0^{ème} génération sont les cellules d'ancêtres et la suite du nombre de cellules dans chaque génération forme une chaîne de Markov. Pour chaque nombre n , on associe une fonction de densité de probabilité obtenue en comptant les cellules produites par n divisions successives commençant par les cellules d'ancêtres et calculant la proportion de ces cellules pour chaque taille.

Or, les connaissances actuelles de la régulation de la prolifération et de la différenciation montrent que le nombre de molécules (protéines, gènes,) et de réactions impliquées dans cette régulation est immense. Si les macro-modèles peuvent se montrer efficaces dans un rôle descriptif, ils ne peuvent pas rendre compte de cette complexité. Ils sont trop réducteurs car basés sur des hypothèses trop simplificatrices.

Partie II

Profil de la cycline E

Chapitre 3

Le timing des changements de la cycline E en G1

3.1 Introduction

Un des défis de la recherche du cycle cellulaire est de modéliser des relations et des interactions moléculaires durant la progression du cycle cellulaire. Plusieurs travaux ont été déjà fait sur le cycle cellulaire identifiant les molécules et leurs interactions possibles dans le cycle. En revanche peu de biologistes ont essayé de mesurer les changement et l'évolution de leur quantité durant la progression du cycle cellulaire. Une des raisons est la difficulté de dépister les évènements moléculaires par rapport à la position du cycle cellulaire.

Les cellules humaines normales non quiescentes et tumorales prennent en général plusieurs heures pour accomplir les tâches exigées dans la phase G1 (habituellement pas moins de 8 h), plusieurs heures pour reproduire leur ADN (8-12h) et deux phases

assez courtes G2 et M. Maintenant que nous connaissons l'identité de la plupart des molécules impliquées, nous devons mesurer les changements de leurs quantités pendant la progression du cycle et les mettre dans l'ordre. Ces données sont très importantes pour construire des modèles quantitatifs du cycle cellulaire.

Jusqu'ici de telles études ont employé des populations de cellules synchronisées mais ces procédures ont des limitations et peuvent nous induire dans l'erreur.

Dans ce travail nous avons étudié la faisabilité de mesurer les changements du contenu de la cycline E dans la phase G1 utilisant les cellules fibroblastes du foie humain croissant *in vitro*, sans aucune synchronisation. La méthode est basée sur une analyse expérimentale triparamétrique appelée analyse "bromodeoxyuridine BrdUrd/ADN/cycline E" utilisant le cytomètre en flux et la récolte de données soutenue par la théorie mathématique de base de la croissance des populations asynchrones.

3.2 Expérience et analyse des données

La technique principale pour obtenir des données expérimentales afin de les utiliser à nos modèles est le cytomètre en flux. L'avantage de cette technique consiste en nombre élevé de cellules qui peuvent être analysées en quelques minutes, c.à.d. des échantillons de l'ordre de $1-10 \times 10^4$ cellules. Ceci fournit statistiquement des résultats non ambigus quoi que n'importe quelle information individuelle (une seule cellule) soit perdue. Par exemple, d'un point de vue cinétique, chaque cellule à sa propre durée intermitotique. Il est possible d'obtenir une évaluation des durées des phases du cycle cellulaire par analyse des populations avec le cytomètre en flux mais les paramètres

cinétiques des populations mesurés par le cytomètre en flux doivent être considérés comme des moyennes de ces périodes.

3.2.1 Marquage des cellules et Cytomètre en flux

Le cytomètre en flux est une technique généralement utilisée dans le domaine biomédical pour l'analyse de certains paramètres et composantes principalement des cellules telles que l'expression des protéines, le contenu de l'ADN, le contenu de drogue, le pH intracellulaire...

Certaines mesures de paramètres sont obtenues à partir de la lumière diffusée par la cellule quand elle est traversée par un rayon de laser et pour d'autres elles sont obtenues à partir de la fluorescence qu'ils émettent en les colorant par un fluorochrome. La détection de quelques autres paramètres est faite au moyen de colorants fluorescents spécifiques, tels que des anticorps conjugués aux fluorochromes. La population cellulaire doit être marquée avant d'être analysée par le cytomètre en flux.

Des milliers de cellules par minute peuvent être analysées par l'instrument, utilisant un rayon laser qui excite la fluorescence du colorant (voir le schéma 3.1). Par conséquent, le but de l'analyse par le cytomètre en flux n'est pas la cellule, mais une population de cellules. Les mesures relatives à chaque cellule sont mémorisées et la sortie de toutes ces mesures de la population est un histogramme représentant la distribution de la fréquence d'intensité lumineuse: l'axe vertical correspond au nombre de cellules, tandis que sur l'axe horizontal, l'intensité de la fluorescence peut être considérée. Ce genre de sortie a besoin d'être interprété et donc une analyse mathématique et/ou statistique de l'histogramme est nécessaire.

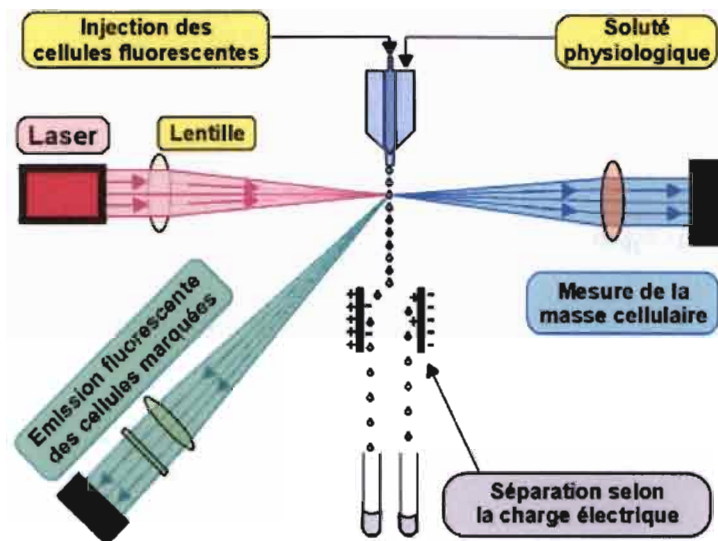


Figure 3.1: Cytomètre en flux

Dans le cas du contenu d'ADN, par exemple, l'intensité de fluorescence du fluoro-chrome lié à l'ADN est mesurée mais plusieurs paramètres caractérisant les cellules peuvent être analysés à la fois. En effet, un, deux signaux de fluorescence ou plus peuvent être simultanément mesurés. L'information finale a une grande importance biomédicale et est représentée par la fréquence de sous-populations détectées dans la population totale, selon le but qui nous intéresse.

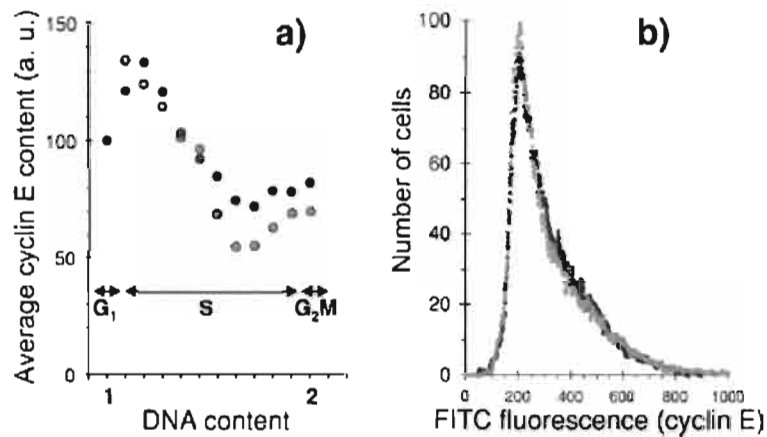
3.2.2 Expérience

Le travail expérimental que nous avons effectué par le cytomètre en flux est lié à l'étude de l'expression de protéines de quelques lignées de cellules qui croissent in vitro. En particulier, nous avons utilisé une lignée de cellules des fibroblastes du foie humain appelé WRL68. Tout d'abord, nous avons voulu utiliser quelques expériences qui peuvent fournir des données biologiques utiles pour modéliser la croissance de

population de cellules et la régulation du cycle cellulaire.

L'analyse du contenu de l'ADN par le cytomètre en flux nous permet de distinguer les différentes phases du cycle cellulaire (G1, S et G2/M). Evidemment les cellules de la phase G1 ont la moitié du contenu de l'ADN comparant à celles qui sont en G2 et les cellules de S ont un contenu d'ADN variable plus grand que G1 avec une valeur maximum qui est égale à celle des cellules de G2.

Traditionnellement, les méthodes du cytomètre en flux sont utilisées avec une analyse biparamétrique en colorant l'ADN et une autre protéine pour étudier le contenu de différentes protéines dans les différentes phases. Cependant, les cellules dans la phase G1 ou G2/M ne sont pas distinguables c'est à dire que les cellules en G1 sont considéré comme un seul bloc et on ne sait pas vraiment si elles sont au début ou à la fin de la phase (de même pour G2/M) puisque la quantité d'ADN ne change pas durant ces phases. Par conséquent aucun changement du contenu de la protéine n'est discernable pendant ces phases. Les profils des protéines liées aux phases G1 ou G2/M nous aide à mieux comprendre les mécanismes de transition d'une phase à une autre. Dans notre expérience, nous avons utilisé une analyse triparamétrique (Fig 3.3) pour nous permettre justement d'étudier le profil de la cycline E durant la phase G1. L'échantillon a été marqué par trois fluorochromes ciblant l'ADN, la cycline E et BrdUrd (une substance qui va remplacer une des composantes de l'ADN après la division et donc on distinguera bien les cellules marquées par le BrdUrd plus tard dans l'expérience), ensuite analysées dans le cytomètre en flux. Pour chaque échantillon, on a récolté 50000 évènements (cellules). Les cellules marquées par le BrdUrd notées par BrdUrd+ occupent la phase S au moment du marquage, complètent le cycle, se



Mesures de l'analyse biparamétrique du contenu CycE/ADN :

Figure 3.2: (a) contenu de CycE dans 12 secteurs (Secteur G1, 10 secteurs de S et le secteur de G2/M

(b) histogramme de la cyc E pour les cellules de la phase G1.

divisent et entrent en phase G1. L'information sur les changements de la quantité de la cycline E dans la phase G1 est recherchée par ces cellules BrdUrd+ traversant la phase G1 (cellules G1+) (voir Figure 3.4).

3.2.3 Pourcentage des cellules par la théorie de la croissance des populations asynchrones

Cellules (BrdUrd+) avec une durée du cycle cellulaire fixe

La théorie de base du cycle cellulaire avec des durées des phases G1, S et G2/M fixes a été développée dans les années 1960. En absence des cellules quiescentes et de la perte des cellules, en utilisant le modèle de Steel [95], la distribution d'âge de l'état stationnaire est

$$d(a) = 2be^{-ba}$$

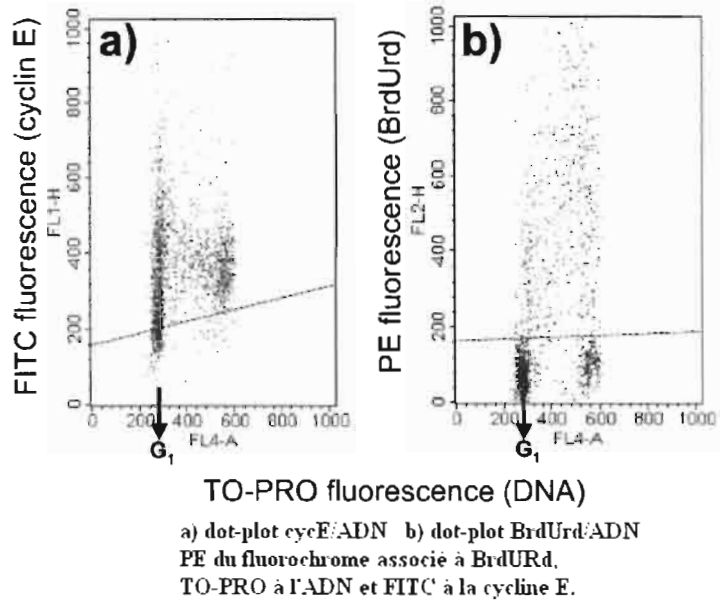


Figure 3.3: Analyse triparamétrique ADN/BrdUrd/CycE

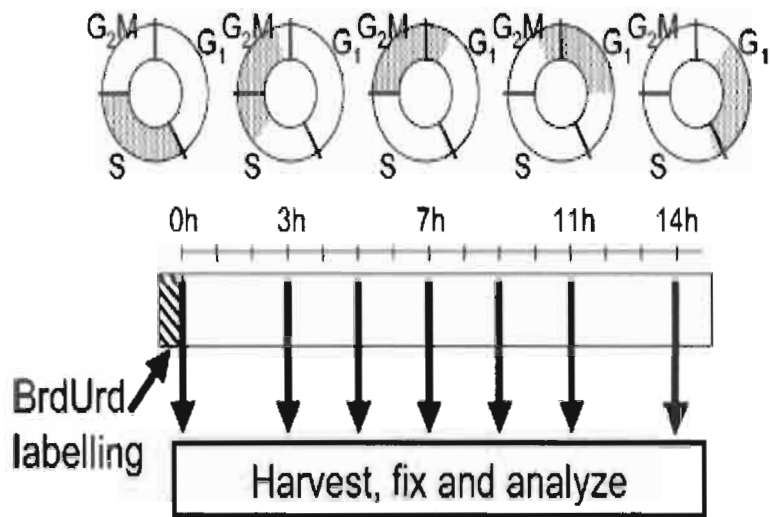


Figure 3.4: Marquage des cellules par le BrdUrd

où $d(a)$ est le nombre de cellules d'âge a , $b = \frac{\ln 2}{T_c}$ et T_c est la durée du cycle cellulaire (dans ce cas T_c est égale à T_D le temps pour le dédoublement de la population). En intégrant la distribution, on obtient une fraction de cellules entre deux âges u et z comme suit:

$$f(u, z) = 2(e^{-bu} - e^{-bz}). \quad (3.1)$$

La fraction des cellules dans n'importe quel secteur d'âge peut être alors calculée. Ainsi, si on divise la phase G1 en N intervalles d'âge égaux de longueur Δ , le pourcentage des cellules du i ème secteur de G1 par rapport à la population des cellules en phase G1 est donné par:

$$\%n_{G1} = \frac{100e^{-b(i-1)\Delta} (1 - e^{-b\Delta})}{(1 - e^{-bT_{G1}})}. \quad (3.2)$$

En utilisant l'équation (3.2) à la lignée de cellules WRL68 ($T_{G1} = 8,5h$, $T_D = 20,5h$), nous obtenons la partition de G1 en neuf secteurs (0-1h, 1-2h...):

$$\%n_{G1}(1) = 13,3, \%n_{G1}(2) = 12,9, \%n_{G1}(3) = 12,4,$$

$$\%n_{G1}(4) = 12, \%n_{G1}(5) = 11,6, \%n_{G1}(6) = 11,2$$

$$\%n_{G1}(7) = 10,9, \%n_{G1}(8) = 10,5, \%n_{G1}(9) = 5,1$$

le dernier correspond au secteur 8-8,5h.

Par analogie, pour S on a

$$\%n_S = \frac{100e^{-b(i-1)\Delta} (1 - e^{-b\Delta})}{(1 - e^{-bT_S})} \quad (3.3)$$

et,

$$\%n_S(1) = 15,8, \%n_S(2) = 15,3, \%n_S(3) = 14,7$$

$$\%n_S(4) = 14,3, \%n_S(5) = 13,8, \%n_S(6) = 13,3$$

$$\%n_S(7) = 12,9\%$$

Dans ce modèle, nous considérons que le marquage par le BrdUrd est effectué dans un temps $t = -T_{lab}$ à $t = 0$. Les cellules BrdUrd+ changent d'âge dans le cycle cellulaire.

Considérant la périodicité du cycle, les bords d'âges du groupe de BrdUrd+ sont:

$$x(t) = t + T_{G1} - T_c \times \text{Int}\left(\frac{t + T_{G1}}{T_c}\right)$$

$$y(t) = t + T_{G1} + T_S + T_{lab} - T_c \times \text{Int}\left(\frac{t + T_{G1} + T_S + T_{lab}}{T_c}\right),$$

où $\text{Int}\left(\frac{a}{b}\right)$ donne la partie entière de $\frac{a}{b}$.

Les formules sont vraies pour une valeur de $T_{lab} < T_{G1} + T_{G2/M}$. Pour T_{lab} supérieur à cette valeur on revient au cas trivial où toutes les cellules sont déjà marquées pour $t = 0$.

Si $x(t) < y(t)$, alors les cellules BrdUrd+ sont entre $x(t)$ et $y(t)$ et quand $y(t) < x(t)$ alors les BrdUrd+ peuvent être dans deux régions ou bien entre $x(t)$ et T_c (cellules qui ne se sont pas encore divisées) ou bien entre 0 et $y(t)$ (cellules qui se sont déjà divisées). Ainsi, en appliquant (3.1), la fraction des cellules BrdUrd+ dans la population totale est:

$$f_{p+}(t) = 2(e^{-bx(t)} - e^{-by(t)}) \text{ si } x(t) < y(t)$$

$$f_{p+}(t) = 2(1 - e^{-by(t)}) + 2(e^{-bx(t)} - e^{-bT_c}) \text{ si } y(t) < x(t)$$

et la fraction des cellules BrdUrd+ qui ne se sont pas divisées dans le premier cycle est

$$f_{ud}(t) = 2(e^{-bx(t)} - e^{-b \min(t+T_{G1}+T_S+T_{lab}, T_c)}) \text{ pour } t < T_S + T_{G2M} \text{ et } 0 \text{ ailleurs.}$$

Cellules G1+

Les cellules marquées par le BrdUrd en phase G1, qu'on note par G1+ à l'instant $t < T_c$ ont des âges compris entre $x(t)$ et $y(t)$

$$x(t) = \min(T_{G1}, \max(0, t - (T_S + T_{G2M})))$$

$$y(t) = \min(T_{G1}, \max(0, t - (T_{G2M} - T_{lab}))).$$

Quand $x(t) = y(t)$ alors il n'y a pas de cellules dans G1 à cet instant là.

Pour $t > T_c$ on a les mêmes formules grâce à la périodicité du cycle, seulement il faut remplacer t par $t - T_c \times \text{Int}\left(\frac{t}{T_c}\right)$. On peut maintenant calculer la fraction des G1+

$$f_{G1+} = f(x(t), y(t)) = 2(e^{-bx(t)} - e^{-by(t)}).$$

et donc le pourcentage de G1+ par rapport à toutes les cellules en G1 est:

$$\% \frac{G1+}{G1} = \frac{100f_{G1+}}{f_{G1}} = \frac{100(e^{-bx(t)} - e^{-by(t)})}{(1 - e^{-bT_{G1}})}.$$

Cellules BrdUrd+ dans un secteur d'âge quelconque

Pour un secteur d'âge quelconque du cycle compris entre u et z , on considère les cellules déjà divisées et les cellules qui ne se sont pas encore divisées séparément, alors

$$f_d(t, u, z) = 2(e^{-bx_d(t, u, z)} - e^{-by_d(t, u, z)}),$$

où

$$x_d(t, u, z) = \min(z, \max(u, t - (T_S + T_{G2M})))$$

$$y_d(t, u, z) = \min(z, \max(u, t - (T_{G2M} - T_{lab}))),$$

et la fraction des cellules BrdUrd+ qui ne se sont pas encore divisées est donnée par:

$$f_{ud}(t, u, z) = 2 \left(e^{-bx_{ud}(t, u, z)} - e^{-by_{ud}(t, u, z)} \right),$$

où

$$x_{ud}(t, u, z) = \min(z, \max(u, t + T_{G1}))$$

$$y_{ud}(t, u, z) = \min(z, \max(u, t + T_{G1} + T_S + T_{lab})).$$

La fraction des BrdUrd+ dans le secteur d'âge entre u et z avec $T_{lab} < T_{G2M} + u$ sera alors:

$$f_{u-z+}(t) = f_{ud}(t, u, z) + f_d(t, u, z),$$

avec une période T_c .

On peut également continuer ainsi si par exemple le temps du marquage est encore plus long $T_{lab} > T_{G2M} + u$, un troisième terme doit être ajouté qui comprend les cellules marquées et qui se sont déjà divisées deux fois et ont un âge entre u et z avant $t < T_c$

$$f_{dd}(t, u, z) = 2 \left(e^{-bx_{dd}(t, u, z)} - e^{-by_{dd}(t, u, z)} \right),$$

et les bords sont données par

$$x_{dd}(t, u, z) = u$$

$$y_{dd}(t, u, z) = \min(z, \max(t + T_{lab} - T_{G2M} - T_c)).$$

3.2.4 Histogrammes de la cycline E

L'expérience nous a permis d'avoir six histogrammes de la distribution de la cycline E de toutes les cellules en phase G1 et cinq histogrammes des cellules G1+ pour $t=0$,

5, 7, 9, 11 et 14h (Figure 3.5).

Ces histogrammes ont été approximés par des sommes de plusieurs gaussiennes avec le même coefficient de variance CV . La première gaussienne représente la distribution de la cycline E des cellules d'âge entre 0 et 1h. Sa moyenne (μ_1) est proportionnelle à la moyenne de la quantité de la cycline E des cellules de la phase G1, d'âge entre 0 et 1 h. De la même façon, la deuxième gaussienne représente la distribution des cellules d'âge entre 1 et 2 h ainsi de suite. Après la normalisation, tous les histogrammes ont les mêmes valeurs de μ_1, μ_2, \dots qui représentent les valeurs estimées de la cycline E durant la phase G1.

Ainsi en utilisant neuf gaussiennes, les variables qui ont été identifiées sont $\mu_1, \mu_2, \mu_3, \mu_4, \mu_5, \mu_6, \mu_7, \mu_8, \mu_9$ et la variance CV . D'autre part puisque les histogrammes des cellules G1+ pour $t = 5h$ et $t = 7h$ pouvaient être approchés par une seule gaussienne avec la même moyenne et la même CV , nous avons réduit le nombre des variables en posant:

$$\mu_1 = \mu_2 = \mu_3.$$

Une autre contrainte est ajoutée en raison des connaissances biologiques sur la cycline E, est que la cycline E n'admet qu'un seul maximum atteint à la fin de la phase G1. L'identification des paramètres a été faite utilisant Matlab, minimisant un critère d'optimisation appelé les moindres carrés. Ce critère est un vecteur de 11 éléments (associé à 11 histogrammes) en fonction des paramètres $(\mu_3, \mu_4, \mu_5, \mu_6, \mu_7, \mu_8, \mu_9, CV)$ et qui est donné par:

$$J(\mu_3, \mu_4, \mu_5, \mu_6, \mu_7, \mu_8, \mu_9, CV) = [H_k(x_i, \mu_3, \mu_4, \mu_5, \mu_6, \mu_7, \mu_8, \mu_9, CV)]_{k=1,11}$$

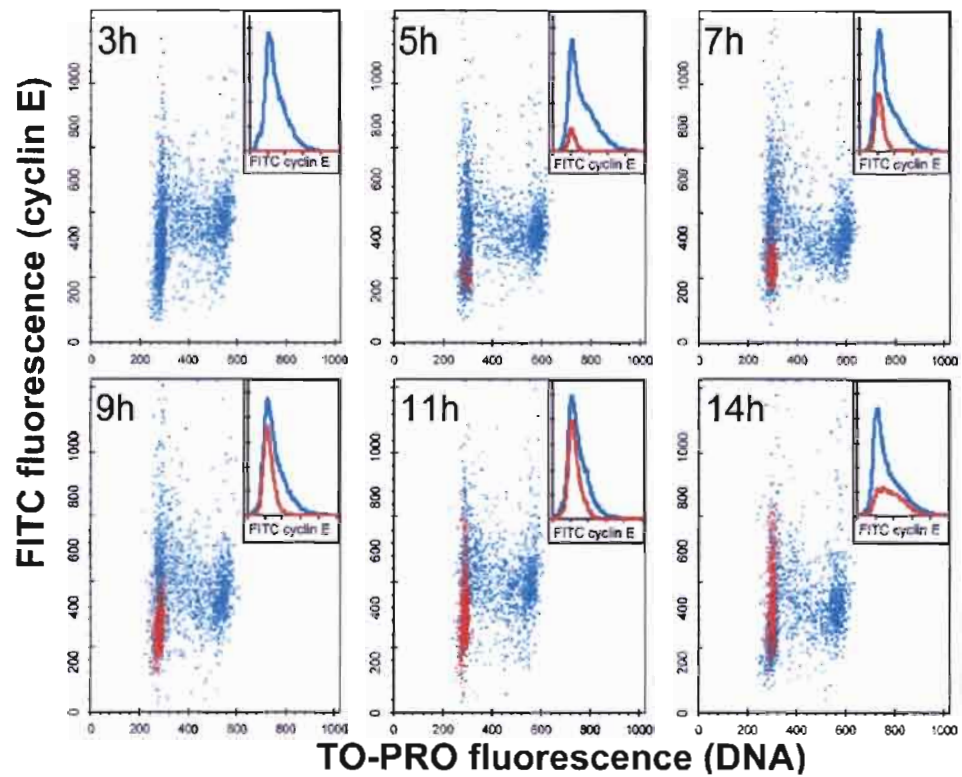


Figure 3.5: Expérience du pulse-chase triparamétrique: dot-plot ADN/cyclin E de la population totale de G1 (points bleus) et de G1+ (points rouges). Les courbes insérées montrent la fréquence de la distribution de la cycline E de la population totale de G1 (ligne bleue) et de G1+ (lignes rouges). Les cellules G1+ sont initialement (5, 7, 9h) détectées seulement dans la partie la plus inférieure de la distribution globale de la cycline E ensuite leur distribution change progressivement et occupe finalement la totalité de l'intervalle de distribution de la cycline E.

où chaque H_k représente un éléments du vecteur J avec:

$$H_k(x_i, \mu_3, \mu_4, \mu_5, \mu_6, \mu_7, \mu_8, \mu_9, CV) = \sum_{i>0} (G_k(x_i, \mu_3, \mu_4, \mu_5, \mu_6, \mu_7, \mu_8, \mu_9, CV) - y_i)^2$$

où $(y_i)_i$ sont les données récoltées par le cytomètre en flux tel que y_i est le nombre de cellules associées à une quantité x_i de la cycline E et $G_k(x_i, \mu_3, \mu_4, \mu_5, \mu_6, \mu_7, \mu_8, \mu_9, CV)$ est la somme de gaussiennes de moyenne μ_j et de variance CV :

$$G_k(x_i, \mu_3, \mu_4, \mu_5, \mu_6, \mu_7, \mu_8, \mu_9, CV) = \sum_{j=3}^9 G_k(x_i, \mu_j, CV)$$

et

$$G_k(x_i, \mu_j, CV) = N_k(j) \frac{e^{-\frac{(x_i - \mu_j)^2}{2CV}}}{CV \mu_j \sqrt{2\pi}}$$

$N_k(j)$ représente la fraction de cellules en phase G1 qui appartient à un secteur d'âge j et mesuré à l'instant $t = k$. Les fractions des cellules dans chaque secteur d'âge et pour chaque histogramme sont différentes. Elles sont estimées par la théorie de la croissance exponentielle des populations des cellules et en mesurant les durées moyennes des phases (voir paragraphe 3.2.3), par simulation des données de BrdUrd. L'objectif est de chercher le minimum du critère J en initialisant les paramètres et lançant une méthode d'optimisation implémenter dans Matlab:

$$\min J(\mu_3, \mu_4, \mu_5, \mu_6, \mu_7, \mu_8, \mu_9, CV).$$

Le résultat va nous permettre de retrouver les valeurs de la cycline E pour chaque secteur d'âge de G1 et donc un profil de la cycline E durant G1.

Nous avons également tester le résultat pour plusieurs conditions initiales afin de s'assurer que le résultat obtenu est bien un minimum global (non pas un minimum

local) et qu'il n'existe pas un autre minimum meilleur au sens du critère J . Finalement la moyenne de la quantité de la Cycline E dans le secteur d'âge j est calculée par la formule suivante:

$$CycE(j) = \mu_j.$$

3.3 Interprétation des résultats

La figure 3.5 montre le dot-plot ADN/cycline E des échantillons à des instants différents après marquage par le BrdUrd: les cellules G1+ sont représentées par le rouge, donnant une image quantitative du profil de la cycline E. Les cellules G1+ ne sont pas détectables pour $t = 3h$ mais sont présente pour $t = 5h$. Leur quantité en cycline E est très faible et ça montre bien que les cellules entrent en phase G1 avec une faible quantité en cycline E.

Par ailleurs, au cours du temps, bien que les fractions des cellules G1+ croissent ($t = 5h$, 9% des cellules en G1; pour $t = 7h$, 28%; pour $t = 9h$, 48%), les trois distributions en cycline E à 5, 7 et 9h restent symétriques, avec une moyenne entre 220-240 d'unités fluorescence et CV=20%. Ce ci indique que le contenu en cycline E reste constant dans les première 4h (au moins) du début de la phase G1. Après à 11h et 14h, la distribution aura des valeurs de fluorescence plus élevées.

3.3.1 Changement du contenu de cycline E dans la phase G1

l'histogramme du contenu de la cycline E des cellules en phase G1 pour différents instants comportent des cellules d'âges différents. Les histogrammes sont considérés comme une combinaison de gaussiennes, chacune représente les cellules d'un secteur

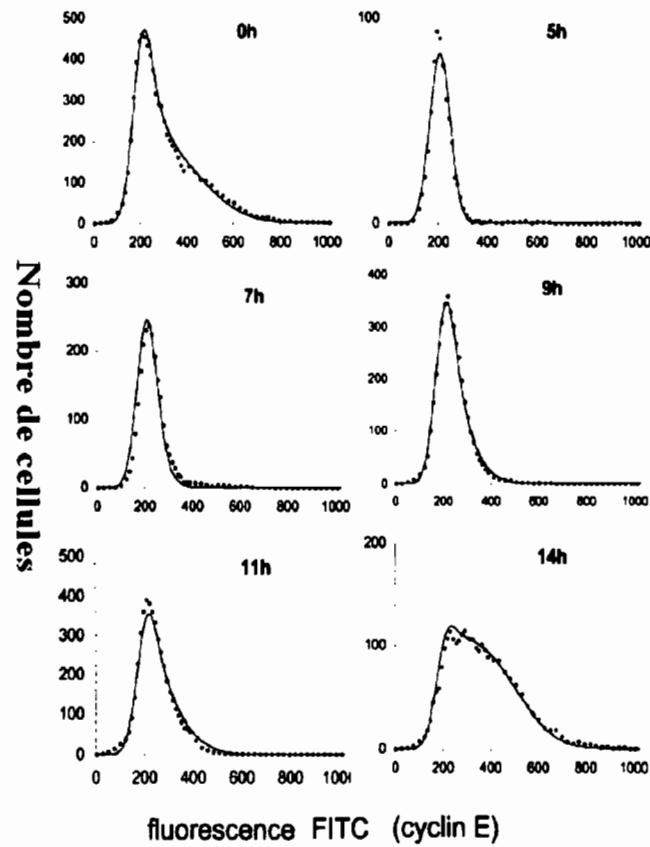


Figure 3.6: Ajustement des histogrammes par optimisation des moindres carrés

d'1h de largeur dans la phase G1. Le but est de pouvoir mesurer la moyenne du contenu de la cycline E des cellules dans chaque secteur d'âge et avoir un profil quantitatif dans G1. L'utilisation des fonctions gaussiennes est cohérente avec le fait qu'on a trouvé qu'une fonction gaussienne approxime très bien la distribution des cellules G1+ pour $t = 5h$ (incluant seulement des cellules dans un intervalle d'âge restreint (voir Figure 3.5)). Le secteur de chaque gaussienne est supposé connu puisque il est proportionnel à la fraction des cellules d'âge 0-1h (gaussienne 1), d'âge 1-2h (gaussienne 2)...et ceci grâce à la théorie de la croissance exponentielle de la population cellulaire .

Onze histogrammes qui réfèrent à toutes les cellules en G1 aux instants 0, 5, 7, 9, 11 et 14h et les cellules G1+ aux instants 5, 7, 9, 11 et 14h, ont été approximés ensemble pour trouver les moyennes des gaussiennes utilisant les secteurs pour les deux modèles T_{fix} et T_{var} . Par approximation (voir Figure 3.6), nous avons obtenu les moyennes des gaussiennes qui nous donnent une mesure du contenu de la cycline E dans chaque secteur d'âge représenté dans la figure 3.7. Le modèle de T_{var} comme prévu intuitivement fournit une meilleure approximation (Figure 3.7) et les approximations pour le modèle de T_{fix} ne sont pas excellentes mais les deux modèles ont fourni des profils de la cycline E similaire au début avec une différence moins de 13% pour un âge au dessus de 8h. L'intervalle entre les contenus de la cycline E par les deux modèles est plus large à la fin de G1 et c'est la conséquence de l'approximation pour T_{fix} à $t=11$ et 14h. Le contenu de la cycline E est élevé à la fin de la phase G1.

A la fin, on relie les profils du contenu de la cycline E dans la phase G1 obtenus par analyse triparamétrique et optimisation des histogrammes et ceux de S et G2/M obtenus avec les même cellules par l'analyse biparamétrique ADN/cycline E (Figure 3.2). Le résultat obtenu est une mesure complète de la cycline E dans le cycle cellulaire entier (Figure 3.7) contrairement à ce qui été donné dans la figure 3.2, qui fournit seulement une moyenne de la cycline E pour toute la sous population en G1 et une moyenne pour la population en G2/M.

Sur la figure 3.7, nous avons également unifié les abscisses de G1 et de S, en utilisant l'âge de S au lieu du contenu d'ADN comme (Figure 3.2). On a divisé la phase S en sept secteurs en se basant sur le pourcentage des cellules dans chaque intervalle d'1h avec le modèle en T_{fix} (3.3).

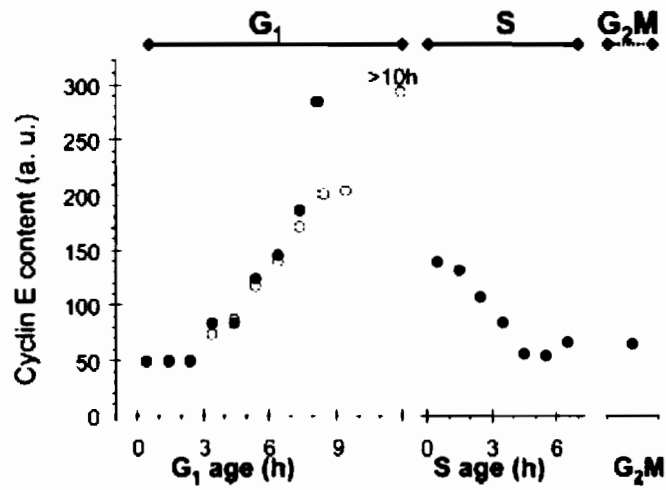


Figure 3.7: Contenu de la cycline E dans les phases G₁, S et sa moyenne dans G₂/M. Le profil de la cycline E dans la phase G₁ est le résultat de l'approximation des histogrammes de la cycline E pour 0-14h obtenus dans l'expérience du pulse-chase avec l'analyse triparamétrique. L'approximation consiste en une somme de gaussiennes et utilise le modèle pour T_{var} (rond vide) et T_{fix} (rond plein). Le profil dans la phases et G₂/M est calculé à partir de l'analyse biparamétrique ADN/cycE pour les même cellules.

Nous avons pas eu de cycline E nul au début de la phase G1 et la petite augmentation à la fin de S et en G2/M appuie cette affirmation. Ainsi, l'hypothèse d'avoir un niveau bas stable de la cyclin E au début du cycle ne peut pas être exclu.

3.3.2 Discussion

Dans le travail de Lew [61], les auteurs ont observés des changements du niveau de mRNA de la cycline E durant la phase G1 pour une population synchrone. Ils ont enrichi la population par des cellules en phase G1 et ils ont remarqué une croissance de la cycline E durant cette phase. Quand on fait la mesure du mRNA ou du contenu d'une protéine dans une telle population on a une moyenne du niveau de cette protéine pour chaque âge mais sans connaître le pourcentage des cellules dans chaque secteur d'âge. Ceci permet seulement une évaluation grossière des changements du cycle cellulaire en temps et en contenu de la protéine.

L'utilisation de l'analyse par le cytomètre en flux biparamétrique ADN/cycline [36] [37] a en partie soulevé ce problème de la mesure en bloc des protéines en analysant cellule par cellule le contenu des proteines avec des anticorps spécifiques ainsi que la mesure de l'ADN. En effet par cette analyse le cycle cellulaire peut être divisé en secteurs avec différents contenus d'ADN et le contenu de la cycline peut être mesuré séparément dans chaque secteurs. Par conséquent, la synchronisation des cellules n'est pas nécessaire.

Plusieurs travaux ont été fait en utilisant cette technique biparamétrique du cytomètre en flux ADN/cycline E [37] [30] appliquée à plusieurs lignées de cellules d'échantillons de tumeurs montrant comment le contenu de la cycline E décroît durant la phase S.

Cependant, l'approche par cytomètre en flux biparamétrique est limitée par le fait que la quantité de l'ADN dans toutes les cellules en phase G1 et phase G2/M sont identiques respectivement et évidemment c'est une limitation très sérieuse pour l'étude du contrôle moléculaire de la phase G1 et la phase G2/M.

Notre travail peut être considéré comme une étape pour surmonter cette limitation et mesurer le contenu de la cycline E à l'intérieur de la phase G1 en utilisant les données au cours du temps par l'approche du cytomètre en flux triparamétrique ADN/cyclineE/BrdUrd.

Les histogrammes de la cycline E ont été approximés par des sommes de gaussiennes où chacune d'elles représente une sous population des cellules en phase G1 dans un intervalle d'âge de largeur d'1h. Notre analyse a ciblé à établir les moyennes de chaque gaussienne et ces dernières correspondent bien aux moyennes du contenu de la cycline E pour tout âge donné dans la phase G1. Le secteur de chaque gaussienne est donné par le pourcentage des cellules d'âge correspondant qui est calculé par l'approximation des données de l'expérience pulse-chase par les modèles mathématiques du cycle cellulaire.

On compare des modèles mathématiques en élevant le niveau de complexité. Le modèle le plus simple avec la non variabilité des durées de G1, S et G2/M donne une approximation acceptable par rapport aux données mais le profil de la cycline E est très proche à celui du modèle avec variabilité des phases (Figure 3.7). Le modèle simplifié a tiré profit grâce à des évaluations plus précises des durées de phases que celles données par le modèle complexe. Cependant, ces résultats suggèrent que le procédé ne soit pas très sensible à la variabilité des durées de phase. Dans le modèle

simplifié, les distributions d'âge peuvent être calculées par les formules données 3.2.3, sans simulation numérique. Ainsi à notre avis, bien que ceci doit être confirmé par d'autres expériences, le modèle simplifié du cycle cellulaire peut généralement donner une première approximation valable du profil d'âge de la protéine cycline E.

Utilisant les distributions d'âge par la théorie, la série chronologique d'histogrammes de la cyclin E des cellules marquées par le BrdUrd en phase G1 et de la population totale de G1 obtenue par l'expérience ont été simultanément approximés en utilisant un procédé non-linéaire convenable. La robustesse de l'approximation a été étudié en faisant varier les conditions initiales.

Par ailleurs, nos données sont assez sensibles pour prouver que le maximum de la cyclin E se produit à un âge supérieur à la durée moyenne de la phase G1, mais nous ne pourrions pas démontrer qu'elle se produit, pour chaque cellule, au moment de la transition G1/S.

En conclusion, au début du cycle le niveau de la cyclin E était stable (autour de 50 unités dans notre échelle) à l'âge 3 h. Après ça commence à croître à un taux presque constant (approximativement 30 units/h) jusqu'à 8 h, c'est à dire, presque à la fin de G1 puisque T_{G1} a été estimé à 8,5 h. On remarque sur le graphe de la cycline E (Figure 3.7) qu'on a un maximum qui est atteint à la fin de G1 correspondant à une valeur un peu plus que 200 unités et puis descend dans la phase S à une valeur de 140 unités, ceci montre bien la consommation brusque de la cyclin E au moment de la transition G1/S. Pendant la phase S, la cycline E diminue jusqu'à l'âge de 5 h . Ensuite elle reste stable ou augmente légèrement. Finalement, cette nouvelle méthode s'est avérée utile pour mesurer des niveaux de protéine en cellules dans la phase

G1. La détection et la comparaison des profils semblables pour d'autres protéines impliquées dans le contrôle de la phase G1 devraient contribuer à une compréhension quantitative de leurs rapports.

Partie III

Modélisation mathématique: Cycle cellulaire-dynamique de population

Chapitre 4

Modèle mathématique de la phase G1 du cycle cellulaire

4.1 Introduction et historique

Depuis les années 80, le cycle cellulaire et ses interactions moléculaires ont suscité beaucoup d'attention des modélisateurs mathématiciens. A cette époque là, les modèles les plus populaires étaient des modèles structurés en taille des cellules embryonnaires. Par ailleurs, la variabilité de la taille des cellules et de la durée du cycle cellulaire nous permet de dire que la croissance de la taille n'est pas toujours un indicateur fidèle pour fournir l'information exacte sur l'état de la cellule. En effet, les cellules de même taille peuvent avoir un âge très différent et vice versa.

Au début des années 90, les études expérimentales menées sur les mammifères et particulièrement sur les levures [101] ont permis de montrer qu'il y a des protéines dans la cellule qui sont fondamentales pour la progression du cycle cellulaire. Plus

récemment, l'expérience a prouvé que la synthèse de l'ADN ne peut pas être accomplie si les concentrations de certaines protéines exprimées au début du cycle ne sont pas assez élevées [26].

L'évolution de la cellule durant son cycle est due à la synthèse et la dégradation des concentrations de protéines telles que les cyclines.

La réplique de l'ADN, qui se produit pendant la phase S, est précédée par la première phase du cycle cellulaire, appelée phase G1. Cette dernière a été l'objectif de plusieurs études, particulièrement dans l'implication de ses protéines pour la transition à la phase S. Le passage des cellules d'une étape à une autre est étroitement régulé par l'activité des complexes Cyclin/CDK [44], la transcription des gènes des cyclines, la dégradation des protéines tels que les cyclines, effets des inhibiteurs kinases...

Les interactions moléculaires impliquées dans la phase G1 sont d'une grande complexité et impliquent différentes familles de protéines [54]. Certains chercheurs ont choisi les plus importantes pour la transition de la phase G1 à la phase S, comme le complexe constitué par la Cyclin E et la kinase CDK2, la protéine de retinoblastome pRb, le facteur de croissance E2F et un certain inhibiteur des kinases (p27) [52] [89] [44]. La progression de chaque cellule au milieu et à la fin de G1 jusqu'à l'entrée de la phase S est régulée par les interactions de ces protéines et ces complexes. La molécule principale régulant la transition de G1 à la phase S est le complexe CycE/CDK2. Les biologistes essayent de comprendre ces événements moléculaires au niveau cellulaire parce que leur déréglementation est associée à beaucoup de maladies notamment les cancers. La modélisation mathématique peut nous aider à formaliser ces processus

moléculaires et à prévoir le comportement suggéré par les expériences.

Obeyesekere et al. [76] ont établi un modèle mathématique de la phase G1 incorporant le complexe CycE/CDK2 et la protéine de Retinoblastoma. La simulation du modèle a montré l'effet de la phosphorylation de pRb sur la croissance de CycE/CDK2, et en changeant les paramètres du modèle, ils ont reproduit des résultats expérimentaux tels que l'arrêt du cycle cellulaire à la phase G1. Kohn [53] a suggéré un grand système d'équations différentielles, représentant les variations de plusieurs substances impliquées dans le progrès de la phase G1. Il a établi un modèle tenant en compte plusieurs composantes afin d'avoir une meilleure description (plus réaliste) de la phase G1. En utilisant le modèle de Kohn, Chiorino et Lupi [20] ont choisi les protéines qui ont une influence significative sur la durée de la phase G1. Ils ont démontré que: plus le niveau de pRb est élevé, plus la phase G1 est longue, alors que des valeurs initiales élevées de la kinase CDK2 correspondent à une phase G1 courte. Ils ont également observé que la présence de l'inhibiteur de kinase p27 peut ralentir la phase G1. Hatzimanikatis et al. [45] ont établi un modèle de la transition G1/S du cycle cellulaire des mammifères et par simulation, ils ont reproduit les mécanismes moléculaires importants qui sont impliqués dans la transition G1/S. Tyson et Novak [100] ont basé leur étude sur la modélisation du cycle cellulaire des levures. Cependant, la plupart des conclusions au sujet du cycle cellulaire obtenues pour les levures sont similaires aux cellules humaines puisque les mécanismes régulant le cycle sont semblables.

La plupart des auteurs [53] [76] [45] qui ont établi des modèles mathématiques du cycle cellulaire, ont fait uniquement des simulations numériques de ces modèles.

Agur et Norel [73] ont établi un modèle du cycle cellulaire basé sur l'activité de la pro-

téine MPF (Mitosis Promoting Factor) qui représente le complexe CyclineB/CDC2 et Thron [96] a étudié la stabilité locale du modèle de Agur.

Obeyesekere et al. [75], [77] ont discuté la validité de quelques modèles du cycle cellulaire en analysant le comportement de leurs solutions au voisinages des points d'équilibre et leurs significations physiques.

Dans ce chapitre, nous nous sommes intéressés par la cinétique du cycle cellulaire, en particulier la modélisation de l'expression des protéines impliquées dans la fin de la phase G1 et de la transition à la phase S. Nous établissons d'abord et analysons un modèle simple des interactions entre CycE/CDK2 et le Retinoblastome. Nous considérons ces deux protéines en tant que variables de régulation de la transition G1/S dans un système non-linéaire d'équations différentielles. Après, nous ajoutons un inhibiteur de kinase: p27 et nous étudions la stabilité des états d'équilibre. Nous donnons également quelques simulations numériques des deux modèles.

4.2 Une brève description des interactions moléculaires

On accepte largement que la prétention fondamentale sur la transition de la phase G1 à la phase S est que la synthèse d'ADN commence quand le niveau du complexe CyclinE/CDK2 atteint un seuil [44]. Koff et Al [52] ont examiné l'évolution du CycE/CDK2 pendant la phase G1 et ont observé que l'abondance de ce complexe augmente durant G1 et atteint son maximum juste à l'entrée de la cellule à la phase

S. Après elle diminue pendant que les cellules progressent dans le reste du cycle cellulaire [89]. Cependant, nous sommes intéressés par les interactions moléculaires qui sont liées à l'activité du complexe CycE/CDK2.

La protéine CycE libre se lie à la kinase CDK2 et forme le complexe CycE/CDK2. Une fois activé, ce complexe peut phosphoryler la protéine de rétinoblastome pRb qui au début de la phase G1 est complètement hypophosphorylée.

Au début du cycle cellulaire, la molécule du rétinoblastome (pRb) se lie au facteur de transcription E2F (E2F inactif). On la trouve sous sa forme hypophosphorylée seulement au début de la phase G1, mais pendant cette phase les complexes Cyc/CDK, tel que CycE/CDK2, phosphorylent le pRb et puis libèrent le E2F qui devient actif. Le E2F libéré active quelques gènes qui sont importants pour que la cellule lance la synthèse d'ADN (voir Figure 4.0). Beaucoup de gènes dont les produits sont exigés pour la réplique d'ADN contiennent dans leurs promoteurs des sites qui adhèrent à E2F, tels que alpha de polymérase d'ADN, la kinase de thymidine, E2F lui-même, Cyc E... un des cibles de E2F est de l'activation de la transcription du gène de la CycE [28]. Geng et al. [34] ont démontré que la transcription de CycE est faite au moins en partie grâce à E2F. Par contre, le pRb hypophosphorylé empêche l'activité du promoteur de la CycE. Ce qui suggère que le pRb est responsable de la faible expression du gène de la CycE au début et au milieu de la phase G1, quand il est lié à E2F. Au moment de la transition G1/S, le pRb est complètement hyperphosphorylé et ne peut pas se relier à E2F et il persiste dans cet état durant tout le reste du cycle cellulaire et redevient sous sa forme hypophosphorylée seulement tard dans la phase de mitose, juste avant l'entrée des nouvelles cellules filles dans G1 [67]. Ainsi,

le statut de phosphorylation du pRb est important pour l'activité du E2f. Le niveau du pRb hyperphosphorylé est proportionnel au niveau de E2f. En d'autres termes, le pRb a un rôle suppressif de croissance seulement quand il est hypophosphorylé [28]. La CyclinE est principalement régulée par l'activité du facteur de transcription E2F (voir Figure 4.0). Le E2F libre se lie au site du gène promoteur de la CycE qui s'adhère à E2F, le CycE mRNA messenger est l'emplacement dépendant d'E2F actuel sur l'instigateur de gène de Cyclin E, le mRNA de CycE (messenger) est transcrit et la protéine Cyclin E est traduite. La concentration de CDK2 reste constante durant tout le cycle cellulaire [76] et dès que la cycline E est synthétisée, la CDK2 se lie avec elle et forme un complexe CyclinE-CDK2 (voir Figure 4.0).

Le niveau de la CycE/CDK2 est donc régulé indirectement par le pRb hyperphosphorylé qui est proportionnel au E2F libre.

Les interactions moléculaires présentés précédemment décrivent la régulation du CycE/CDK2.

La quantité de CycE/CDK2 augmente à la fin de la phase G1 jusqu'à ce qu'il atteigne un seuil alors que la cellule accumule le matériel nécessaire pour la synthèse de l'ADN.

Leone et al. [60] suppose que dans la phase G1, le but principal de CycE/CDK2 est le même que celui de l'activité de transcription du E2F et qui consiste en la transition à la phase S. Cependant, hors mis l'activation de E2F, CycE/CDK2 joue un rôle important pour l'activation de la synthèse du DNA. Lukas et al. [63] ont démontré qu'un excès en CycE compense le manque d'expression du gène dépendant du E2F et vice versa et la sur-expression de la CycE peut induire la phase S sans l'activation du pRb/E2F [63] [22].

Tous ces mécanismes moléculaires nous mène à penser que CycE/CDK2 joue un rôle

clé pour la transition G1/S. Par conséquent, notre principale hypothèse pour que la cellule passe de la phase S à la phase G1 est que le complexe CycE/CDK2 atteigne le seuil.

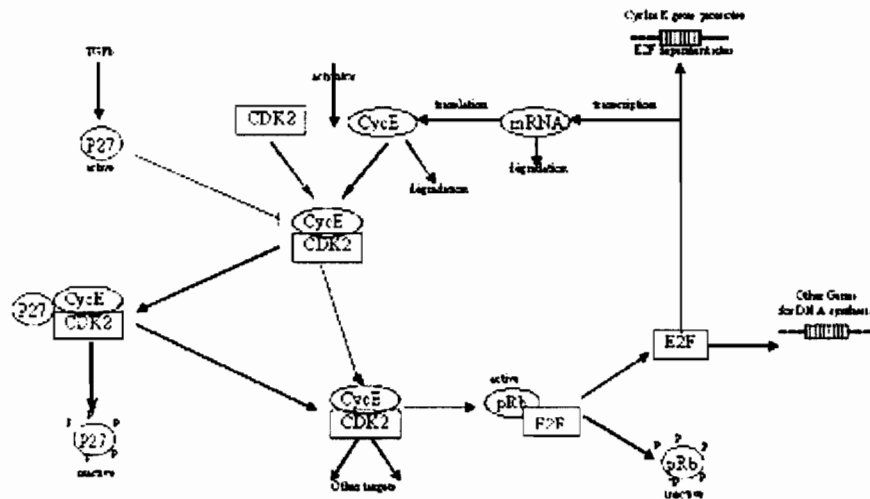


Figure 4.0: Interactions moléculaires de la phase G1

De plus, on prend en considération la dégradation de CycE/CDK2 qui est importante pour le contrôle du complexe. Cette dégradation est supposée se produire par autophosphorylation. L'expérience établie par différents chercheurs montre que pour les cellules normales, tel que les fibroblastes embryonnaires, le début de la dégradation du CycE/CDK2 est un bon signe pour commencer la phase S [52] [28].

Par ailleurs, dans la cellule il y a des protéines inhibiteurs de kinases qui désactivent les kinases et empêchent la progression du cycle cellulaire. Le $p27^{KIP}$ est un de ces inhibiteurs de kinases. Dans la suite, On prend en compte les interactions entre le CycE/CDK2 et pRB/E2F et après en ajoute l'effet du $p27^{KIP}$.

4.3 Modèle mathématique: pRb-CycE/CDK2

En se basant sur les mécanismes moléculaires décrits précédemment, nous pouvons formuler un modèle mathématique d'équations différentielles décrivant l'évolution temporelle de la Rétinoblastome et de CyclinE/CDK2 durant la phase G1 [19]. Nous supposons que la transition de la phase G1 à la phase S se produit quand la quantité de CyclinE/CDK2 atteint un seuil noté par x_{seuil} .

Soit x la quantité de CyclinE-CDK2 et y la concentration de pRb hypophosphorylé. La concentration du pRb (hypo et hyperphosphorylé), notée R , reste constante durant tout le cycle.

La phosphorylation de pRb conduit à la libération du E2F libre dont la quantité est proportionnelle au pRb hyperphosphorylé ($R - y$).

Dans un premier modèle qui a été établi d'abord par Chiorino [19] nous supposons que la synthèse de la Cyclin E est principalement régulée par l'activité de la transcription de E2F. Par ailleurs, la concentration de CDK2 reste constante durant tout le cycle. La synthèse de x se produit par un taux k et est proportionnelle à $(R - y)$ et l'autodégradation de x se produit par un taux d_1 . On suppose également que la quantité de CycE/Cdk2 au début du cycle a une valeur minimale, notée par x_{min} qui est évidemment inférieure à x_{seuil} .

Pour le rétinoblastome, on suppose que pRb est phosphorylé à fur et à mesure de la phase G1 principalement à cause du complexe CycE/CDK2 par un taux d_2 .

Par conséquent, on obtient le modèle suivant:

$$\begin{aligned} \frac{dx}{da} &= k(R - y) - d_1(x - x_{\min}) \\ \frac{dy}{da} &= -d_2xy \end{aligned} \quad (4.1)$$

On suppose qu'au début du cycle, pRb est complètement hyperphosphorylé, c.à.d que la concentration initiale de pRb est au maximum et égale à R . Par ailleurs, le complexe CycE/CDK2 n'est pas complètement dégradé à la fin du cycle et une quantité minimale est nécessaire pour commencer le cycle.

On choisit donc des données initiales telle que la valeur initiale de CyclinE-CDK2 est variable pour chaque cellule et une valeur initiale égale à R pour pRb:

$$\begin{cases} x(0) = x_0 \\ y(0) = R \end{cases}$$

avec $x_0 \in [x_{\min}, x_{\text{seuil}}]$.

4.3.1 Analyse mathématique

Dans cette partie, on s'intéresse à l'étude du comportement de la solution du modèle décrit par (4.1).

Points d'équilibre et stabilité

Proposition 1 *Le système (4.1) admet deux points d'équilibre:*

$$A = \left(x_{\min} + \frac{k}{d_1}R, 0 \right)$$

qui est un noeud, et

$$B = \left(0, \frac{d_1}{k}x_{\min} + R \right)$$

un point selle.

Pour le comportement global des solutions de (4.1) on a:

Proposition 2 *Pour toute condition initiale (x_0, y_0) , tel que $x_0 \in \left(x_{\min}, x_{\min} + \frac{k}{d_1}R\right)$ et $y_0 = R$, alors y est toujours décroissante. En revanche x décroît au début mais n'atteint jamais la valeur minimale x_{\min} sauf si $x_0 = x_{\min}$ et ensuite croît vers le point d'équilibre $x_{\min} + \frac{k}{d_1}R$.*

Proof. pour montrer que la valeur minimale n'est jamais atteinte, on remarque que pour $x_0 \geq x_{\min}$ s'il existe un $\hat{a} > 0$ tel que $x(\hat{a}) = x_{\min}$ alors la dérivé à gauche de x calculée au point \hat{a} devient négative par contre dans le système (4.1) on voit bien que si $x = x_{\min}$ alors la dérivé de x est strictement positive, ce qui donne une contradiction.

Après la diminution initiale, x croît vers la valeur asymptotique

$$x_{\min} + \frac{k}{d_1}R.$$

En effet, x est borné et on a:

$$x'' = -ky' - d_1x',$$

donc si $\exists \tilde{a} > 0$ tel que $x'(\tilde{a}) = 0$, $x(a)$ est croissante $\forall a \geq \tilde{a}$ (la dérivé seconde $x''(\tilde{a})$ est strictement positive).

Par ailleurs, on a:

$$y(a) = R e^{-d_2 \int_0^a x(\alpha) d\alpha}$$

alors $0 \leq y \leq R$ et y décroît exponentiellement vers 0.

$$\lim_{a \rightarrow +\infty} y(a) = 0$$

En effet, si on suppose que

$$\lim_{a \rightarrow +\infty} y(a) > 0$$

ceci nous conduit à

$$\int_0^{+\infty} x(\alpha) d\alpha < +\infty \text{ et } \lim_{a \rightarrow +\infty} x(\alpha) = 0$$

ce qui est contradictoire avec le fait que

$$x(a) > x_{\min} \quad \forall a > 0.$$

■

Remark 1 *Semblablement à ce qui est observé expérimentalement[44] [52], Cyclin E - CDK2 croît dans la phase G1 jusqu'à ce qu'il atteigne le maximum ce qui va permettre à la cellule de passer à la phase S. Ce maximum correspond à la valeur $x_{\min} + \frac{k}{d_1}R$. Par ailleurs, pRb tend asymptotiquement vers zéro à la fin de la phase G1. Le pRb devient alors complètement hyperphosphorylé à la fin de G1.*

Proposition 3 *Soient les deux couples de conditions initiales $(x_1(0), R)$ et $(x_2(0), R)$ avec $x_1(0) < x_2(0)$, alors $\forall a > 0$, $x_2(a) > x_1(a)$.*

Proof. En effet, s'il existe un $a^* > 0$, tel que $x_1(a^*) = x_2(a^*)$ et a^* est le premier nombre où l'égalité se produit, on a:

$$\left. \begin{array}{l} x_1(a) < x_2(a), 0 < a < a^* \\ x_1(a^*) = x_2(a^*) \end{array} \right\} \implies x'_1(a^*) \geq x'_2(a^*)$$

(x' est la dérivé de x) mais à partir de (4.1) :

$$y_1(a) = R e^{-d_2 \int_0^a x_1(s) ds}$$

$$y_2(a) = R e^{-d_2 \int_0^a x_2(s) ds}$$

Ceci implique

$$y_2(a^*) < y_1(a^*) \quad \text{et} \quad x'_1(a^*) < x'_2(a^*)$$

ce qui donne une contradiction. ■

Remark 2 *Plus le niveau initial de CycE/CDK2 est élevé, plus CycE/CDK2 atteint le seuil rapidement et donc plus le niveau initial de CycE/CDK2 est élevé, plus la durée de la phase G1 est courte.*

4.4 Modèle: pRb-CyclinE/CDK2-p27

Pour mieux décrire la phase G1, on a besoin d'ajouter une autre protéine essentielle dans le cycle cellulaire qui est l'inhibiteur de kinase (CDK inhibitor). Les inhibiteurs de kinases CDK sont en général des protéines régulatrices négatives qui se lient aux complexes Cyc/CDK et inhibent l'activité [90]. La protéine p27^{Kip} est un inhibiteur de kinase qui agit essentiellement sur l'activité de CycE/CDK2.

La production du p27 est liée au facteur de croissance beta (TGF- β). Ce dernier est l'élément principal de l'activation de l'inhibiteur p27 (Figure 4.0) [92].

Dans les cellules normales, le niveau du p27 croît au moment de l'entrée des cellules quiescentes dans la phase de repos G0 et décroît rapidement dès qu'elles réentrent dans le cycle cellulaire après une stimulation de TGF- β [88]. La majorité des tissus

expriment une quantité assez élevée de la protéine p27 et elle est fortement exprimée dans les cellules différenciées [92].

Par conséquent, la forte expression de p27 cause l'arrêt du cycle cellulaire dans la phase G1 [102]. Réciproquement, l'inhibition de l'expression de p27 conduit la cellule à quitter la phase G1 rapidement. Des pertes variables de p27 ont été observées pratiquement dans toutes les tumeurs humaines malignes [92]. Par ailleurs, p27 n'est pas uniquement un inhibiteur du complexe CycE/CDK2 mais il joue aussi le rôle de stocker CycE/CDK2. Donc le p27 joue une double fonction négative (répression du cycle cellulaire) et positive (stocker le complexe CycE/CDK2).

En effet, le p27 libre se lie à CycE/CDK2 qui devient par conséquent inactif et forme un nouveau complexe, le CycE/CDK2/p27. Par ailleurs, la CycE/CDK2 libre phosphoryle le p27 lié à CycE/CDK2 (CycE/CDK2/p27) et libère la CycE/CDK2 et favorise la progression du cycle (Figure 4.0). Une fois le p27 est phosphorylé, il ne peut plus se lier à la CycE/CDK2. Ainsi, on peut dire que CycE/CDK2/p27 est une source pour stocker la CycE/CDK2 [72].

Dans la suite, nous proposons un autre modèle mathématique avec quatre composantes comprenant le complexe CycE/CDK2, le pRb, l'inhibiteur de kinase p27 et le complexe CycE/CDK2/p27. Nous essayons de reproduire les interactions moléculaires mentionnées avant en ajoutant la troisième variable le p27 à la CycE/CDK2 et le pRb dans le premier modèle.

Soit x la quantité de la CycE/CDK2, y la concentration du pRb hypophosphorylé, z la quantité de l'inhibiteur de kinase p27 et w la quantité du complexe CycE/CDK2/p27.

Dans le modèle suivant, on considère que la formation de la CycE/CDK2 est produite

par l'effet indirect du pRb hyperphosphorylé et du complexe CycE/CDK2/p27. En effet, la formation de x dépend d'une part de la concentration $(R - y)$ et se produit par un taux k_0 et d'autre part de la phosphorylation de w qui libère x , ce qu'on représente par le terme $k_1 x w$ et finalement comme pour le premier modèle x est autodégradé avec un taux d_1 .

Pour le p27, on suppose que sa synthèse est provoquée par des stimulations extérieures. On prend k_3 étant le taux de croissance de p27.

D'autre part, comme on l'a expliqué précédemment, x se lie à z , x et z sont désactivés et forment w et donc, la synthèse de w se produit avec un taux k_1 mais cet effet va diminuer les quantités de x et de z .

Par ailleurs, pRb est phosphorylé principalement par CycE/CDK2 donc y décroît toujours et la phosphorylation se produit avec un taux d_2 .

Donc, le modèle mathématique peut être présenté comme suit:

$$\left\{ \begin{array}{l} \frac{dx}{da} = k_0(R - y) + k_1 x w - k_2 x z - d_1 x \\ \frac{dy}{da} = -d_2 x y \\ \frac{dz}{da} = k_3 - k_2 x z \\ \frac{dw}{da} = k_2 x z - k_1 x w \end{array} \right. \quad (4.2)$$

où tous les paramètres sont positifs ($k_i > 0 \ i = 1, 2, 3, d_i > 0 \ i = 1, 2, R > 0$) et comme conditions initiales on choisit x et y pareillement que le premier modèle, on prend une valeur arbitraire z_0 pour le p27 et finalement on suppose qu'au début du cycle w n'est pas encore formé.

$$\begin{cases} x(0) = x_0 \\ y(0) = R \\ z(0) = z_0 \\ w(0) = 0 \end{cases} \quad (4.3)$$

Maintenant, on s'intéresse au point d'équilibre et la stabilité de (4.2).

4.4.1 Stabilité et bifurcation

Le système (4.2) a un seul point d'équilibre

$$(x^*, y^*, z^*, w^*) = \left(\frac{k_0 R}{d_1}, 0, \frac{k_3 d_1}{k_2 k_0 R}, \frac{k_3 d_1}{k_1 k_0 R} \right). \quad (4.4)$$

Par le changement de variable suivant:

$$\tilde{x} = x - x^*, \tilde{y} = y - y^*, \tilde{z} = z - z^*, \tilde{w} = w - w^*,$$

on ramène l'origine des coordonnées de(4.2)au point d'équilibre et on obtient le système suivant:

$$\begin{pmatrix} \dot{\tilde{x}} \\ \dot{\tilde{y}} \\ \dot{\tilde{z}} \\ \dot{\tilde{w}} \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} -d_1 & -k_0 & \frac{k_1 k_0 R}{d_1} & -\frac{k_2 k_0 R}{d_1} \\ 0 & -\frac{d_2 k_0 R}{d_1} & 0 & 0 \\ -\frac{k_3 d_1}{k_0 R} & 0 & -\frac{k_2 k_0 R}{d_1} & 0 \\ 0 & 0 & \frac{k_2 k_0 R}{d_1} & -\frac{k_1 k_0 R}{d_1} \end{pmatrix} \begin{pmatrix} \tilde{x} \\ \tilde{y} \\ \tilde{z} \\ \tilde{w} \end{pmatrix} + \begin{pmatrix} k_1 \tilde{x} \tilde{w} - k_2 \tilde{x} \tilde{z} \\ -d_2 \tilde{x} \tilde{y} \\ -k_2 \tilde{x} \tilde{z} \\ k_2 \tilde{x} \tilde{z} - k_1 \tilde{x} \tilde{w} \end{pmatrix}. \quad (4.5)$$

Notons par

$$A = \begin{pmatrix} -d_1 & -k_0 & \frac{k_1 k_0 R}{d_1} & -\frac{k_2 k_0 R}{d_1} \\ 0 & -\frac{d_2 k_0 R}{d_1} & 0 & 0 \\ -\frac{k_3 d_1}{k_0 R} & 0 & -\frac{k_2 k_0 R}{d_1} & 0 \\ 0 & 0 & \frac{k_2 k_0 R}{d_1} & -\frac{k_1 k_0 R}{d_1} \end{pmatrix}$$

et

$$B = \begin{pmatrix} k_1 \tilde{x} \tilde{w} - k_2 \tilde{x} \tilde{z} \\ -d_2 \tilde{x} \tilde{y} \\ -k_2 \tilde{x} \tilde{z} \\ k_2 \tilde{x} \tilde{z} - k_1 \tilde{x} \tilde{w} \end{pmatrix}.$$

Proposition 4 *L'équilibre positif (x^*, y^*, z^*, w^*) est stable pour $k_3 < k^*$ et instable pour $k_3 > k^*$ et il y a une solution périodique au voisinage de la valeur $k_3 = k^*$.*

Proof. L'équation caractéristique associée à (4.5) au voisinage de (x^*, y^*, z^*, w^*) est donnée par l'équation suivante:

$$(\lambda + d_2 x^*) (\lambda^3 + (d_1 + (k_2 + k_1)x^*)\lambda^2 + (k_1 k_2 x^{*2} + d_1(k_2 + k_1)x^* - k_3 k_2)\lambda + d_1 k_1 k_2 x^{*2}) = 0. \quad (4.6)$$

L'équation (4.6) admet une valeur propre réelle négative:

$$\lambda_1 = -d_2 x^*,$$

une autre valeur propre réelle négative et deux autres complexes.

Par ailleurs, si

$$k_3 = k^* = \frac{x^*(k_2 + k_1)(d_1 + k_1 x^*)(d_1 + k_2 x^*)}{k_2(d_1 + (k_2 + k_1)x^*)}$$

alors (4.6) admet deux racines imaginaires pures

$$\lambda_{3,4} = \pm i\omega^* = \pm i x^* \sqrt{\frac{k_1 k_2 d_1}{d_1 + (k_1 + k_2)x^*}}.$$

Soit $\lambda_2 = \lambda_2(k_3)$ la seconde valeur propre réelle et $\lambda_{3,4}(k_3) = \alpha(k_3) \pm i\omega(k_3)$ les deux valeurs propres complexes de (4.5) où $\alpha(k^*) = 0$ et $\omega(k^*) = \omega^* > 0$.

On a:

$$\frac{d}{dk_3} \operatorname{Re}(\lambda) \Big|_{k_3=k^*} = \frac{2k_2 (d_1 + (k_1 + k_2)x^*)^2}{k_1 k_2 d_1 (x^{*2} - 3)^2 + 4 (d_1 + (k_1 + k_2)x^*)^2} > 0.$$

Alors, la condition de transversalité est satisfaite et une bifurcation de type Hopf se produit.

Donc, le point d'équilibre positif (x^*, y^*, z^*, w^*) est stable pour $k_3 < k^*$, instable pour $k_3 > k^*$ et par conséquent une solution périodique naît au voisinage de la valeur de bifurcation k^* . ■

Remark 3 *En terme de biologie on peut expliquer ça par:*

Si $k_3 < k^$, le point d'équilibre de (4.2) est stable donc la cellule passe à la phase S et peut continuer son cycle.*

Si $k_3 > k^$, le point d'équilibre est instable. Ce qui correspond à un niveau élevé de la production du p27et donc le cycle cellulaire va s'arrêter dans la phase G1.*

4.4.2 Direction de bifurcation

Notre but est de déterminer la nature de stabilité du point d'équilibre

$$(x^*, y^*, z^*, w^*) = \left(\frac{k_0 R}{d_1}, 0, \frac{k_3 d_1}{k_2 k_0 R}, \frac{k_3 d_1}{k_1 k_0 R} \right)$$

pour un k_3 dans un voisinage de k^* .

Soit $\lambda = \lambda(k_3) = \alpha(k_3) + i\omega(k_3)$

Lemma 5 *l'équation (4.5) est équivalente à l'équation*

$$\begin{pmatrix} \dot{u} \\ \dot{v} \\ \dot{r} \\ \dot{t} \\ \dot{k}_3 \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} \lambda_1 & 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & \lambda_2(k_3) & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & \alpha(k_3) & \omega(k_3) & 0 \\ 0 & 0 & -\omega(k_3) & \alpha(k_3) & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \end{pmatrix} \begin{pmatrix} u \\ v \\ r \\ t \\ k_3 \end{pmatrix} + F(u, v, r, t, k_3)$$

où $F = (F_1, F_2, F_3, F_4)$ est nonlinéaire en ses variables.

Proof. Notons par q_1, q_2, q_3 les vecteurs propres associés aux valeurs propres $\lambda_1, \lambda_2, \lambda_3$ respectivement, et par Q la matrice suivante:

$$Q = (q_1 \ q_2 \ \operatorname{Re}(q_3) \ \operatorname{Im}(q_3)),$$

En utilisant la transformation suivante:

$$\begin{pmatrix} \tilde{x} \\ \tilde{y} \\ \tilde{z} \\ \tilde{w} \end{pmatrix} = Q \begin{pmatrix} u \\ v \\ r \\ t \end{pmatrix},$$

nous obtenons le système suivant:

$$\begin{pmatrix} \dot{u} \\ \dot{v} \\ \dot{r} \\ \dot{t} \end{pmatrix} = A(k_3) \begin{pmatrix} u \\ v \\ r \\ t \end{pmatrix} + F(u, v, r, t, k_3) \quad (4.7)$$

où $F = (F_1, F_2, F_3, F_4)$ est nonlinéaire en ses variables

$$F = Q^{-1}B$$

$$\text{et } A(k_3) = \begin{pmatrix} \lambda_1 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & \lambda_2(k_3) & 0 & 0 \\ 0 & 0 & \alpha(k_3) & \omega(k_3) \\ 0 & 0 & -\omega(k_3) & \alpha(k_3) \end{pmatrix}. \blacksquare$$

Maintenant, on considère le paramètre k_3 comme une nouvelle variable ainsi on changera le système (4.5) dépendant du paramètre à un système indépendant du paramètre:

$$\begin{pmatrix} \dot{u} \\ \dot{v} \\ \dot{r} \\ \dot{t} \\ \dot{k}_3 \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} \lambda_1 & 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & \lambda_2(k_3) & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & \alpha(k_3) & \omega(k_3) & 0 \\ 0 & 0 & -\omega(k_3) & \alpha(k_3) & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \end{pmatrix} \begin{pmatrix} u \\ v \\ r \\ t \\ k_3 \end{pmatrix} + F(u, v, r, t, k_3) \quad (4.8)$$

Cependant, le système (4.8) est nonlinéaire et c'est évident que $(0, 0, 0, 0, k^*)$ est un point fixe de (4.8).

Lemma 6 *Le système linéarisé correspondant à (4.8) admet $\pm i\omega^*$, 0 , λ_1 et $\lambda_2(k^*)$ comme valeurs propres.*

En utilisant la théorie de la variété centre [110], on peut étudier la stabilité de (x^*, y^*, z^*, w^*) au voisinage de $k_3 = k^*$.

Réduction à la variété centre

Nous réduisons le système (4.8) à une variété centre et nous utilisons la procédure de Poincaré pour l'étude de la bifurcation du système réduit.

Proposition 7 *Il existe une variété bidimensionnelle invariante $\begin{pmatrix} h_1 \\ h_2 \end{pmatrix}$ de classe C^1 , satisfaisant $h_1(0,0,k^*) = h_2(0,0,k^*) = 0$ et $Dh_1(0,0,k^*) = Dh_2(0,0,k^*) = 0$*

telle que: si $\begin{pmatrix} u \\ v \\ r \\ t \\ k_3 \end{pmatrix}$ est la solution du système (4.8) alors $\begin{cases} u = h_1(r, t, k_3) \\ v = h_2(r, t, k_3) \end{cases}$, où

$$\begin{pmatrix} r \\ t \\ k_3 \end{pmatrix} \text{ est la solution de } \begin{cases} \dot{r} = \alpha(k_3)r + \omega(k_3)t + G_1(r, t, k_3) \\ \dot{t} = \alpha(k_3)t - \omega(k_3)r + G_2(r, t, k_3) \\ \dot{k}_3 = 0 \end{cases} .$$

calcul de la variété centre

La variété centre se présente comme suit:

$$\begin{cases} u = h_1(r, t, k_3) \\ v = h_2(r, t, k_3) \end{cases} \quad (4.9)$$

et donc cette variété centre satisfait le système suivant:

$$\begin{cases} \dot{u} = \frac{\partial h_1}{\partial r} \dot{r} + \frac{\partial h_1}{\partial t} \dot{t} \\ \dot{v} = \frac{\partial h_2}{\partial r} \dot{r} + \frac{\partial h_2}{\partial t} \dot{t} . \end{cases} \quad (4.10)$$

En utilisant (4.7) et en remplaçant (4.9) dans (4.10) on obtient:

$$\left\{ \begin{array}{l} \lambda_1 h_1(r, t, k_3) + F_1(h_1(r, t, k_3), h_2(r, t, k_3), r, t, k_3) \\ = \frac{\partial h_1}{\partial r}(r, t, k_3)(\omega t + F_3(h_1(r, t, k_3), h_2(r, t, k_3), r, t, k_3)) \\ + \frac{\partial h_1}{\partial t}(r, t, (-\omega r + F_4(h_1(r, t, k_3), h_2(r, t, k_3), r, t, k_3))) \\ \lambda_2 h_2(r, t, k_3) + F_2(h_1(r, t, k_3), h_2(r, t, k_3), r, t, k_3) \\ = \frac{\partial h_2}{\partial r}(r, t, k_3)(\omega t + F_3(h_1(r, t, k_3), h_2(r, t, k_3), r, t, k_3)) \\ + \frac{\partial h_2}{\partial t}(r, t, (-\omega r + F_4(h_1(r, t, k_3), h_2(r, t, k_3), r, t, k_3))) \end{array} \right. \quad (4.11)$$

où F_1 et F_2 sont nonlinéaires et on suppose que h_1 et h_2 ont la forme suivante:

$$h_1(r, t, k_3) = a_1(k_3)t + a_2(k_3)r + a_3(k_3)r^2 + a_4(k_3)rt + a_5(k_3)t^2 + o(r^2, t^2, rt) \quad (4.12)$$

$$h_2(r, t, k_3) = b_1(k_3)t + b_2(k_3)r + b_3(k_3)t^2 + b_4(k_3)rt + b_5(k_3)r^2 + o(r^2, t^2, rt).$$

En remplaçant (4.12) dans (4.11).

Pour calculer les paramètres a_i, b_i $i = 1, \dots, 5$, en utilisant Maple et en identifiant les coefficients des termes de même puissance on obtient:

$$\left\{ \begin{array}{l} a_1(k_3) = a_2(k_3) = 0 \\ b_1(k_3) = b_2(k_3) = 0 \end{array} \right.$$

et $a_3(k_3), a_4(k_3), a_5(k_3), b_3(k_3), b_4(k_3), b_5(k_3)$ sont différents de zéro

Procédure de Poincaré

Le système (4.7) est réduit sur la variété centre au système suivant:

$$\left\{ \begin{array}{l} \dot{r} = \alpha(k_3)r + \omega(k_3)t + G_1(r, t, k_3) \\ \dot{t} = \alpha(k_3)t - \omega(k_3)r + G_2(r, t, k_3) \\ \dot{k}_3 = 0 \end{array} \right. \quad (4.13)$$

où G_1, G_2 sont nonlinéaires en r et t .

On suppose que (4.13) admet une solution périodique et on va construire la fonction de Poincaré notée P . Le point fixe de P correspond à l'orbite periodique de (4.13)).

Pour faciliter la procédure on utilise les coordonnées polaires pour (4.13). Soit

$$r(a) = \rho(a) \cos(\theta(a))$$

$$t(a) = \rho(a) \sin(\theta(a))$$

avec

$$\rho(0) = \rho_0 \text{ and } \theta(0) = 0.$$

Donc, on a

$$\begin{cases} \dot{\rho} = \alpha(k_3)\rho + \tilde{G}_1(\rho, \theta, k_3) \cos(\theta) + \tilde{G}_2(\rho, \theta, k_3) \sin(\theta) \\ \rho\dot{\theta} = \omega(k_3)\rho + \tilde{G}_2(\rho, \theta, k_3) \cos(\theta) - \tilde{G}_1(\rho, \theta, k_3) \sin(\theta), \end{cases} \quad (4.14)$$

où

$$\tilde{G}_1(\rho, \theta, k_3) = G_1(\rho \cos(\theta), \rho \sin(\theta), k_3)$$

$$\tilde{G}_2(\rho, \theta, k_3) = G_2(\rho \cos(\theta), \rho \sin(\theta), k_3).$$

On pose

$$\psi(\rho, \theta, k_3) = \begin{cases} \omega(k_3) + \frac{\tilde{G}_2(\rho, \theta, k_3) \cos(\theta) - \tilde{G}_1(\rho, \theta, k_3) \sin(\theta)}{\rho} & \text{if } \rho \neq 0 \\ \omega(k_3) & \text{if } \rho = 0 \end{cases}$$

où $\omega(k_3) > 0$.

Ceci nous mène à l'équation scalaire suivante:

$$\frac{d\rho}{d\theta} = \Gamma(\rho, \theta, k_3), \quad \rho(0) = \rho_0, \quad (4.15)$$

où

$$F(\rho, \theta, k_3) = \frac{\alpha(k_3)\rho + \tilde{G}_1(\rho, \theta, k_3) \cos(\theta) + \tilde{G}_2(\rho, \theta, k_3) \sin(\theta)}{\psi(\rho, \theta, k_3)} \quad (4.16)$$

Proposition 8 *La branche bifurquée est super-critique., C'est à dire qu'une orbite périodique stable apparaît à droite de k^* .*

Proof. On définit la fonction de Poincaré, $P : [k^* - \varepsilon, k^* + \varepsilon] \times [0, +\infty[\rightarrow \mathfrak{R}$, avec ε petit, donnée par:

$$P(k_3, \rho_0) = \rho(2\pi, k_3, \rho_0) \quad (4.17)$$

La solution périodique nontriviale de (4.13) correspond au point fixe de la fonction de Poincaré $P(k_3, \rho_0)$.

On a $P(k_3, 0) = 0 \forall k_3$ et on veut chercher $\rho_0 \neq 0$ pour lequel on a une solution périodique.

On considère la fonction suivante:

$$Q(k_3, \rho_0) = \frac{P(k_3, \rho_0)}{\rho_0} - 1 \quad (4.18)$$

En utilisant (4.15), on a

$$Q(k^*, 0) = 0.$$

On montre que

$$\frac{\partial Q}{\partial k_3}(k^*, 0) = 2\pi \frac{\alpha'(k^*)}{\omega(k^*)} \neq 0$$

En effet, étant donnée que la fonction $(\rho, \theta, k_3) \rightarrow F(\rho, \theta, k_3)$ est de classe C^k , on a:

$$\rho(\theta, k_3, \rho_0) = \varphi_1(\theta, k_3)\rho_0 + \varphi_2(\theta, k_3)\rho_0^2 + \dots + \varphi_k(\theta, k_3)\rho_0^k + \varphi(\theta, k_3, \rho_0) \quad (4.19)$$

où ρ est la solution de (4.15) et $\varphi(\theta, k_3, \rho_0)$ est de degré supérieur à k .

Alors

$$\frac{\partial \rho}{\partial \theta}(\theta, k_3, \rho_0) = \Gamma(\rho, \theta, k_3) = \frac{\partial \varphi_1}{\partial \theta}(\theta, k_3)\rho_0 + \frac{\partial \varphi_2}{\partial \theta}(\theta, k_3)\rho_0^2 + \dots + \frac{\partial \varphi_k}{\partial \theta}(\theta, k_3)\rho_0^k + \frac{\partial \varphi}{\partial \theta}(\theta, k_3). \quad (4.20)$$

Par ailleurs, on a

$$F(\rho, \theta, k_3) = F(0, \theta, k_3) + \frac{\partial F}{\partial \rho}(0, \theta, k_3)\rho + \frac{\partial^2 F}{\partial \rho^2}(0, \theta, k_3)\rho^2 + \dots + \frac{\partial^k F}{\partial \rho^k}(0, \theta, k_3)\rho^k + o(\rho^k). \quad (4.21)$$

A partir de (4.20) on obtient que $F(0, \theta, k_3) = 0$.

En remplaçant (4.19) dans (4.21), on a:

$$\begin{cases} \frac{\partial \varphi_1}{\partial \theta}(\theta, k_3) = \frac{\partial F}{\partial \rho}(0, \theta, k_3)\varphi_1(\theta, k_3) \\ \frac{\partial \varphi_2}{\partial \theta}(\theta, k_3) = \frac{\partial F}{\partial \rho}(0, \theta, k_3)\varphi_2(\theta, k_3) + \frac{\partial^2 F}{\partial \rho^2}(0, \theta, k_3)\varphi_1^2(\theta, k_3) \\ \frac{\partial \varphi_3}{\partial \theta}(\theta, k_3) = \frac{\partial F}{\partial \rho}(0, \theta, k_3)\varphi_3(\theta, k_3) + 2\frac{\partial^2 F}{\partial \rho^2}(0, \theta, k_3)\varphi_1(\theta, k_3)\varphi_2(\theta, k_3) + \frac{\partial^3 F}{\partial \rho^3}(0, \theta, k_3)\varphi_1^3(\theta, k_3) \end{cases} \quad (4.22)$$

D'autre part

$$\rho(0, k_3, \rho_0) = \varphi_1(0, k_3)\rho_0 + \varphi_2(0, k_3)\rho_0^2 + \dots + \varphi_k(0, k_3)\rho_0^k + \varphi(0, k_3, \rho_0) = \rho_0 \quad \forall \rho_0 > 0 \quad (4.23)$$

alors

$$\begin{aligned} \varphi_1(0, k_3) &= 1 \\ \varphi_i(0, k_3) &= 0 \quad i \geq 2. \end{aligned} \quad (4.24a)$$

En utilisant l'expression (4.16), (4.22) et la condition initiale (4.24a), on obtient

$$\begin{cases} \varphi_1(\theta, k_3) = \exp\left(\frac{\alpha(k_3)}{\omega(k_3)}\theta\right) \implies \varphi_1(\theta, k^*) = 0 \\ \varphi_2(\theta, k^*) = \int_0^\theta \frac{\partial^2 F}{\partial \rho^2}(0, s, k^*)ds = 0 \\ \varphi_3(\theta, k^*) = \int_0^\theta \frac{\partial^3 F}{\partial \rho^3}(0, s, k^*)ds. \end{cases} \quad (4.25)$$

Donc, de (4.18), (4.17) et (4.19) on a

$$\frac{\partial Q}{\partial k_3}(k^*, 0) = \frac{\partial \varphi_1}{\partial k_3}(2\pi, k^*) = 2\pi \frac{\alpha'(k^*)}{\omega(k^*)} \neq 0.$$

et donc par le théorème des fonctions implicites on conclut qu'il existe une fonction

$k_3 = \phi(\rho_0)$, (ρ_0 petit et k_3 au voisinage de k^*) tel que:

$$\begin{cases} Q(\phi(\rho_0), \rho_0) = 0, \\ \phi(0) = k^*. \end{cases} \quad (4.26)$$

A partir de (4.26), on a

$$\phi'(\rho_0) \frac{\partial Q}{\partial k_3}(\phi(\rho_0), \rho_0) + \frac{\partial Q}{\partial \rho_0}(\phi(\rho_0), \rho_0) = 0,$$

et

$$\phi''(0) 2\pi \frac{\alpha'(k^*)}{\omega(k^*)} + \frac{\partial^2 Q}{\partial \rho_0^2}(k^*, 0) = 0.$$

En utilisant les expressions précédentes et avec l'aide de Maple on peut calculer $\frac{\partial Q}{\partial \rho_0}$ et $\frac{\partial^2 Q}{\partial \rho_0^2}$, et donc on obtient:

$$\frac{\partial Q}{\partial \rho_0}(k^*, 0) = \varphi_2(2\pi, k^*) = 0,$$

et

$$\frac{\partial^2 Q}{\partial \rho_0^2}(k^*, 0) = 2\varphi_3(2\pi, k^*) = 2 \int_0^{2\pi} \frac{\partial^3 F}{\partial \rho^3}(0, s, k^*) ds \neq 0$$

donc

$$\frac{\partial^2 Q}{\partial \rho_0^2}(k^*, 0) < 0.$$

Ce qui va nous donner

$$\phi'(0) = 0.$$

et pour $k_3 = k^*$

$$\phi''(0) > 0.$$

Nous obtenons alors un développement de la branche bifurquée comme suit:

$$\phi(\rho_0) = k^* + \phi''(0)\rho_0^2.$$

Donc, on a une bifurcation de Hopf au voisinage de l'équilibre de (4.2) quand k_3 passe par une valeur critique k^* et cette branche bifurquée est super-critique. ■

Remark 4 *La solution périodique correspond à toutes les possibilités que la solution peut atteindre. C'est à dire que si la valeur seuil appartient à cette solution périodique alors la cellule peut passer à la phase S, sinon elle reste bloquée dans la phase G1 et le cycle cellulaire est arrêté.*

4.5 Resultats numériques

Le résultat obtenu jusqu'ici est partiel. Ceci est dû au fait que le modèle étudié est un système multidimensionnel et donc pour compléter l'étude locale, des outils de simulation peuvent être utiles. Le plus grand souci de ces outils concerne le choix des paramètres du modèle et des unités de temps. Cependant, il peut servir à décrire quelques comportements des protéines expérimentalement démontrés et nous pouvons évaluer quelques hypothèses intéressantes et prévoir les comportements des protéines. Dans cette section, nous décrivons le comportement global des solutions par l'étude numérique des deux modèles précédents (4.1) et (4.2).

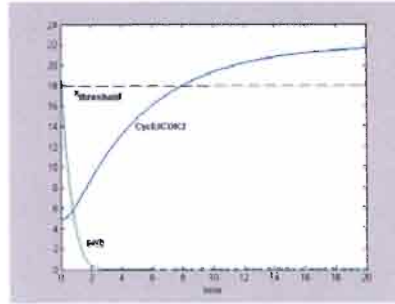


Figure 4.1: Simulation de (4.1) avec les valeurs de paramètres $x_0 = 5$, $k = 0.2$, $d_1 = 0.2$, $d_2 = 0.2$, $x_{\min} = 2$ et $R = 20$.

Comme déjà démontré dans (2), la figure 4.1 montre que initialement puisque la concentration du pRb hypophosphorylé est élevé, CycE/Cdk2 décroît, ensuite le pRb est progressivement phosphorylé par CycE/CDK2 et stimule la production du complexe en libérant le E2F lié au pRb. Après le complexe commence à croître et finalement atteint le seuil. Sur la figure 4.2.b, on montre que plus le pRb est rapidement phosphorylé plus le CycE/CDK2 atteint rapidement le seuil. Ceci est également prouvé dans [20] qui utilise le modèle de Kohn [54]. Par ailleurs, plus la concentration initiale de pRb est élevé, plus le complexe atteint rapidement le seuil (Figure 4.2.a).

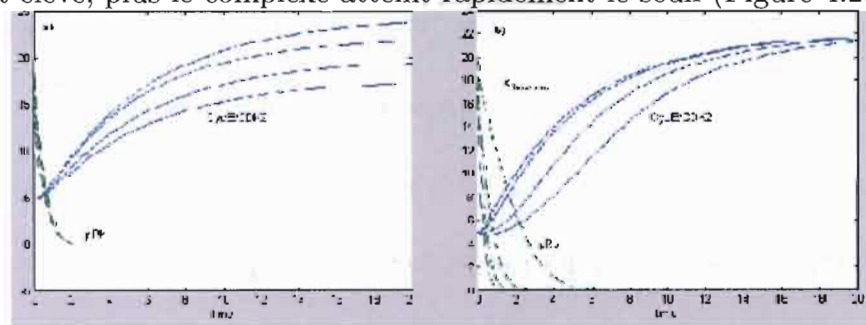


Figure 4.2: Simulation de (4.1) avec les valeurs

a) différentes valeurs initiales du pRb, $R=14, R=16, R=18, R=20$

b) différents taux de phosphorylation de pRb, $d_2=0.05, d_2=0.1, d_2=0.3, d_2=0.5$.

Ces résultats peuvent être expliqués comme suit: quand le pRb est sur sa forme

active (hypophosphorylé), il empêche la synthèse de CycE/CDK2 puisqu'il se lie à E2F et bloque son activité et qu'on suppose que ce dernier est responsable de la synthèse de la Cycline E en activant le gene de la CyclinE. Par ailleurs, pRb est une source de stockage de E2F et en le phosphorylant il libère le E2F et donc plus le niveau de E2F est élevé plus on a de la CyclineE synthétisée.

Donc, pour une concentration initiale élevée de pRb et pour une quantité de CycE/Cdk2 élevé le complex CycE/Cdk2 peu phosphorylé rapidement le pRb, libérant beaucoup le E2F et donc atteint rapidement le seuil ce qui conduit la cellule à passer à la phase S. Sinon, si la concentration initiale du pRb n'est pas assez élevé et que sa phosphorylation par le CycE/CDK2 n'est pas assez forte (i.e. le paramètre k est petit), alors le CycE/CDK2 peut croître mais n'atteint jamais le seuil et empêche la cellule de commencer la phase S (voir Figure 4.3.a). D'autre part le pRb hypophosphorylé décroît toujours vers zéro dans la phase G1. Ce qui explique qu'au début de la phase G1, le pRb est complètement hypophosphorylé et durant la phase G1 il est phosphorylé par le complexe CycE/CDK2 et finalement il devient complètement hyperphosphorylé au moment de la transition G1/S [67].

Dans le système (4.2), on a ajouté l'inhibiteur de kinase p27 dans le modèle.

Dans figure 4.3, on montre que pour une faible quantité de l'inhibiteur de kinase p27 alors le complexe CycE-CDK2 croît et atteint le seuil comme pour le modèle (4.1). Ceci explique que quand le niveau de CycE/CDK2 excède largement celui du p27 alors le p27 libre se lie à CycE/CDK2 et inhibe l'activité du complexe mais puisque la quantité du CycE/CDK2 est assez élevée, le p27 attaché au complexe va être rapidement phosphorylé et devient inactif. Ce qui va l'empêcher de se relié à

CycE/CDK2.

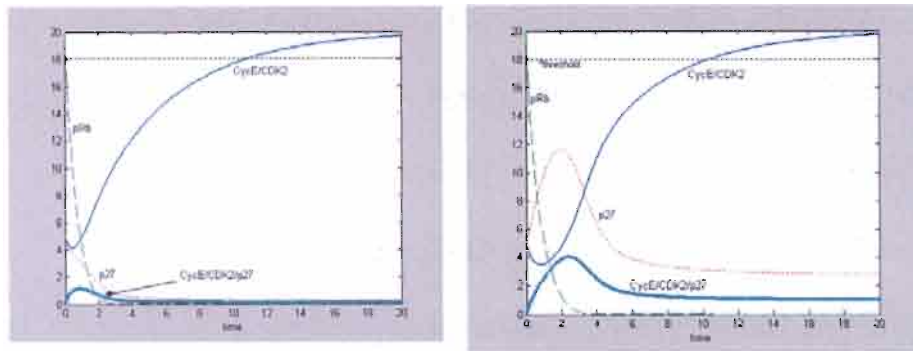


Figure 4.3: Simulation de (4.2) avec les valeurs de paramètres suivantes:

$$x_0 = 5, z_0 = 5, k_0 = 0.2, k_1 = 0.5, k_2 = 0.18, d_1 = 0.2, d_2 = 0.5 \text{ and } R = 20$$

pour la première figure $k_3 = 1$ et pour la deuxième $k_3 = 15$

Donc, quand le niveau de p27 est faible, l'évolution de CycE/CDK2 n'est pas très sensible à l'effet inhibiteur du p27, ce qui explique que en comparant (Figure 4.1, Figure 4.3) le comportement de la solution du modèle (4.2) est le même que celui de (4.1) mais tout en acceptant l'hypothèse que la cellule ne peut passer de la phase G1 à la phase S même si le complexe CycE/CDK2 a déjà atteint la valeur seuil avant un temps minimum depuis le début du cycle (voir [23] pour un appui expérimental de cette hypothèse). Si le niveau de p27 n'est pas très élevé alors le cycle cellulaire peut continuer mais il est ralenti.

Par ailleurs, les effets inhibiteurs dans la cellule peuvent être bénéfique à l'organisme. En effet, en ajoutant dans la cellule certains médicaments qui agissent sur des protéines régulatrices du cycle cellulaire, les biologistes essayent d'arrêter le cycle surtout pour des tissus cancéreux. Une des méthode utilisée pour inhiber les cellules cancéreuses est d'ajouter des substances (des médicaments) qui stimulent l'activité des inhibiteurs de kinases.

Dans le (4.2) on remarque que pour un niveau élevé du p27, le complexe ne peut atteindre la valeur seuil et la progression du cycle cellulaire est donc arrêtée. Dans ce cas le p27 joue son rôle d'inhibiteur.

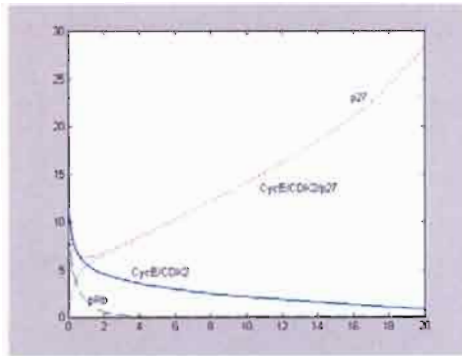


Figure 4.4

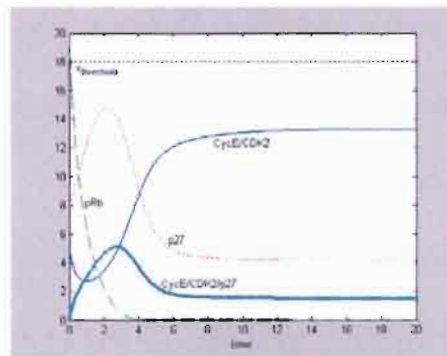


Figure 4.5

On sait qu'au voisinage de l'équilibre (4.4) et pour un taux de croissance de p27 proche de la valeur critique, (4.2) a bien une solution périodique. Donc, en choisissant une condition initiale proche de l'équilibre et d'une valeur de k_3 proche de la valeur critique on voit sur (figure 4.6) qu'on a cette solution périodique et ceci correspond à une situation bien particulière du comportement des substances où CytE/CDK2 peut atteindre le seuil et donc la cellule passe à la phase suivante ou elle peut bien rester dans la phase G1.

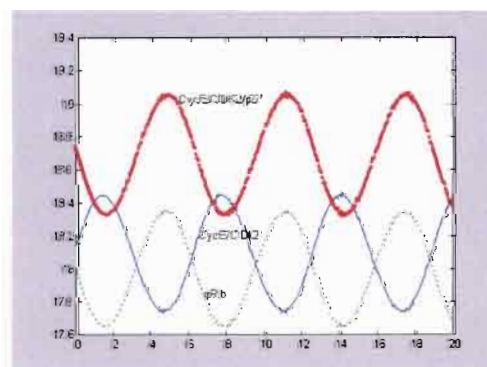


Figure 4.6

4.6 Conclusion et remarques

Les interactions moléculaires dans la phase G1 sont un réseau complexe et impliquent beaucoup de protéines. Dans ce travail nous avons tenter de modéliser seulement les mécanismes moléculaires qui se produisent à la fin de la phase G1 et au moment de la transition G1/S [20] [45] [54].

Basé sur l'hypothèse que la phase de S ne commence que quand le complexe CycE/CDK2 atteint un seuil, nous nous sommes intéressé à étudier l'activité du CycE/CDK2. Nous supposons que le retinoblastoma et les p27 sont les principales protéines régulant la production et l'inhibition du CycE/CDK2 complexe [20].

Un premier modèle a été établi et on voit clairement que le Retinoblastome diminue toujours dans la phase G1 et le CycE/CDK2 peut atteindre le seuil. Ces résultats sont bien soutenus par des expériences sur les cellules normales où aucun inhibiteur de kinase ne peut arrêter le cycle.

Par ailleurs, l'arrêt du cycle cellulaire est un phénomène important pour empêcher les cancers de se développer. Dans le premier modèle, l'arrêt du cycle ne peut pas se produire. Ceci peut se produire quand l'activité de CycE/CDK2 est bloquée avant d'atteindre le seuil.

Pour certains cancers, le cycle cellulaire peut être arrêté dans la phase G1 en injectant une drogue qui augmente l'activité du p27.

Ainsi, dans le (4.2) on ajoute le p27 qui joue un rôle important pour bloquer l'activité de CycE/CDK2 et arrêter le cycle cellulaire dans la phase G1 [88].

En termes de modèle (4.2), on a vu précédemment que pour une valeur critique du

taux de croissance du p27, on a un changement de stabilité tel que si $k_3 < k^*$ l'unique équilibre de (4.2) est stable et donc la cellule passe de la phase G1 à la phase S et continue son cycle par contre si $k_3 > k^*$ alors cet équilibre est instable ce qui correspond à une croissance du p27 élevée qui mène la cellule à arrêter son cycle.

d'autre part si k_3 est proche de k^* une bifurcation super-critique se produit et ainsi une solution périodique stable apparaît à droite de k^* . Ceci est un phénomène intéressant qui peut correspondre à tous les points possibles que la solution puisse atteindre. Donc ou bien le seuil appartient à cette orbite périodique et donc le CycE/CDK2 peut l'atteindre ce qui permet à la cellule de passer à la phase S ou bien il n'appartient pas à cette orbite et donc le CycE/CDK2 ne peut pas atteindre le seuil et la cellule reste en G1.

Ainsi, dans (4.2) on remarque l'importance de l'effet du taux de croissance de l'inhibiteur de kinase p27. De plus, l'expérience appuie le fait que le p27 est une substance importante pour empêcher la progression de certains cancers [88] spécialement quand le niveau du p27 est élevé.

Par ailleurs, dans la partie 4.4 nous avons fait une étude locale du modèle (4.2) et nous avons décrit certaines propriétés globales de ce modèle par des simulations numériques en utilisant Matlab.

Finalement, dans la dernière partie (4.5), on reproduit certains résultats expérimentaux en faisant varier les paramètres du modèle. D'une part, on considère les situations où la transition de la cellule de la phase G1 à la phase S se produit, c'est à dire quand le niveau de CycE/CDK2 atteint une valeur seuil (Figure 4.3) avec des durées de la phase G1 variables selon le taux de p27 et de la concentration du Rétinoblas-

tome et d'autre part nous avons montré les situations où le cycle s'arrête et comment l'inhibiteur p27 agit sur le comportement des solutions du modèle.

La distribution de certaines substances pendant la division cellulaire n'est pas égale, ce qui affecte certainement les cycles cellulaires suivants.

4.7 Formulation mathématique des phases S, G2 et M

Dans cette partie, nous décrivons l'évolution des quatres protéines choisies pour notre modèle durant le reste du cycle cellulaire (phase S, G2 et M). Avant d'écrire les équations nous énonçons quelques propriétés et hypothèses qu'on va utiliser par la suite.

Proposition 9 *Soient deux conditions initiales $(x_1(0), R, z_0, 0)$ et $(x_2(0), R, z_0, 0)$ telles que $x_1(0) < x_2(0)$ alors*

$$\forall a > 0 : x_1(a) < x_2(a).$$

Proof. on suppose qu'il existe \tilde{a} tel que $x_1(\tilde{a}) = x_2(\tilde{a})$. On a

$$\left. \begin{array}{l} x_1(a) < x_2(a), 0 < a < \tilde{a} \\ x_1(\tilde{a}) = x_2(\tilde{a}) \end{array} \right\} \implies x'_1(\tilde{a}) \geq x'_2(\tilde{a}).$$

D'autre part on a

$$\begin{aligned} y(a) &= Re^{-d_2 \int_0^a x(s) ds}, \\ z(a) &= z_0 e^{-k_2 \int_0^a x(\alpha) d\alpha} + k_3 \int_0^a e^{-k_2 \int_\alpha^a x(\alpha) ds} d\alpha \\ \text{et } w(a) &= k_2 \int_0^a x(s) z(s) e^{-k_1 \int_\alpha^a x(\alpha) ds} d\alpha \end{aligned}$$

alors

$$y_2(\tilde{a}) < y_1(\tilde{a}),$$

$$z_2(\tilde{a}) < z_1(\tilde{a}),$$

$$w_2(\tilde{a}) > w_1(\tilde{a}),$$

et donc $x'_1(\tilde{a}) < x'_2(\tilde{a})$. ce qui donne une contradiction. ■

Nous avons supposé que la transition des cellules de la phase G1 à la phase S s'effectue au moment où le complexe cycE/CDK2 atteint la valeur x_{seuil} avec un temps minimal T_{min} c'est à dire que si la quantité du complexe cycE/CDK2 dans la cellule atteint x_{seuil} avant l'âge T_{min} alors elle reste en phase G1 jusqu'à T_{min} pour passer à la phase suivante. Par conséquent la durée de la phase G1 est variable et dépend de la condition initiale x_0 .

On note par $T_1(x_0)$ l'âge de la cellule quand celle ci quitte la phase G1:

$$T_1(x_0) = \begin{cases} a : \varphi_1(a, x_0) = x_{seuil} & , \text{ si } 0 < x_0 \leq \hat{x} \\ T_{min} & , \text{ si } \hat{x} \leq x_0 \leq x_{seuil} \end{cases} \quad (4.27)$$

où $\varphi_1(a, x_0)$ est la solution correspondant à la première variable du système (4.2) avec la condition initiale $x(0) = x_0$ (on néglige $y(0)$ et $z(0)$ car on les suppose fixes). Par ailleurs, \hat{x} correspond à la valeur où

$$\varphi_1(T_{min}, \hat{x}) = x_{seuil}.$$

On a

$$\varphi_1(T_1(x_0), x_0) = x_{seuil} \text{ pour } 0 < x_0 \leq \hat{x}.$$

Dans le deuxième cas, la durée de G1 est la même mais au moment de la transition à la phase S la quantité de x est une fonction croissante de x_0 et donc

$$\varphi_1(T_{min}, x_0) \geq x_{seuil} \text{ pour } \hat{x} \leq x_0 \leq x_{seuil}.$$

Dans la suite, on suppose que z est bornée. Cette hypothèse est tout à fait cohérente avec la réalité puisque le passage de la cellule de la phase G1 à la phase S ne s'effectue

que si x atteint la valeur seuil x_{seuil} et comme on l'a vu précédemment une valeur très élevée de z peut empêcher x à atteindre ce seuil.

Alors

$$\exists z_{\max} > 0 \text{ tel que } \forall a > 0 \ z(a) \leq z_{\max}$$

Proposition 10 *Si z est bornée alors la solution de (4.2) satisfait la condition suivante*

$$\exists x_{\min} > 0 \text{ tel que } \forall a > 0 \ x(a) \geq x_{\min}$$

Proof. On va prouver que x n'atteint jamais zéro. En effet, si on suppose qu'il existe $\tilde{a} > 0$ (le premier) tel que

$$x(\tilde{a}) = 0,$$

alors $x'(\tilde{a}) = k_0(R - y(\tilde{a}))$. Or,

$$y(a) = Re^{-d_2 \int_0^a x(s) ds} \leq R,$$

donc

$$x'(\tilde{a}) > 0.$$

D'autre part on a

$$\frac{x(a) - x(\tilde{a})}{a - \tilde{a}} \leq 0 \text{ pour tout } a < \tilde{a}$$

et donc la dérivée à gauche de x au point \tilde{a} est négative ce qui donne une contradiction.

Alors

$$\forall a > 0, \ x(a) > 0.$$

puisque x est continue alors ceci va nous permettre de dire

$$\exists x_{\min} > 0 \text{ tel que } \forall a \in [0, T_1(x_0)] \ x(a) \geq x_{\min}.$$

■

Proposition 11 *Si les paramètres du modèle (4.2) satisfont la condition suivante:*

$$k_0 R(1 - e^{-d_2 T_{\min} x_{\min}}) > x_{\text{seuil}}(k_2 z_{\max} + d_1) \quad (4.28)$$

alors pour tout $x_0 \geq x_{\min}$, x est croissante pour $a \in [T_{\min}, T_1(x_0)]$.

Proof. On a

$$\frac{\partial \varphi_1}{\partial a} = k_0 (R - y(a)) + k_1 x(a) w(a) - k_2 x(a) z(a) - d_1 x(a),$$

or

$$y(a) \leq R e^{-d_2 T_{\min} x_{\min}}$$

$$\text{et } z(a) \leq z_{\max}$$

ce qui implique que

$$\begin{aligned} \frac{\partial \varphi_1}{\partial a} &\geq k_0 (R - y(a)) - k_2 x(a) z(a) - d_1 x(a) \\ &\geq k_0 R(1 - e^{-d_2 T_{\min} x_{\min}}) - k_2 x_{\text{seuil}} z_{\max} - d_1 x_{\text{seuil}} \end{aligned}$$

et donc

$$\text{si } k_0 R(1 - e^{-d_2 T_{\min} x_{\min}}) > x_{\text{seuil}}(k_2 z_{\max} + d_1)$$

alors φ_1 est croissante par rapport à sa première variable. ■

Proposition 12 *L'âge $T_1(x_0)$ de la cellule nécessaire pour passer à la phase S est une fonction décroissante par rapport à la condition initiale x_0*

Proof. On sait que φ_1 est une fonction croissante par rapport à sa deuxième variable x_0 . Si les paramètres du système (4.2) satisfont (4.28) alors φ_1 est croissante également par rapport à sa première variable $\forall a \in [T_{\min}, T_1(x_0)]$.

D'autre part puisque $\varphi_1(T_1(x_0), x_0) = x_{seuil}$ alors on a:

$$\frac{\partial \varphi_1}{\partial a} \Big|_{a=T_1(x_0)} T_1'(x_0) + \frac{\partial \varphi_1}{\partial x_0} = 0 \implies T_1'(x_0) = -\frac{\frac{\partial \varphi_1}{\partial x_0}(T_1(x_0), x_0)}{\frac{\partial \varphi_1}{\partial a}(T_1(x_0), x_0)} < 0, \forall x_0 : 0 \leq x_0 \leq \hat{x}$$

■

En récapitulant, le passage de la phase S correspond aux valeurs des variables (x, y, z, w) (solution de (4.2)) suivantes:

$$\begin{aligned} x(T_1(x_0)) &= \begin{cases} x_{seuil} & \text{si } x_{\min} \leq x_0 \leq \hat{x} \\ \varphi_1(T_{\min}, x_0) & \text{si } \hat{x} \leq x_0 \leq x_{seuil} \end{cases} \\ y(T_1(x_0)) &= \begin{cases} R e^{-d_2 \int_0^{T_1(x_0)} \varphi_1(\alpha, x_0) d\alpha} & \text{si } x_{\min} \leq x_0 \leq \hat{x} \\ R e^{-d_2 \int_0^{T_{\min}} \varphi_1(\alpha, x_0) d\alpha} & \text{si } \hat{x} \leq x_0 \leq x_{seuil} \end{cases} \\ z(T_1(x_0)) &= \begin{cases} z_0 e^{-k_2 \int_0^{T_1(x_0)} \varphi_1(\alpha, x_0) d\alpha} \\ + \int_0^{T_1(x_0)} e^{-k_2 \int_\alpha^{T_1(x_0)} \varphi_1(s, x_0) ds} d\alpha & \text{si } x_{\min} \leq x_0 \leq \hat{x} \\ z_0 e^{-k_2 \int_0^{T_{\min}} \varphi_1(\alpha, x_0) d\alpha} \\ + k_3 \int_0^{T_{\min}} e^{-k_2 \int_\alpha^{T_{\min}} \varphi_1(s, x_0) ds} d\alpha & \text{si } \hat{x} \leq x_0 \leq x_{seuil} \end{cases} \\ w(T_1(x_0)) &= \begin{cases} \int_0^{T_1(x_0)} x(\alpha) z(\alpha) e^{-k_1 \int_\alpha^{T_1(x_0)} \varphi_1(s, x_0) ds} d\alpha & \text{si } x_{\min} \leq x_0 \leq \hat{x} \\ \int_0^{T_{\min}} x(\alpha) z(\alpha) e^{-k_1 \int_\alpha^{T_{\min}} \varphi_1(s, x_0) ds} d\alpha & \text{si } \hat{x} \leq x_0 \leq x_{seuil} \end{cases} \end{aligned}$$

avec $T_1(x_0)$ est donné par (4.27).

On suppose que les cellules qui commencent la phase G1 avec $x_0 = x_{\min}$ atteignent le seuil x_{seuil} quand $a = \bar{a}$ et

$$\varphi_1(\bar{a}, x_{\min}) = x_{seuil}.$$

En réalité, les phases S, G2 et M ont en général une durée fixe qu'on note par T_2 avec $T_2 > \bar{a} - T_{\min}$.

Par ailleurs, on peut supposer le scénario suivant pour la croissance de la cellule durant le reste du cycle cellulaire (S, G2 et M):

au début de la phase S, les quatre protéines représentées par les variables (x, y, z, w) satisfont le système (4.2) jusqu'à \bar{a} ensuite x (cycE/CDK2) décroît linéairement jusqu'à la fin du cycle, y (pRb) croît pour revenir à la fin du cycle avec la valeur R , z (p27) reste constant jusqu'à la fin du cycle et w (cycE/CDK2/p27) décroît jusqu'à ce qu'elle s'annule à la fin de la phase M. On suppose que les quatre protéines (x, y, z, w) suivent le système (4.2) jusqu'à $a = \bar{a}$, ce qui nous donne:

$$\left\{ \begin{array}{l} \text{pour } T_1(x_0) < a < \bar{a}, \\ \\ \text{pour } \bar{a} < a < T_1(x_0) + T_2, \end{array} \right. \left\{ \begin{array}{l} x(a) = \varphi_1(a, x_0) \\ y(a) = Re^{-g \int_0^a \varphi_1(\alpha, x_0) d\alpha} \\ z(a) = z_0 e^{-k_2 \int_0^a \varphi_1(\alpha, x_0) d\alpha} + \int_0^a e^{-k_2 \int_\alpha^a \varphi_1(s, x_0) ds} d\alpha \\ w(a) = \int_0^a \varphi_1(\alpha, x_0) \varphi_3(s, x_0) e^{-k_1 \int_\alpha^a \varphi_1(s, x_0) ds} d\alpha \\ x(a) = \varphi_1(\bar{a}, x_0) - \frac{\varphi_1(\bar{a}, x_0) - dx_{\min}}{T_2} (a - \bar{a}) \\ y(a) = \frac{R - \varphi_2(\bar{a}, x_0)}{T_1(x_0) + T_2 - \bar{a}} (a - \bar{a}) + \varphi_2(\bar{a}, x_0) \\ z(a) = \varphi_3(\bar{a}, x_0) \\ w(a) = \varphi_4(\bar{a}, x_0) - \frac{\varphi_4(\bar{a}, x_0)}{T_1(x_0) + T_2 - \bar{a}} (a - \bar{a}) \end{array} \right. \quad (4.29)$$

où $2x_{\min} < dx_{\min} < 2x_{seuil}$ et

$$\varphi_2(\bar{a}, x_0) = Re^{-g \int_0^{\bar{a}} \varphi_1(\alpha, x_0) d\alpha},$$

$$\begin{aligned}\varphi_3(\bar{a}, x_0) &= z_0 e^{-k_2 \int_0^{\bar{a}} \varphi_1(\alpha, x_0) d\alpha} + \int_0^{\bar{a}} e^{-k_2 \int_\alpha^{\bar{a}} \varphi_1(s, x_0) ds} d\alpha \\ \varphi_4(\bar{a}, x_0) &= \int_0^{\bar{a}} \varphi_1(s, x_0) \varphi_3(s, x_0) e^{-k_1 \int_\alpha^{\bar{a}} \varphi_1(s, x_0) ds} d\alpha.\end{aligned}$$

Alors on peut écrire le système d'équations différentielles suivant représentant le reste du cycle cellulaire (phases S, G2 et M):

$$\left\{ \begin{array}{l} \frac{dx}{da} = -\frac{\varphi_1(\bar{a}, x_0) - dx_{\min}}{T_2} \\ \frac{dy}{da} = \frac{R - \varphi_2(\bar{a}, x_0)}{T_1(x_0) + T_2 - \bar{a}} \\ \frac{dz}{da} = 0 \\ \frac{dw}{da} = -\frac{\varphi_4(\bar{a}, x_0)}{T_1(x_0) + T_2 - \bar{a}} \\ x(0) = \varphi_1(\bar{a}, x_0), \quad y(0) = \varphi_2(\bar{a}, x_0) \\ z(0) = \varphi_3(\bar{a}, x_0), \quad w(0) = \varphi_4(\bar{a}, x_0) \end{array} \right. \quad \text{pour } \bar{a} < a < T_1(x_0) + T_2. \quad (4.30)$$

Proposition 13 *Pour toute valeur finale x_f associée à la quantité de CyclineE/CDK2 juste avant la division de la cellule, on peut revenir à la valeur initiale x_0 qui va donner x_f comme valeur finale.*

$$X_f : (x_{\min}, x_{\text{seuil}}) \rightarrow (dx_{\min}, 2x_{\text{seuil}})$$

avec $X_f(x_0) = \varphi_1(T_1(x_0) + T_2, x_0) = x_f$. X_f est une fonction inversible.

Proof. On va le prouver pour $T_1 = T_1(x_0)$ (pour le cas de T_{\min} ça devient facile).

On a

$$x(a) = \varphi_1(\bar{a}, x_0) - \frac{\varphi_1(\bar{a}, x_0) - dx_{\min}}{T_2} (a - \bar{a})$$

et donc à l'instant final $T_1(x_0) + T_2$ on a

$$x_f = \varphi_1(\bar{a}, x_0) - \frac{\varphi_1(\bar{a}, x_0) - dx_{\min}}{T_2} (T_1(x_0) + T_2 - \bar{a}) = X_f(x_0).$$

Ce qui nous permet de considérer x_f comme une fonction de x_0 . En dérivant cette fonction, on obtient:

$$X'_f(x_0) = \frac{\partial \varphi_1}{\partial x_0}(\bar{a}, x_0) \left[1 - \frac{T_1(x_0) + T_2 - \bar{a}}{T_2} \right] - \frac{\varphi_1(\bar{a}, x_0) - dx_{\min}}{T_2} T'_1(x_0),$$

puisque $T_1(x_0) < \bar{a}$, $T'_1(x_0) < 0$, et que $\varphi_1(\bar{a}, x_0) < dx_{\min}$ alors $X'_f(x_0) > 0$ et donc X_f est inversible. Ce qui nous permet d'avoir x_0 comme étant une fonction de x_f . ■

Chapitre 5

Couplage cycle

cellulaire-dynamique de population

5.1 Introduction

De façon général, le terme de couplage de modèles est utilisé lorsqu'on fait interagir au moins deux modèles qui peuvent par ailleurs fonctionner de façon indépendante.

Notre premier objectif dans cette section est de connecter les comportements individuels au comportement global d'une population de cellules. Au niveau individuel, les cellules se distinguent par leur âge, leur taille, leur maturité, leur état (en phase G1, S, G2 ou M, prolifèrent ou quiescent) et d'autres propriétés physiques. La structure de la population par rapport à ces traits caractéristiques influence la croissance, la stabilisation, les oscillations ou autres comportements de la population totale. Ces modèles structurés de populations cellulaires sont en général des équations aux dérivées partielles dans lesquelles les variables sont le temps, et les différentes vari-

ables caractérisant la cellule.

Jusque vers le début des années 90, les modèles de prolifération cellulaire s'appuyaient sur une description plutôt abstraite des diverses phases du cycle cellulaire. Les travaux suivants : Kimmel et al. [51], Tyson et Hannsgen [97], Diekmann et Metz [65], Mackey et Lasota [57], illustrent bien cette approche. On évoque, sans les préciser des produits dont la croissance au cours du cycle favoriserait le passage d'une phase à la suivante et on cherche à faire la part du déterminisme et du stochastique dans la progression de la cellule. Ensuite, il y a eu un retournement d'intérêt dans cette communauté qui s'occupait jusque là de la prolifération et qui rejoint les préoccupations d'autres chercheurs, tels que Goldebeater [35], beaucoup plus intéressés par l'étude des mécanismes biochimiques qui accompagnent le cycle cellulaire. La prolifération cellulaire passe au second plan des préoccupations même si J.Tyson a très rapidement cherché à la coupler à son approche moléculaire [104], [2]).

Il est toutefois difficile de se passer très longtemps de l'étude à ce niveau puisque, dans la plupart des cas, l'observation sur les mécanismes moléculaires se fait à l'échelle de populations de cellules. C'est de ce constat qu'est né en particulier l'idée de la modélisation du couplage cycle cellulaire-prolifération. L'observation des cyclines avec le cytomètre en flux est indissociable d'une connaissance de la distribution de la population suivant ces cyclines. Or, cette distribution est le résultat des processus dynamiques de croissance, division et mort des cellules: elle s'obtient à partir d'une culture, entretenue pendant un temps suffisamment long pour réduire la variabilité des conditions initiales. Dans cette population à l'équilibre se trouvent des cellules dont le contenu en cyclines et la position des cyclines dans le cycle occupent toutes

les positions possibles: dans certaines cellules, la cycline E par exemple sera en phase de croissance, dans d'autres, elle sera en train de diminuer. L'observation brute au cytomètre fait la moyenne de toutes ces situations. Un modèle cherchant à décrire la progression temporelle du nombre de cellules se trouvant dans tel ou tel état, par rapport aux cyclines, est donc établi.

5.2 Modèle couplé, cycle cellulaire - dynamique de population

Nous considérons un modèle mathématique pour le cycle cellulaire, c'est-à-dire la série d'événements menant à la mitose, au niveau d'une population de cellules. Ce sont des équations aux dérivées partielles qui décrivent l'évolution d'une population durant différentes phases du cycle et la transition à la phase suivante.

Dans ce modèle, nous n'avons retenu qu'une seule des quatre substances intervenant dans le cycle, le complexe $\text{cycE}/\text{CDK2}$, en supposant que les autres substances peuvent être initialisées sur des valeurs connues. Cela signifie que seule la variabilité initiale de $\text{CycE}/\text{CDK2}$ est prise en considération. La population est divisée en deux sous-groupes: les cellules dans la phase G1, d'une part et celles qui sont dans les autres phases, de l'autre.

Nous repérons les cellules, dans l'un ou l'autre groupe, par leur âge et leur niveau de $\text{cycE}/\text{CDK2}$ (variable x). L'évolution de x est donnée par l'équation considérée dans le chapitre précédent (4.2) en remplaçant y , z et w par la valeur de leur solution en

fonction de x . Nous obtenons alors l'équation suivante:

$$\frac{dx}{da} = \Gamma(a, x) = \begin{cases} \Gamma_1(a, x) & \text{pour } 0 < a < T_1(x_0) \\ \Gamma_2(a, x) & \text{pour } \bar{a} < a < T_1(x_0) + T_2 \end{cases}, \quad (5.1)$$

$$x(0) = x_0$$

où

$$\Gamma_1(a, x) = k_0 R \left(1 - e^{-d_2 \int_0^a x(\alpha) d\alpha} \right) + k_1 x \int_0^a x(\alpha) \left(z_0 e^{-k_2 \int_0^\alpha x(s) ds} + k_3 \int_0^\alpha e^{-k_2 \int_s^\alpha x(\tau) d\tau} ds \right) e^{-k_1 \int_\alpha^a x(s) ds} d\alpha - k_2 x \left(z_0 e^{-k_2 \int_0^a x(\alpha) d\alpha} + k_3 \int_0^a e^{-k_2 \int_\alpha^a x(s) ds} d\alpha \right) - d_1 x$$

$$\text{et } \Gamma_2(a, x) = \begin{cases} \Gamma_1(a, x) & \text{si } T_1(x_0) < a < \bar{a} \\ -\frac{\varphi_1(\bar{a}, x_0) - dx_{\min}}{T_2} & \text{si } \bar{a} < a < T_1(x_0) + T_2 \end{cases}$$

et $\varphi_1(\bar{a}, x_0)$ est la solution de la première équation de (5.1) associée à la condition initiale x_0 , calculée à l'instant $a = \bar{a}$. Notons par $P_1(t, a, x)$ et $P_2(t, a, x)$ les densités des cellules d'âge a , ayant la quantité x de CycE/CDK2 à l'instant t et qui sont dans la phase G1 ou dans le reste du cycle respectivement.

Le système d'EDP associé à P_1 et P_2 est donné par:

$$\begin{cases} \frac{\partial P_1}{\partial t} + \frac{\partial P_1}{\partial a} + \frac{\partial}{\partial x} [\Gamma_1(a, x) P_1(t, a, x)] = 0 \\ \frac{\partial P_2}{\partial t} + \frac{\partial P_2}{\partial a} + \frac{\partial}{\partial x} [\Gamma_2(a, x) P_2(t, a, x)] = 0, \end{cases} \quad (5.2)$$

et les conditions sur les flux des cellules passant de la phase G1 à la phase S sont données par:

$$P_2(t, a, x_{seuil}) = P_1(t, a, x_{seuil}), \quad T_{\min} < a < \bar{a}; \quad (5.3)$$

$$P_2(t, T_{\min}, x) = P_1(t, T_{\min}, x), \quad x_{seuil} < x < \bar{x}. \quad (5.4)$$

Nous supposons qu'il n'y a pas de mortalité du moment où nous prenons des cellules in vitro dans un milieu de culture favorable et des conditions optimales.

Tout d'abord, nous allons établir des propriétés de certaines fonctions nécessaires pour la suite.

5.2.1 Propriétés de la fonction T_c

(H_{T_c} 1) Notons par T_c la fonction représentant la durée de tout le cycle cellulaire. T_c est définie par

$$T_c(x) = T_1(x) + T_2, \quad \forall x \text{ tel que } 0 < x < \hat{x} \quad (5.5a)$$

$$\text{et } T_c(x) = T_{\min} + T_2 \quad \forall x \in [\hat{x}, x_{\text{seuil}}],$$

T_c est continue et décroissante et donc $0 < T_{\min} + T_2 \leq T_c(y) < \bar{a} + T_2$.

(H_{T_c} 2) D'autre part $\exists \theta' > 0$ tel que

$$|T'_c(x)| \geq \theta' \quad \forall x \in [x_{\min}, \hat{x}] \quad (5.6)$$

ceci peut être vérifié par le fait que T_1 est décroissante.

5.2.2 Propriété de la fonction f

Nous supposons que la division n'est pas égale, c-à-d., si la cellule mère finit le cycle avec un état de CycE/CDK2 égal à y juste avant la division alors la probabilité pour que la cellule nouveau-née ait une quantité x est donnée par la fonction $f(x, y)$.

Supposons que la fonction f vérifie les conditions suivantes [10]:

(H_f 1)

$$f(x, y) = 0 \text{ si } x > y, \quad (5.7)$$

i.e. la taille de la cellule fille est plus petite que celle de la mère au moment de la division.

(H_f2)

$$f(x, y) = f(y - x, y) \quad (5.8)$$

i.e. la distribution est symétrique. Du moment où la quantité de CycE/CDK2 est connue dans une cellule fille alors l'autre est connu en fonction de la taille de la mère.

(H_f3) Nous avons montré précédemment que $0 < x < x_{seuil}$ alors

$$f(x, y) = 0 \text{ si } x > x_{seuil}. \quad (5.9)$$

et donc

$$\int_0^{x_{seuil}} f(x, y) dx = 1$$

(H_f4) Basé sur la stochasticité de la division inégale [51], la fonction f satisfait une propriété sur le support:

il existe une constante d tel que:

$$f(x, y) = 0 \text{ si } x \notin [dy, (1-d)y]; \quad 0 < d < \frac{1}{2}. \quad (5.10)$$

(H_f5) $f(x, X_f(y))$ est borné par rapport à x et y respectivement.

(H_f6) $2f(x, X_f(y))$ est positif, continu et tel que

$$2 \int_0^{\infty} f(x, X_f(y)) dx > 1;$$

(H_f7) $2f(x, X_f(y))$ est positif pour chaque point (x, y) dans $[\hat{x}, x_{seuil}] \times [\hat{x}, x_{seuil}]$.

Pour simplifier les notations dans ce chapitre, appelons (H_f) l'hypothèse qui réunit toute les hypothèse sur f : (H_f1), (H_f2), (H_f3), (H_f4), (H_f5), (H_f6) et (H_f7).

5.3 Etude de la solution

Nous procédons par la méthode des caractéristiques pour construire un semi-groupe qui nous permettra d'étudier la solution de (5.2).

Notons par $(t(s), a(s), x(s))$ les courbes caractéristiques du système (5.2). $(t(s), a(s), x(s))$ vérifie le système différentiel suivant:

$$\begin{cases} \frac{dt}{ds} = 1 \implies t = t_0 + s \\ \frac{da}{ds} = 1 \implies a = a_0 + s \\ \frac{dx}{ds} = \Gamma(a(s), x(s)) \implies x = x(s, x_0) \end{cases} \quad (5.11)$$

En faisant un changement de variables pour P_1 et P_2 nous obtenons la solution de (5.2) sur les lignes caractéristiques

$$\bar{P}_1(s) = P_1(t(s), a(s), x(s)) = P_1(t_0, a_0, x_0) e^{-\int_0^s \frac{\partial \Gamma_1}{\partial x}(a(\tau), x(\tau)) d\tau} \quad (5.12)$$

et

$$\bar{P}_2(s) = P_2(t(s), a(s), x(s)) = P_2(t_0, a_0, x_0) e^{-\int_0^s \frac{\partial \Gamma_2}{\partial x}(a(\tau), x(\tau)) d\tau}. \quad (5.13)$$

Supposons que x est la quantité de CycE/CDK2 à l'âge de division et que l'égalité (5.3) est vérifiée alors pour $t > T_1(X_f^{-1}(x)) + T_2$ (où X_f^{-1} représente la fonction inverse de X_f 13, $X_f^{-1}(x)$ est la quantité initiale de CycE/CDK2 d'une cellule qui finit son cycle avec une quantité x) les courbes caractéristiques commencent par

$$a_0 = 0$$

ce qui donne

$$a = s$$

$$t = t_0 + a \Rightarrow t_0 = t - a,$$

$$x = x(a, x_0) \Rightarrow x_0 = x^{-1}(a, x)$$

avec $x(a, x_0)$ est la valeur de x pour les cellules d'âge a et qui entame le cycle cellulaire avec la valeur x_0 et $x^{-1}(a, x)$ est la valeur initiale de x au début du cycle sachant que ces cellules ont la quantité x à l'âge a .

En utilisant (5.12) et en prenant

$$T_{\min} < a < T_1(X_f^{-1}(x))$$

Nous obtenons:

$$P_1(t, a, x) = P_1(t - a, 0, x^{-1}(a, x)) e^{-\int_0^a \frac{\partial \Gamma_1}{\partial x}(\tau, x(\tau, x^{-1}(a, x))) d\tau}.$$

Puisqu'on suppose que x est la quantité de la cellule mère au moment de la division alors $x^{-1}(a, x) = X_f^{-1}(x)$ et donc au moment de la transition nous avons:

$$P_1(t, T_1(X_f^{-1}(x)), x_{seuil}) = P_1(t - T_1(X_f^{-1}(x)), 0, X_f^{-1}(x)) e^{-\int_0^{T_1(X_f^{-1}(x))} \frac{\partial \Gamma_1}{\partial x}(\tau, x(\tau, X_f^{-1}(x))) d\tau}.$$

Pour

$$T_{\min} + T_2 < a < T_1(X_f^{-1}(x)) + T_2,$$

on sait que les courbes caractéristiques associées à P_2 , correspondent à:

$$a_0 = T_1(X_f^{-1}(x)) \Rightarrow s = a - T_1(X_f^{-1}(x))$$

$$t = t_0 + a - T_1(X_f^{-1}(x)) \Rightarrow t_0 = t - a + T_1(X_f^{-1}(x)),$$

$$x = x(a - T_1(X_f^{-1}(x)), x_0) \Rightarrow x_0 = x^{-1}(a - T_1(X_f^{-1}(x)), x)$$

où $x(a - T_1(X_f^{-1}(x)), x_0)$ est la valeur de x pour les cellules d'âge a et qui finissent la phase G1 c'est à dire à l'âge $T_1(X_f^{-1}(x))$ avec la valeur x_0 et $x^{-1}(a - T_1(X_f^{-1}(x)), x)$

est la valeur de la cycline à l'âge $T_1 (X_f^{-1}(x))$ sachant que ces cellules ont la valeur x à l'âge a . Nous remarquons bien que dans ce cas $x_0 = x_{seuil}$.

En utilisant (5.13), nous obtenons:

$$P_2(t, a, x) = P_2(t - a + T_1(X_f^{-1}(x)), T_1(X_f^{-1}(x)), x_{seuil}) \quad (5.14)$$

$$e^{-\int_0^{a-T_1(X_f^{-1}(x))} \frac{\partial \Gamma_2}{\partial x}(\tau + T_1(X_f^{-1}(x)), x(\tau, x_{seuil})) d\tau}. \quad (5.15)$$

Si on est au moment de la division alors $a = T_1(X_f^{-1}(x)) + T_2$ et donc

$$P_2(t, T_1(X_f^{-1}(x)) + T_2, x) = P_2(t - T_2, T_1(X_f^{-1}(x)), x_{seuil}) e^{-\int_0^{T_2} \frac{\partial \Gamma_2}{\partial x}(\tau + T_1(X_f^{-1}(x)), x(\tau, x_{seuil})) d\tau}$$

ce qui donne

$$P_2(t, T_1(X_f^{-1}(x)) + T_2, x) = P_2(t - T_2, T_1(X_f^{-1}(x)), x_{seuil}) \times e^{-\int_{T_1(X_f^{-1}(x))}^{\tilde{a}} \frac{\partial \Gamma_2}{\partial x}(\tau, x(\tau - T_1(X_f^{-1}(x)), x_{seuil})) d\tau}$$

Par ailleurs dans le cas (5.4), la résolution de P_1 sur les courbes caractéristiques pour $t > T_{\min} + T_2$ nous donne $a_0 = 0$ et donc

$$a = s$$

$$t = t_0 + a \Rightarrow t_0 = t - a,$$

$$x = x(a, x_0) \Rightarrow x_0 = x^{-1}(a, x)$$

et à l'âge de transition $a = T_{\min}$

$$P_1(t, T_{\min}, x) = P_1(t - T_{\min}, 0, x^{-1}(T_{\min}, x)) e^{-\int_0^{T_{\min}} \frac{\partial \Gamma_1}{\partial x}(\tau, x(\tau, x^{-1}(T_{\min}, x))) d\tau}$$

Pour P_2 nous avons $a_0 = T_{\min}$ puisque le passage G1/S nécessite un temps minimum même si la cellule a déjà atteint la valeur seuil x_{seuil} et donc

$$s = a - T_{\min}$$

$$t = t_0 + a - T_{\min} \Rightarrow t_0 = t - a + T_{\min}$$

$$x = x(a - T_{\min}, x_0) \Rightarrow x_0 = x^{-1}(a - T_{\min}, x),$$

où $x^{-1}(a - T_{\min}, x)$ représente la valeur au moment de la transition c'est à dire à l'âge T_{\min} sachant que ces cellules ont la quantité x à l'âge a et donc

$$P_2(t, a, x) = P_2(t - a + T_{\min}, T_{\min}, x^{-1}(a - T_{\min}, x)) e^{-\int_{T_{\min}}^a \frac{\partial \Gamma_2}{\partial x}(\tau, x(\tau - T_{\min}, x^{-1}(a - T_{\min}, x))) d\tau},$$

En prenant x la valeur au moment de la division nous obtenos:

$$P_2(t, T_{\min} + T_2, x) = P_2(t - T_2, T_{\min}, x(T_{\min}, X_f^{-1}(x))) e^{-\int_{T_{\min}}^a \frac{\partial \Gamma_2}{\partial x}(\tau, x(\tau - T_{\min}, X_f^{-1}(x))) d\tau}.$$

En récapitulant tout en homogénéisant les notations et en considérant x étant la valeur à la fin du cycle nous avons dans le premier cas:

$$\begin{cases} P_1(t, T_1(X_f^{-1}(x)), x_{seuil}) = P_1(t - T_1(X_f^{-1}(x)), 0, X_f^{-1}(x)) e^{-\int_0^{T_1(X_f^{-1}(x))} \frac{\partial \Gamma_1}{\partial x}(\tau, x(\tau, X_f^{-1}(x))) d\tau} \\ P_2(t, T_1(X_f^{-1}(x)) + T_2, x) = P_2(t - T_2, T_1(X_f^{-1}(x)), x_{seuil}) e^{-\int_{T_1(X_f^{-1}(x))}^a \frac{\partial \Gamma_2}{\partial x}(\tau, x(\tau, X_f^{-1}(x))) d\tau} \end{cases} \quad (5.16)$$

et dans l'autre cas:

$$\begin{cases} P_1(t, T_{\min}, x(T_{\min}, X_f^{-1}(x))) = P_1(t - T_{\min}, 0, X_f^{-1}(x)) e^{-\int_0^{T_{\min}} \frac{\partial \Gamma_1}{\partial x}(\tau, x(\tau, X_f^{-1}(x))) d\tau} \\ P_2(t, T_{\min} + T_2, x) = P_2(t - T_2, T_{\min}, x(T_{\min}, X_f^{-1}(x))) e^{-\int_{T_{\min}}^a \frac{\partial \Gamma_2}{\partial x}(\tau, x(\tau, X_f^{-1}(x))) d\tau} \end{cases} \quad (5.17)$$

où $x(a, y)$ est la valeur de x à l'âge a pour les cellules qui entament le cycle avec une valeur y .

Maintenant, nous allons considérer la condition au bord déterminant la division des cellules qui sont à la fin du deuxième compartiment et la naissance de deux cellules

filles à partir de chaque cellule mère et qui se retrouve évidemment au début de la phase G1. Supposons que la cellule mère se divise d'une manière inégale, c'est à dire que l'état biochimique x hérité par une cellule nouveau-née de sa mère suit la densité de probabilité conditionnelle $f(x, x')$ avec x' étant l'état de la mère à la fin de son cycle cellulaire.

Cette hypothèse nous conduit à la condition de bords suivante:

$$P_1(t, 0, x) = 2 \int_{X_f([x_{\min}, x_{\text{seuil}}])} f(x, x') P_2(t, T_2 + T_1(X_f^{-1}(x')), x') dx'$$

et donc en utilisant les égalités (5.16) et (5.17) nous obtenons:

$$\begin{aligned} P_1(t, 0, x) &= \\ & 2 \int_{X_f([x_{\min}, \hat{x}])} f(x, x') P_2(t - T_2, T_1(X_f^{-1}(x')), x_{\text{seuil}}) e^{-\int_{T_1(X_f^{-1}(x'))}^{\bar{a}} \frac{\partial \Gamma_2}{\partial x}(\tau, x(\tau, X_f^{-1}(x')))) d\tau} dx' \\ & + 2 \int_{X_f([\hat{x}, x_{\text{seuil}}])} f(x, x') P_2(t - T_2, T_{\min}, x(T_{\min}, X_f^{-1}(x'))) e^{-\int_{T_{\min}}^{\bar{a}} \frac{\partial \Gamma_2}{\partial x}(\tau, x(\tau, X_f^{-1}(x')))) d\tau} dx' \\ & = 2 \int_{X_f([x_{\min}, \hat{x}])} f(x, x') P_1(t - T_2 - T_1(X_f^{-1}(x')), 0, X_f^{-1}(x')) \times \\ & e^{-\int_0^{T_1(X_f^{-1}(x'))} \frac{\partial \Gamma_1}{\partial x}(\tau, x(\tau, X_f^{-1}(x')))) d\tau} e^{-\int_{T_1(X_f^{-1}(x'))}^{\bar{a}} \frac{\partial \Gamma_2}{\partial x}(\tau, x(\tau, X_f^{-1}(x')))) d\tau} (X_f^{-1}(x'))' dx' \\ & + 2 \int_{X_f([\hat{x}, x_{\text{seuil}}])} f(x, x') P_1(t - T_2 - T_{\min}, 0, X_f^{-1}(x')) \times \\ & e^{-\int_0^{T_{\min}} \frac{\partial \Gamma_1}{\partial x}(\tau, x(\tau, X_f^{-1}(x')))) d\tau} e^{-\int_{T_{\min}}^{\bar{a}} \frac{\partial \Gamma_2}{\partial x}(\tau, x(\tau, X_f^{-1}(x')))) d\tau} (X_f^{-1}(x'))' dx' \end{aligned}$$

Notons par $P(t, x) = P_1(t, 0, x)$, nous avons alors l'équation intégrale suivante:

$$\begin{aligned} P(t, x) &= 2 \int_{x_{\min}}^{\hat{x}} f(x, X_f(y)) P(t - T_1(y) - T_2, y) e^{-\int_0^{T_1(y)} \frac{\partial \Gamma_1}{\partial x}(\tau, x(\tau, y)) d\tau} e^{-\int_{T_1(y)}^{\bar{a}} \frac{\partial \Gamma_2}{\partial x}(\tau, x(\tau, y)) d\tau} dy \\ & + 2 \int_{\hat{x}}^{x_{\text{seuil}}} f(x, X_f(y)) P(t - T_{\min} - T_2, y) e^{-\int_0^{T_{\min}} \frac{\partial \Gamma_1}{\partial x}(\tau, x(\tau, y)) d\tau} e^{-\int_{T_{\min}}^{\bar{a}} \frac{\partial \Gamma_2}{\partial x}(\tau, x(\tau, y)) d\tau} dy. \end{aligned} \quad (5.18)$$

L'équation (5.18) est une équation intégrale à retard qui prend en considération uniquement la population des cellules dans la phase G1 qui viennent de commencer

leur cycle cellulaire.

Dans cette équation nous avons deux termes de retard $T_1(y) + T_2$ et $T_{\min} + T_2$ avec $T_1(y) + T_2 > T_{\min} + T_2$ et donc le retard maximal correspond à $\rho = \bar{a} + T_2$ et le retard minimal à $T_{\min} + T_2$.

5.3.1 Solution du problème d'évolution

Soit A l'opérateur défini comme suit:

$$\begin{aligned}
 AP(t, x) = & 2 \int_{x_{\min}}^{\hat{x}} [f(x, X_f(y))P(t - T_1(y) - T_2, y) \\
 & e^{-\int_0^{T_1(y)} \frac{\partial \Gamma_1}{\partial x}(\tau, x(\tau, y))d\tau} e^{-\int_{T_1(y)}^{\bar{a}} \frac{\partial \Gamma_2}{\partial x}(\tau, x(\tau, y))d\tau}] dy \\
 & + 2 \int_{\hat{x}}^{x_{seuil}} [f(x, X_f(y))P(t - T_{\min} - T_2, y) \\
 & e^{-\int_0^{T_{\min}} \frac{\partial \Gamma_1}{\partial x}(\tau, x(\tau, y))d\tau} e^{-\int_{T_{\min}}^{\bar{a}} \frac{\partial \Gamma_2}{\partial x}(\tau, x(\tau, y))d\tau}] dy.
 \end{aligned} \tag{5.19}$$

Considérons l'espace des données initiales étant le cône positif de l'espace de Lebesgue:

$$X = L_+^1((-\rho, 0) \times (x_{\min}, x_{seuil})),$$

et notons par P_t la trajectoire donnée par

$$P_t(\theta, x) = P(t + \theta, x).$$

Notre approche pour aborder l'étude de la solution utilise l'approche par les semi-groupes. Nous définirons le semi-groupe associé à (5.18) et nous nous intéresserons particulièrement au spectre du semi-groupe afin de pouvoir discuter sur le comportement asymptotique de la solution de (5.18).

5.3.2 Semi-groupe d'opérateurs associés à (5.18)

Nous associons à (5.18) la famille d'opérateurs définie par:

$$T(t)P_0 = P_t. \quad (5.20)$$

Proposition 14 *Soit $P_0 \in X$ et soit P défini sur $(-\rho, T_2 + T_{\min}) \times (x_{\min}, x_{seuil})$ telle que:*

$$P(t, x) = \begin{cases} P_0(t, x) & \text{si } (t, x) \in (-\rho, 0) \times (x_{\min}, x_{seuil}) \\ 2 \int_{x_{\min}}^{\hat{x}} [f(x, X_f(y))P_0(t - T_2 - T_1(y), y) \\ e^{-\int_0^{T_1(y)} \frac{\partial \Gamma_1}{\partial x}(\tau, x(\tau, y))d\tau} e^{-\int_{T_1(y)}^{\hat{x}} \frac{\partial \Gamma_2}{\partial x}(\tau, x(\tau, y))d\tau}] dy \\ + 2 \int_{\hat{x}}^{x_{seuil}} [f(x, X_f(y))P_0(t - T_2 - T_{\min}, y) \\ e^{-\int_0^{T_{\min}} \frac{\partial \Gamma_1}{\partial x}(\tau, x(\tau, y))d\tau} e^{-\int_{T_{\min}}^{\hat{x}} \frac{\partial \Gamma_2}{\partial x}(\tau, x(\tau, y))d\tau}] dy \\ \text{si } (t, x) \in (0, T_2 + T_{\min}) \times (x_{\min}, x_{seuil}) \end{cases}$$

Alors, pour tout $t \in (0, T_2 + T_{\min})$, $P_t \in X$ et $\|P_t\|_X \leq C \|P_0\|_X$, où C est une constante indépendante de P_0 .

Proof. Nous avons:

$$\begin{aligned} \int_{-\rho}^0 \int_{x_{\min}}^{x_{seuil}} |P_t(\theta, x)| dx d\theta &= \int_{-\rho}^0 \int_{x_{\min}}^{x_{seuil}} |P(t + \theta, x)| dx d\theta \\ &\leq \int_{-\rho}^{T_2 + T_{\min}} \int_{x_{\min}}^{x_{seuil}} |P(t, x)| dx dt. \end{aligned}$$

Divisons l'intervalle $[-\rho, T_2 + T_{\min}]$ en deux sous intervalles $[-\rho, 0]$ et $[0, T_2 + T_{\min}]$.

D'une part $P(t, x) = P_0(t, x)$ pour $(t, x) \in (-\rho, 0) \times (x_{\min}, x_{seuil})$ et

$$\begin{aligned} &\int_0^{T_2 + T_{\min}} \int_{x_{\min}}^{x_{seuil}} |P(t, x)| dx dt \leq \\ &2 \int_0^{T_2 + T_{\min}} \left[\int_{x_{\min}}^{\hat{x}} \left[\int_{x_{\min}}^{x_{seuil}} f(x, X_f(y)) dx \right] \right] \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
& \left[|P(t - T_2 - T_1(y), y)| e^{-\int_0^{T_1(y)} \frac{\partial \Gamma_1}{\partial x}(\tau, x(\tau, y)) d\tau} e^{-\int_{T_1(y)}^{\bar{a}} \frac{\partial \Gamma_2}{\partial x}(\tau, x(\tau, y)) d\tau} dy dt \right] \\
& + 2 \int_0^{T_2+T_{\min}} \left[\int_{\hat{x}}^{x_{\text{seuil}}} \left[\int_{x_{\min}}^{x_{\text{seuil}}} f(x, X_f(y)) dx \right] \right. \\
& \left. |P(t - T_2 - T_{\min}, y)| e^{-\int_0^{T_{\min}} \frac{\partial \Gamma_1}{\partial x}(\tau, x(\tau, y)) d\tau} e^{-\int_{T_{\min}}^{\bar{a}} \frac{\partial \Gamma_2}{\partial x}(\tau, x(\tau, y)) d\tau} dy dt \right] \\
& \leq 2 \int_0^{T_2+T_{\min}} \left(\int_{x_{\min}}^{\hat{x}} |P(t - T_2 - T_1(y), y)| dy \right) dt + \\
& 2 \int_0^{T_2+T_{\min}} \left(\int_{\hat{x}}^{x_{\text{seuil}}} |P(t - T_2 - T_{\min}, y)| dy \right) dt \\
& \leq 2 \int_{-\rho}^0 \left(\int_{x_{\min}}^{\hat{x}} |P(\theta, y)| dy \right) d\theta + 2 \int_{-\rho}^0 \left(\int_{\hat{x}}^{x_{\text{seuil}}} |P(\theta, y)| dy \right) d\theta \\
& \leq C \int_{-\rho}^0 \int_{x_{\min}}^{x_{\text{seuil}}} |P(\theta, y)| dy d\theta.
\end{aligned}$$

On est donc revenu à l'intervalle $(-\rho, 0) \times (x_{\min}, x_{\text{seuil}})$ et par conséquent $P_t \in X$. ■

En utilisant 14, on peut remarquer qu'il est clair que si l'intégrale (5.19) existe alors il est nécessaire et suffisant de connaître la solution pour $t \in (-T_2 - T_{\min}, 0)$ pour pouvoir la construire après pour $t > 0$ en la calculant pas à pas jusqu'à l'infini [3] et en utilisant en plus le fait que les translations sont continues dans L^1 , on peut affirmer que $t \rightarrow P_t$ est continue de \mathbb{R}^+ vers X .

Ainsi, on peut énoncer la proposition suivante:

Proposition 15 *Sous les hypothèses (H_f) et (H_{T_c1}) , la famille d'opérateurs $T(t)$ définie par (5.20) envoie X dans lui même et constitue dans X un semi-groupe d'opérateurs fortement continu.*

Ce qui nous intéresse dans cette partie est le spectre de ce semi-groupe. Pour cela, nous allons définir son générateur infinitésimal et le spectre associé à ce générateur et ensuite nous définirons le spectre du semi groupe en utilisant le spectre du générateur.

5.3.3 Générateur infinitésimal

Le générateur infinitésimal associé à $T(t)$ est un opérateur fermé avec un domaine dense et est donné par:

$$A\chi = \lim_{t \rightarrow 0^+} \frac{[T(t)\chi - \chi]}{t}$$

pour tout χ dont la limite existe dans X .

Forme du générateur

Formellement, le générateur est défini par

$$(A\chi)(s, x) = \frac{\partial \chi(s, x)}{\partial s}, \quad -\rho < s < 0, \quad x_{\min} < x < x_{\text{seuil}},$$

avec $\frac{\partial \chi}{\partial s}$ dans X . C'est à dire que χ est absolument continu de $[-\rho, 0]$ vers $L^1(|x_{\min}, x_{\text{seuil}}|)$

et donc $\chi(s, \cdot)$ est bien défini pour tout s dans $[-\rho, 0]$ et est continu. Pour $s = 0$, ça

coincide avec $\lim_{t \rightarrow 0^+} T(t)\chi$, ce qui donne:

$$\chi(0, x) = 2 \int_{x_{\min}}^{x_{\text{seuil}}} \tilde{f}(x, y) \chi(-T_1(y) - T_2, y) dy. \quad (5.21)$$

où

$$T_1(y) = \begin{cases} T_1(y) & \text{si } y \in (x_{\min}, \hat{x}) \\ T_{\min} & \text{si } y \in (\hat{x}, x_{\text{seuil}}). \end{cases}$$

et

$$\tilde{f}(x, y) = \begin{cases} f(x, X_f(y)) e^{-\int_0^{T_1(y)} \frac{\partial \Gamma_1}{\partial x}(\tau, x(\tau, y)) d\tau} e^{-\int_{T_1(y)}^{\hat{a}} \frac{\partial \Gamma_2}{\partial x}(\tau, x(\tau, y)) ds} & \text{si } y \in (x_{\min}, \hat{x}) \\ f(x, X_f(y)) e^{-\int_0^{T_{\min}} \frac{\partial \Gamma_1}{\partial x}(\tau, x(\tau, y)) d\tau} e^{-\int_{T_{\min}}^{\hat{a}} \frac{\partial \Gamma_2}{\partial x}(\tau, x(\tau, y)) ds} & \text{si } y \in (\hat{x}, x_{\text{seuil}}). \end{cases}$$

Réciproquement, on peut vérifier que n'importe quel χ dans X tel que χ est absolument continu comme une fonction de $[-\rho, 0]$ dans $L^1(|x_{\min}, x_{\text{seuil}}|)$ et χ satisfait la

condition de bord (5.21) est dans le domaine de A . Donc, on a montré que $D(A)$ de tous les $\chi \in X$ tel que χ est absolument continu $[-\rho, 0]$ dans $L^1([x_{\min}, x_{seuil}])$ satisfait (5.21) et pour χ dans $D(A)$, on a $A\chi = \frac{\partial \chi}{\partial s}$.

On considère maintenant, l'équation résolvante

$$A\chi - \lambda\chi = \xi, \quad \xi \in X; \quad (5.22)$$

(5.22) peut être intégrée sous la forme

$$\chi(s, x) = \chi(0, x) \exp(\lambda s) + \int_0^s \exp[\lambda(s-u)] \xi(u, x) du. \quad (5.23)$$

Supposons que $\chi(0, x)$ est bien défini et appartient à $L^1([x_{\min}, x_{seuil}])$, on peut voir que le terme à droite de la formule(5.23) doit être absolument continu comme fonction de s dans L^1 . En remplaçant ce terme pour $\chi(s, x)$ dans (5.21), on arrive à l'équation suivante:

$$\begin{aligned} \chi(0, x) = & 2 \int_{x_{\min}}^{x_{seuil}} \tilde{f}(x, y) \chi(0, y) \exp(-\lambda(T_1(y) + T_2)) dy + \\ & 2 \int_{x_{\min}}^{x_{seuil}} \tilde{f}(x, y) \left\{ \int_0^{-T_1(y)-T_2} \exp[-\lambda(T_1(y) + T_2) - u] \xi(u, y) du \right\} dy. \end{aligned} \quad (5.24)$$

On note par L_λ l'opérateur linéaire dans l'équation (5.24) défini par:

$$L_\lambda(\mu(x)) = 2 \int_{x_{\min}}^{x_{seuil}} \tilde{f}(x, y) e^{-\lambda T_2 - \lambda T_1(y)} \mu(y) dy \quad (5.25)$$

et par S_λ l'opérateur dans (5.24) en ξ . On peut alors écrire (5.24) sous la forme suivante:

$$\chi_0(x) = L_\lambda \chi_0 + S_\lambda \xi. \quad (5.26)$$

Lemma 16 *L'équation (5.22) admet une solution si et seulement si l'équation (5.26) admet au moins une solution.*

Proof. En effet, si χ est une solution de (5.22) alors $\chi_0(x) = \chi(0, x)$ vérifie (5.26) et inversement, si χ_0 vérifie (5.26) alors χ définie en fonction de χ_0 par:

$$\chi(s, x) = \chi_0(x) \exp(\lambda s) + \int_0^s \exp[\lambda(s-u)] \xi(u, x) du.$$

est une solution de (5.22). Le problème de la solution de l'équation résolvante revient alors au problème de la solution de (5.26). ■

Propriétés de l'opérateur L_λ

Lemma 17 *L'opérateur L_λ est compact.*

Proof. Pour tout λ , L_λ est un opérateur intégral avec un noyau

$$k_\lambda(x, y) = \tilde{f}(x, y) e^{-\lambda(T_2 + T_1(y))}$$

qui est positif et donc L_λ est un opérateur positif compact dans $L^p(x_{\min}, x_{\text{seuil}})$, $p \geq 1$. ■

Theorem 18 [3] *Supposons que f vérifie l'hypothèse (H_f) et T_c vérifie $(H_{T_c}1)$. Alors l'ensemble Λ des nombres (réels et complexes) tel que (λ, μ) est un point fixe de (5.25) pour un certain $\mu \neq 0$ dans $L^2(x_{\min}, x_{\text{seuil}})$ est discret. Λ a un élément unique λ^* avec la plus grande partie réelle: λ^* est réel et l'espace des fonctions μ tel que (λ^*, μ^*) est un point fixe de (5.25), est unidimensionnel, engendré par une fonction positive μ^* et l'espace unidimensionnel des fonctions ν dans $L^2(x_{\min}, x_{\text{seuil}})$ qui satisfont $L_{\lambda^*}^* \nu = \nu$ est engendré par la fonction strictement positive ν^* .*

Maintenant, on peut enoncer le résultat sur le spectre du générateur A .

Proposition 19 (i) Le spectre de A , $\sigma(A)$ est ponctuel. (ii) $\sigma(A) = \Lambda$; (iii) pour tout λ , $\text{Im}(A - \lambda I)$ est fermée dans X avec $\text{Ker}(A - \lambda I) = e^{\lambda s} \otimes \text{Ker}(I - L_\lambda)$; (iv) pour $\lambda = \lambda^*$, $S = \text{Im}(A - \lambda^* I)$ a une codimension égale à 1 dans X et donc $X = N \oplus S$.

Proof. On peut voir facilement que S_λ est compact et donc d'après le lemme 16, λ est dans l'ensemble résolvant si et seulement si $(I - L_\lambda)$ est inversible. De plus L_λ est compact, ce qui veut dire que

$$\lambda \in \sigma(A) \iff \text{Ker}(I - L_\lambda) \neq 0$$

et donc $\sigma(A) = \Lambda$ où Λ est défini dans le théorème 18. De plus si pour un $\chi_0 \neq 0$ avec $(I - L_\lambda)\chi_0 = 0$ alors $\chi = e^{\lambda s}\chi_0$ vérifie $(A - \lambda I)\chi = 0$ et vice versa . Ce qui implique que $\text{Ker}(A - \lambda I) \neq 0$ donc $\sigma(A)$ est ponctuel et

$$\text{Ker}(A - \lambda I) = e^{\lambda s} \otimes \text{Ker}(I - L_\lambda).$$

Pour la deuxième partie de iii), on a d'après 16

$$\xi \in \text{Im}(A - \lambda I) \iff \xi \in S_\lambda^{-1} \text{Im}(I - L_\lambda).$$

Donc $\text{Im}(A - \lambda I) = S_\lambda^{-1} \text{Im}(I - L_\lambda)$ et puisque S_λ est continu et L_λ est compact donc $\text{Im}(I - L_\lambda)$ est fermé et par conséquent $\text{Im}(A - \lambda I)$ est fermé.

Pour (iv) d'après le théorème 18 on a $\text{Im}(I - L_{\lambda^*}) = \{v^*\}^\perp$ et donc en utilisant 16 on a

$$\xi \in \text{Im}(A - \lambda^* I) \iff \langle S_{\lambda^*} \xi, v^* \rangle = 0.$$

Alors $\text{Im}(A - \lambda^*I)$ est de codimension inférieure ou égale à un. Par ailleurs, S_{λ^*} est un opérateur positif et $\langle S_{\lambda^*}(e^{\lambda^*s}\mu^*), v^* \rangle > 0$. Ce qui veut dire que $\xi \rightarrow \langle S_{\lambda^*}\xi, v^* \rangle$ n'est pas identiquement nulle et donc $\text{codim}(\text{Im}(A - \lambda^*I)) = 1$ et $\text{Ker}(A - \lambda^*I) \cap \text{Im}(A - \lambda^*I) = \{0\}$. Ce qui donne une décomposition de l'espace $X = \text{Im}(A - \lambda^*I) \oplus N$, où N est un sous-espace de dimension finie. ■

Par ailleurs, pour λ dans l'ensemble résolvant, la solution associée à chaque ξ est donnée par :

$$\chi(s, x) = \exp(\lambda s) (I - L_\lambda)^{-1} S_\lambda \xi + \int_0^s \exp[\lambda(s-u)] \xi(u, x) du. \quad (5.27)$$

Nous remarquons alors que dans S , $(A - \lambda^*I)$ est une bijection de $S \cap D(A)$ vers S et donc $(\sigma(A|_S)) \subseteq \{\text{Re } \lambda \leq \lambda_1\}$ pour un certain $\lambda_1 \leq \lambda^*$. En utilisant le théorème de Hille-Philips [80], on peut dire que A génère un semi-groupe dans S , $T_S(t)$ qui peut être complété par un semi-groupe dans X , \tilde{T}_S , tel que :

$$\tilde{T}_S(t) (e^{\lambda^*s}\mu^*) = e^{\lambda^*(t+s)}\mu^*.$$

Le générateur infinitesimal de \tilde{T}_S est A , donc $\tilde{T}_S = T$ et $T_S = T|_S$. Donc S est invariant par rapport à $T(t)$.

Relation du spectre du générateur infinitésimal et du semi groupe:

Nous voulons chercher le spectre du semi-groupe en fonction du spectre du générateur infinitésimal. Pour cela on utilise une proposition donnée dans [7].

Definition 1 Soit U un opérateur fermé alors le spectre $\sigma(U)$ peut être écrit sous forme de l'union de trois ensemble:

$$\sigma(U) = \sigma_p(U) \cup \sigma_r(U) \cup \sigma_c(U),$$

où $\sigma_p(U)$ est le spectre ponctuel :

$$\sigma_p(U) = \{\lambda / (U - \lambda I) \text{ n'est pas injectif}\}$$

$\sigma_r(U)$ est le spectre résiduel :

$$\sigma_r(U) = \{\lambda / (U - \lambda I) \text{ est injectif et } \text{Im}(U - \lambda I) \text{ n'est pas dense dans } X\}$$

$\sigma_c(U)$ est le spectre continu :

$$\sigma_c(U) = \{\lambda / (U - \lambda I) \text{ est injectif et } \text{Im}(U - \lambda I) \neq X \text{ et dense dans } X.\}$$

Proposition 20 [7] *Nous avons*

$$\sigma_p(T(t)) \subseteq \exp(t\sigma_p(A)),$$

$$\sigma_r(T(t)) \subseteq \exp(t\sigma_r(A)).$$

Donc, d'après la proposition 19 et 20 nous obtenons:

$$\sigma_r[T(t)] = \sigma_r[T(t)|_S] = \emptyset \quad (5.28)$$

$$\sigma_p[T(t)|_S] \subset \{z : |z| \leq Ce^{\lambda_1 t}\}, \text{ pour un } \lambda_1 < \lambda^*, \quad (5.29)$$

Maintenant, on va chercher le spectre continu du semi-groupe. Si le semi-groupe $T(t)$ était compact pour t grand, alors le spectre continu $\sigma_c[T(t)]$ serait vide.

5.3.4 Propriétés du semi-groupe $T(t)$

Dans cette partie nous allons prouver que, pour t assez grand, le semi-groupe $T(t)$ est "quasicompact", c'est à dire qu'il peut être décomposé en une somme de deux opérateurs. L'un est compact et l'autre est "petit", dans le sens où son taux de croissance

exponentielle est dominé par le taux de croissance exponentielle de la partie compacte. De cette façon, nous pourrions montrer que la solution atteint asymptotiquement la croissance exponentielle asynchrone.

Soit l'opérateur $K : X \rightarrow X$ défini par:

$$(KP)(t, x) = 2 \int_{x_{\min}}^{\hat{x}} \tilde{f}(x, y) P[t - T_2 - T_1(y), y] dy, \quad P \in X. \quad (5.30)$$

En appliquant l'opérateur K deux fois on a:

$$\begin{aligned} (K^2P)(t, x) &= 2 \int_{x_{\min}}^{\hat{x}} \tilde{f}(x, y) (KP)[t - T_2 - T_1(y), y] dy \\ &= 4 \int_{x_{\min}}^{\hat{x}} \tilde{f}(x, y) \int_{x_{\min}}^{\hat{x}} \tilde{f}(y, z) \{P[t - 2T_2 - T_1(y) - T_1(z), z]\} dz dy. \end{aligned}$$

Proposition 21 *Sous les hypothèses que la fonction \tilde{f} est bornée par rapport à x et y et que*

$$|T_1'|_{\infty} + |(T_1^{-1})'|_{\infty} < +\infty,$$

alors l'opérateur K^2 envoie les fonctions de L^1 dans l'ensemble des fonctions bornées:

$$K^2 : L^1 \rightarrow L^{\infty}.$$

Proof. On a

$$|(K^2P)(t, x)| \leq 4 |\tilde{f}|_{\infty}^2 \int_{x_{\min}}^{\hat{x}} \int_{x_{\min}}^{\hat{x}} |P[t - 2T_2 - T_1(y) - T_1(z), z]| dz dy.$$

En faisant, le changement de variable $\tau = T_1(y)$, suivant:

$$\begin{aligned} & |(K^2P)(t, x)| \\ & \leq 4 |\tilde{f}|_{\infty}^2 \int_{x_{\min}}^{\hat{x}} \left\{ \int_{T_1(\hat{x})}^{T_1(x_{\min})} |P[t - 2T_2 - \tau - T_1(z), z]| |(T_1^{-1})'(\tau)| d\tau \right\} dz \\ & \leq \gamma(t) |P_0|_{L^1} \implies \forall t > 0 : K^2P \in L^{\infty}. \end{aligned}$$

■

Proposition 22 *L'opérateur K^2 est compact de L^∞ à L^1 .*

Proof. On introduit un autre changement de variable:

$$\begin{cases} \tau = t - 2T_2 - T_1(y) - T_1(z) \\ z = z \end{cases}$$

alors l'opérateur K^2 peut s'écrire comme suit:

$$\begin{aligned} & (K^2P)(t, x) \\ &= 4 \int_{x_{\min}}^{\hat{x}} \int_{t-2T_2-T_1(z)-T_1(x_{\min})}^{t-2T_2-T_1(z)-T_1(\hat{x})} g(x, T_1^{-1}[t - 2T_2 - T_1(z) - \tau], z) \dots \\ & \dots P(\tau, z) \left| (T_1^{-1})' [t - 2T_2 - T_1(z) - \tau] \right| d\tau dz. \end{aligned}$$

où

$$g(x, T_1^{-1}[t - 2T_2 - T_1(z) - \tau], z) = \tilde{f}(x, T_1^{-1}[t - 2T_2 - T_1(z) - \tau]) \tilde{f}(T_1^{-1}[t - 2T_2 - T_1(z) - \tau])$$

La fonction g est dans L^1 et elle peut être approximée par une suite de fonctions

$\{g_n(x, y, z)\}_{n \in \mathbb{N}}$, continues en ses variables.

Notons par G_n l'opérateur associé à ses fonctions continues:

$$\begin{aligned} & (G_nP)(t, x) \\ &= 4 \int_{x_{\min}}^{\hat{x}} \int_{t-2T_2-T_1(z)-T_1(x_{\min})}^{t-2T_2-T_1(z)-T_1(\hat{x})} g_n(x, T_1^{-1}[t - 2T_2 - T_1(z) - \tau], z) \dots \\ & \dots P(\tau, z) \left| (T_1^{-1})' [t - 2T_2 - T_1(z) - \tau] \right| d\tau dz. \end{aligned}$$

On peut alors énoncer le lemme suivant:

Lemma 23 *L'opérateur G_n est compact de L^∞ à $\mathcal{C}([2\rho, T] \times [x_{\min}, \hat{x}])$, $T \geq 2\rho$.*

■

Proof. Puisque g_n est continue, alors G_n envoie les ensembles bornés de L^∞ dans des ensembles uniformément bornés et équicontinus de $\mathcal{C}([A, B] \times [x_{\min}, \hat{x}])$. Donc, en appliquant le théorème d'Arzelà-Ascoli, on conclut que G_n envoie les ensembles bornés de L^∞ dans des ensembles relativement compacts de $\mathcal{C}([A, B] \times [x_{\min}, \hat{x}])$, ce qui prouve que G_n est compact. L'intervalle $[A, B]$ a été choisi tel que t est assez grand pour éviter n'importe quel retard, tel que:

$$A = 2\rho$$

$$B \geq 2\rho.$$

L'opérateur G_n est compact de L^∞ à L^1 .

Si on fait tendre n vers l'infini, on conclut que la suite des opérateurs $\{G_n\}_{n \in \mathbb{N}}$ converge vers K^2 selon la norme d'opérateur:

$$\|K^2 - G_n\|_{\mathcal{L}(L^1, L^\infty)} \leq \|g - g_n\|_{L^1} \xrightarrow{n \rightarrow \infty} 0.$$

Donc, K^2 est compact de L^∞ à L^1 . ■

Considérons K^4 qui est un opérateur de L^1 . On sait que K^2 sont des opérateurs de L^1 dans L^∞ et une autre application compact de K^2 envoie L^∞ dans L^1 . Donc on a:

Proposition 24 *L'opérateur K^4 , définit comme:*

$$(K^4 P)(t, x) = 4 \int_{x_{\min}}^{\hat{x}} \tilde{f}(x, y) \int_{x_{\min}}^{\hat{x}} \tilde{f}(y, z) \{K^2 P[t - 2T_2 - T_1(y) - T_1(z), z] dz\} dy$$

est compact de L^1 vers L^1 .

Revenons maintenant à l'équation entière en P .

Pour $t \geq 2\rho$, on peut écrire $P(t, x)$ sous cette forme:

$$P(t, x) = 4 \int_{x_{\min}}^{\hat{x}} \tilde{f}(x, y) \int_{x_{\min}}^{x_{\text{seuil}}} \tilde{f}(y, z) \{P[t - 2T_2 - T_1(y) - T_1(z), z] dz\} dy + \\ 4 \int_{\hat{x}}^{x_{\text{seuil}}} \tilde{f}(x, y) \int_{x_{\min}}^{x_{\text{seuil}}} \tilde{f}(y, z) \{P[t - 2T_2 - T_{\min} - T_1(z), z] dz\} dy.$$

Pour $t \geq 4\rho$, on a:

$$P(t, x) = 16 \int_{x_{\min}}^{\hat{x}} \tilde{f}(x, y) \left\{ \int_{x_{\min}}^{x_{\text{seuil}}} \tilde{f}(y, z) \left[\int_{x_{\min}}^{x_{\text{seuil}}} \tilde{f}(z, w) \int_{x_{\min}}^{x_{\text{seuil}}} \tilde{f}(w, k) \dots \dots \right. \right. \\ \dots \dots \left. \left. [P(t - 4T_2 - T_1(y) - T_1(z) - T_1(w) - T_1(k), k) dk] dw \right] dz \right\} dy + \\ 16 \int_{\hat{x}}^{x_{\text{seuil}}} \tilde{f}(x, y) \left\{ \int_{x_{\min}}^{x_{\text{seuil}}} \tilde{f}(y, z) \left[\int_{x_{\min}}^{x_{\text{seuil}}} \tilde{f}(z, w) \int_{x_{\min}}^{x_{\text{seuil}}} \tilde{f}(w, k) \dots \dots \right. \right. \\ \dots \dots \left. \left. [P(t - 4T_2 - T_{\min} - T_1(z) - T_1(w) - T_1(k), k) dk] dw \right] dz \right\} dy$$

où le premier terme à droite est compact.

En prenant en compte que T_c vérifie la propriété $(H_{T_c}2)$ et la fonction \tilde{f} est telle que f vérifie les deux hypothèses $(H_f4) - (H_f7)$, on décompose l'intervalle $(x_{\min}, x_{\text{seuil}})$ en l'union de (x_{\min}, \hat{x}) et $(\hat{x}, x_{\text{seuil}})$ dans la deuxième intégrale du deuxième terme à droite. On obtient encore une partie compacte qui correspond à l'intervalle d'intégration (x_{\min}, \hat{x}) et l'autre qui n'est pas compacte correspondant à l'intervalle d'intégration $(\hat{x}, x_{\text{seuil}})$.

A la fin, on peut écrire $P(t - 4T_2 - T_{\min} - T_1(z) - T_1(w) - T_1(k), k)$, pour $t \geq 4\rho + (T_2 + T_{\min})$, sous la forme intégrale comme précédemment.

Maintenant, pour $t \geq 5\rho + n(T_2 + T_{\min})$ on obtient alors:

$$P(t, x) = \overline{P}(t, x) + \tilde{P}(t, x),$$

où l'opérateur $P_0 \longrightarrow \bar{P}$ est compact et $\tilde{P}(t, x)$ est donné par:

$$\begin{aligned} \tilde{P}(t, x) = 2^n \int_{(\hat{x}, x_{\text{seuil}})^n \times (x_{\min}, x_{\text{seuil}})} & \tilde{f}(x, y) \tilde{f}(y, z_1) \dots \tilde{f}(z_{n-1}, z_n) \\ & P(t - 2nT_2 - 2(n-1)T_{\min} - T_1(z_n), z_n) dz_n \dots dz_1 dy. \end{aligned} \quad (5.31)$$

Définissons les deux opérateurs G et L par:

$$(G(t)P_0)(s, x) = \bar{P}(t+s, x)$$

$$(L(t)P_0)(s, x) = \tilde{P}(t+s, x)$$

Nous avons montré que $G(t) : X \longrightarrow X$ est bien compact. Il reste à étudier les propriétés de l'opérateur $L(t)$.

Enonçons alors le résultat dans la proposition suivante:

Proposition 25 *Supposon que T_c vérifie l'hypothèse suivante:*

$$\exists \theta' > 0 \text{ tel que } |T'_c(x)| \geq \theta' \quad \forall x \in [x_{\min}, \hat{x}]$$

et que la fonction f vérifie la propriété (H_f7). Alors, il existe $\varepsilon > 0$, $C \geq 0$ tel que pour t assez large $T(t) = G(t) + L(t)$ où $G(t)$ est compact et $\|L(t)\| \leq C \exp[(\lambda^ - \varepsilon)t]$.*

Proof. La preuve est obtenue en comparant les opérateurs L_λ (défini dans (5.25)) et $L(t)$. On introduit l'opérateur \mathcal{L} défini par

$$\mathcal{L}\mu(x) = 2 \int_{(\hat{x}, x_{\text{seuil}})} \tilde{f}(x, y) \mu(y) dy,$$

dans l'espace $L^1([\hat{x}, x_{\text{seuil}}])$.

En termes de \mathcal{L} l'équation (5.31) devient:

$$\tilde{P}(t, x) = \mathcal{L}^n \left(\left\{ \int_{x_{\min}}^{x_{\text{seuil}}} \tilde{f}(\cdot, z) P(t - 2nT_2 - 2(n-1)T_{\min} - T_1(z), z) dz \right\} \right) (x),$$

ce qui implique que

$$\|L(t)\varphi\|_X \leq C \|\mathcal{L}^n\|_{L^1(\hat{x}, x_{\text{seuil}})} \|\varphi\|_X \quad (5.32)$$

pour $4\rho + n(T_{\min} + T_2) \leq t \leq 5\rho + n(T_{\min} + T_2)$.

Pour estimer la quantité $\|\mathcal{L}^n\|_{L^1(\hat{x}, x_{\text{seuil}})}$, il faut estimer le rayon spectral r de l'opérateur \mathcal{L} .

En utilisant l'expression de L_λ (5.25) et le théorème 18 on a:

$$\mathcal{L}\mu^*(x) < \exp((T_{\min} + T_2)\lambda^*)(L_\lambda\mu^*(x)) = \exp((T_{\min} + T_2)\lambda^*)\mu^*(x).$$

Lemma 26 [14] *Soit X un espace de Banach et I un espace convexe fermé dans X et soit $L : X \rightarrow X$ un opérateur linéaire borné tel que $LI \subset I$ et $L|_I$ est compact. Soit $r_I(L)$ défini par:*

$$r_I(L) = \lim_{n \rightarrow +\infty} \|L^n\|_I^{\frac{1}{n}}$$

positif alors il existe $\mu \in I \setminus \{0\}$ tel que:

$$L\mu = r_I(L)\mu.$$

En utilisant ce dernier lemme et 18 pour l'opérateur \mathcal{L} on obtient alors

$$\mathcal{L}_{(\hat{x}, x_{\text{seuil}})}^* v = r_I(\mathcal{L})v,$$

où \mathcal{L}^ est l'opérateur adjoint. Ce qui donne:*

$$r_I(\mathcal{L}) \langle v, \mu^* \rangle = \langle \mathcal{L}_{(\hat{x}, x_{\text{seuil}})}^* v, \mu^* \rangle = \langle v, \mathcal{L}_{(\hat{x}, x_{\text{seuil}})} \mu^* \rangle < \exp((T_{\min} + T_2)\lambda^*) \mu^*(x).$$

Donc

$$r_I(\mathcal{L}) < \exp((T_{\min} + T_2)\lambda^*). \quad (5.33)$$

On a l'inégalité (5.32) quand t est de l'ordre de $n(T_{\min} + T_2)$, pour t grand alors $\|L(t)\|^{\frac{1}{t}}$ est équivalent à $\|L(t)\|^{\frac{1}{n(T_{\min} + T_2)}}$. De plus en utilisant (5.33) on a:

$$\|\mathcal{L}^n\|^{\frac{1}{n(T_{\min} + T_2)}} = (r(\mathcal{L}))^{\frac{1}{(T_{\min} + T_2)}} < \exp(\lambda^*).$$

En revenant à (5.32), on conclut qu'il existe $\varepsilon > 0$, tel que $\|L(t)\| \leq C \exp[(\lambda^* - \varepsilon)t]$.

■

On a donc prouvé que $T(t)$ est bien quasicompact.

Lemma 27 [3] *Supposons que $M = K + J$, un opérateur linéaire, est la somme d'un opérateur compact K et un opérateur borné J alors*

$$\sigma_c(M) \subset \{z : |z| \leq \|J\|\}.$$

Grâce au lemme 27 et de la proposition 25, nous concluons que le spectre continu du semi-groupe $T(t)$ satisfait, pour t grand, la propriété suivante:

$$\sigma_c[T(t)] \subset \{z : |z| \leq C \exp[(\lambda^* - \varepsilon)t]\}.$$

La même propriété est vérifiée par $\sigma_c[T(t)|_S]$. De plus, en ajoutant les relations (5.28) et (5.29), on obtient:

$$\sigma[T(t)|_S] \subset \{z : |z| \leq C e^{\lambda_1 t}\}, \quad (5.34)$$

pour un $\lambda_1 < \lambda^*$ et C indépendant de t , pour t grand.

Comportement asymptotique de la solution de (5.18) La croissance asymptotique du semi-groupe $T(t)$ peut être mieux concidéré en utilisant le taux de croissance exponentielle

$$\omega_0 = \lim_{t \rightarrow \infty} \frac{\text{Log} \|T(t)\|}{t}.$$

En prenant en compte la défintition de ω_0 , nous obtenons que pour tout $\eta > 0$, il existe $C \geq 0$ tel que

$$\|T(t)\| \leq C \exp [(\omega_0 + \eta) t]. \quad (5.35)$$

Le rayon spectral de $T(t)$ est donné en terme de ω_0 par la relation suivante:

$$r [T(t)] \leq \exp (\omega_0 t), \quad (5.36)$$

qu'on utilise pour estimer ω_0 .

D'après (5.34) le rayon spectral de $T(t)|_S$ est plus petit que $e^{\lambda_1 t}$ et donc à partir de (5.36) nous concluons que $\omega_0 [T(t)|_S] \leq \lambda_1$. Utilisant (5.35), on trouve alors $C \geq 0$, $\varepsilon > 0$ tel que:

$$\|T(t)|_S\| \leq C \exp [(\lambda^* - \varepsilon) t].$$

Revenant à l'équation principale (5.18) et soit P une solution de (5.18), avec $P_0 \in X$ comme étant une donnée initiale. Projetant P_0 sur N et S , nous pouvons alors l'écrire comme suit:

$$P_0 = C \exp (\lambda^* s) \mu^*(x) + \delta(s, x)$$

et

$$T(t) P_0 = C \exp (\lambda^*(t+s)) \mu^*(x) + T(t)|_S \delta.$$

D'autre part, nous avons $\|T(t)|_S\| = o(e^{\lambda^*t})$ et donc la solution de (5.18) est telle que

$$P(t, x) - C' \exp(\lambda^*t) \mu^*(x) = o[\exp(\lambda^*t)], \quad t \rightarrow \infty.$$

De plus, si $C' = 0$, cela veut dire que P_0 et P_t restent dans S , pour $t \geq 0$ et puisque $P_t \in S$ si et seulement si $\langle S_\lambda \cdot P_t, \nu^* \rangle = 0$, alors ça implique que P_t change de signe. Donc, si $P_0 > 0$ alors $C > 0$.

Caractérisation de l'état stationnaire

Le résultat principal de cette partie est résumé dans le théorème suivant qui donne le résultat sur le comportement asymptotique de la solution de 5.18 :

Theorem 28 [3] *Supposons que f et T_c vérifient les hypothèses $((H_f1) - (H_f7))$ et $((H_{T_c}1), (H_{T_c}2))$ respectivement, alors si $P > 0$ est la solution de (5.18) pour $t \geq t_0$ avec le support de $P_t(\theta, \cdot)$ dans $[x_{\min}, x_{\text{seuil}}]$, il existe une constante $C' > 0$, un λ^* positif et une fonction continue μ^* tel que:*

$$\mu^*(x) > 0, \quad x_1 < x < x_{\text{seuil}}, a$$

$$\mu^*(x) = 0, \quad x \leq x_1 \quad \text{or} \quad x \geq x_{\text{seuil}},$$

avec:

$$P(t, x) - C' \exp(\lambda^*t) \mu^*(x) = o[\exp(\lambda^*t)], \quad \text{quand } t \rightarrow \infty.$$

Remark 5 *Au point de vue biologique, il est naturel qu'on ait un support borné de zéro et de l'infini. Ceci explique pourquoi on s'intéresse à des solutions de ce type.*

5.4 Conclusion

Nous avons abordé le problème d'évolution (5.19) par la méthode des semi-groupes basée sur les travaux de Arino et al. [3]. L'étude du spectre du générateur correspondant au semi-groupe associé à l'équation intégrale (5.18) n'était pas suffisante pour préciser le spectre du semi-groupe lui-même. En effet, le semi-groupe n'est pas compact et donc le théorème du spectre n'est pas applicable [7]. En revanche, les propriétés du générateur nous a permis de calculer le spectre ponctuel et résiduel du semi-groupe. Quant au spectre continu, nous l'avons obtenu à partir de la démonstration de la quasicompacité du semigroupe qui nous a donné une décomposition du semi-groupe en un opérateur compact et un opérateur informant sur le spectre continu. Ainsi, nous avons obtenu toutes les informations sur le spectre. Ce qui nous a permis de conclure sur le comportement asymptotique de la solution.

Par ailleurs, au point de vue biologique, avant de procéder au comptage des cellules par le cytomètre, l'expérimentateur attend en général que la population atteigne un degré de développement suffisant pour être indépendant de la population initiale : c'est ce qu'on appelle par l'état asynchrone, dont les caractéristiques (proportions de cellules dans les phases) sont propres à chaque souche de cellules. En termes mathématiques, l'état asynchrone est celui vers lequel convergent les solutions quand le temps devient très grand. Le problème posé ici est l'étude du système dynamique associé à l'équation intégrale (5.18). Il est donc important de s'assurer que ce modèle nous permet d'arriver, à partir d'une population souche, à une distribution limite quasiment indépendante de la population de départ. C'est ce qui a été donné dans le théorème 28.

Partie IV

Modélisation informatique

Chapitre 6

Simulateur de la division cellulaire

6.1 Introduction

Loin d'être un substitut à l'expérience, la simulation informatique est devenue importante pour choisir qu'elle est l'expérience qui convient le mieux pour obtenir le résultat voulu. Dans certains domaines, les expériences deviennent de plus en plus coûteuses. La simulation permet un gain de temps et une économie en réduisant le nombre d'expériences à mener [59]. On peut parler désormais d'expérimentation virtuelle.

La conception de simulation met en jeu deux acteurs: l'expert du domaine, s'appuyant sur un modèle du domaine et fournissant des spécifications sur le phénomène à simuler et l'informaticien, chargé de fournir une solution opérationnelle qui se base donc sur un modèle informatique opérationnel. Toutefois la nécessité d'introduire un troisième rôle, le modélisateur, semble obligatoire, tant l'écart entre thématicien et informaticien est important.

Un bon modèle doit être prédictif, c'est-à-dire qu'il doit permettre de prévoir dans une certaine mesure le résultat d'une expérience. Cette prédictibilité peut avoir un caractère qualitatif ou quantitatif selon le modèle et ce qu'il peut prévoir comme comportement ou ce qu'il permet de prédire.

6.2 Modèle individus centrés (IBM)

La modélisation des populations vivantes fait appel à deux types de modèles. Les premiers, modèles de distribution, sont des modèles globaux décrivant des populations. Ils sont essentiellement fondés sur des équations mathématiques. Les seconds, modèles de configuration, se concentrent sur la description des individus pour expliquer un phénomène global et sont appelés modèles individus centrés (IBM). Les IBM sont des modèles basés sur les conséquences globales des interactions locales des membres d'une population.

Les premiers modèles individus centrés (IBM) ont été développés à la fin des années 80 pour l'étude de certains phénomènes écologiques [25]. Le point central de ces modèles est de considérer les individus distincts ou groupés dans des cohortes d'individus semblables, tandis que les modèles de population ne tiennent pas compte des différences entre les individus. Dans les IBM, les caractéristiques de chaque individu sont suivies au cours du temps contrairement à la modélisation des caractéristiques de la population où on est ramené à une moyenne de la population totale. Par ailleurs, le principe des IBM est d'éviter la complexité de phénomènes macroscopiques et les faire paraître comme un résultat de comportements individuels simples.

De nombreux travaux ont vu le jour cette dernière décennie pour faire le bilan de l'apport scientifique des modèles individus centrés [41]. Ces auteurs arguent qu'il y a deux raisons de développer cette approche: d'abord, la nécessité de tenir compte de l'individu en raison de son unicité génétique et biologique et en second lieu, du fait que les interactions de chaque individu sont locales. Les écologistes et les biologistes ont utilisé les IBM dans le but de présenter la notion d'individu pour comprendre le rôle de l'hétérogénéité, l'auto-organisation spatiale, l'influence de l'individu sur le collectif et inversement ou encore le phénomène d'aggrégation. En effet, ces phénomènes sont à la fois compliqués et complexes et par conséquent c'est difficile de pouvoir les formaliser au niveau macroscopique et puis prévoir et expliquer le comportement global.

La formulation d'un modèle individu-centré consiste à définir des règles régissant les comportements individuels des individus. Ces comportements peuvent être exprimés sous forme de fonctions (continues ou discrètes, et éventuellement stochastiques, équations différentielles...), des variables caractérisant chaque individu ainsi que son environnement local (distribution spatiale, voisinage). Par ailleurs, la simulation par les systèmes multi-agents peut être utilisée pour formaliser et simuler les IBM.

6.3 Système multi-agents (SMA)

La conception d'un outil de simulation peut se décrire en deux passages principaux: le passage du modèle de domaine (construit par l'expert sous forme variée avec un langage naturel: interactions moléculaires, comportement d'individus...) au modèle

de conception construit par le modélisateur (équations différentielles, lois de probabilités...) et le passage du modèle de conception au modèle d'implémentation (construit par l'informaticien sous forme algorithmique).

L'approche par simulation multi-agents consiste à simuler un système réel par une collection d'agents en interaction. Chaque agent peut être alors un individu, un groupe d'individus ou une partie de l'environnement du monde réel simulé. Chaque agent a un comportement qui se modifie au cours du temps et dans l'espace et va modifier le monde qui l'entoure [105]. Un agent est une entité informatique, **situé** dans un environnement, capable de réaliser de façon **autonome** des actions pour atteindre ces objectifs [48], **interagit** avec d'autres agents, participe à la modification de son environnement [47].

Le simulateur multi-agents permet de représenter les processus de prise de décision des acteurs pour, en résultat, simuler le fonctionnement d'un espace (univers artificiel).

La modélisation passe par deux phases distinctes:

- La création d'un univers artificiel composé d'un espace et des différents agents qui interagiront dans cet espace.
- La représentation de la dynamique de la ressource et des processus de prise de décision.

A l'origine, l'espace est considéré comme une surface de support. Pour les IBM, l'espace peut avoir deux structures:

- Discret: Il est fragmenté par un ensemble de cases, le plus souvent des carrés, entre lesquels sont établis des lieux de voisinage (grille régulière, réseau réticulé ou autres). Chaque individu peut occuper une case de l'espace.

- Continu: contrairement au discret, l'espace continu n'est pas divisé en cases et les individus peuvent occuper chaque point de l'espace.

6.4 Le modèle du simulateur

Dans ce chapitre, nous présentons un IBM de la croissance et la division de cellules mises en culture (in vitro). La capacité de cette approche est de relier les propriétés des cellules (entités microscopiques) aux propriétés de la population cellulaire (système macroscopique). Une caractéristique importante des IBM est qu'ils n'indiquent aucune loi globale telle que la croissance exponentielle de la population. Par ailleurs, si par exemple la croissance exponentielle émerge alors c'est un résultat de la prise en compte du milieu où les cellules croissent et le métabolisme de chaque cellule. Le modèle présente l'organisation spatiale de la dynamique de la croissance et la division de cellules. Une interface mise en évidence nous permet la visualisation en 2D de nos expériences virtuelles sur la population cellulaire.

6.4.1 Modélisation informatique des populations cellulaires

De nombreux chercheurs s'intéressent aujourd'hui à la modélisation informatique de la division et la croissance des cellules. A ce propos, les simulations multi-agents sont intéressantes à beaucoup d'égards puisqu'elles permettent d'intégrer des paramètres discrets et continus, de faire co-agir plusieurs processus et d'articuler plusieurs niveaux d'analyse. Elles semblent un outil possédant de fortes potentialités pour étudier les phénomènes réels.

Modèles de représentation des cellules

Chaque cellule est unique. Son comportement et sa biologie résultent d'une combinaison unique entre son patrimoine génétique et les influences de son environnement. Par ailleurs, les interactions sont locales ainsi la cellule ne sera affecté que par des individus qui se situent dans son voisinage spatio-temporel.

La représentation des modèles IBM sur une interface en 2D ou 3D utilisant les multi-agents permet de suivre les changements de l'évolution de la population, dans l'espace et le temps, et éventuellement de tester plusieurs scénarios en changeant les paramètres du modèle. De plus, Ces représentations en 2D ou 3D de la croissance des cellules permet de placer les cellules dans leur contexte et modéliser les relations sociologiques des cellules entre elles [64].

Morel [69] a construit un modèle du tissu épithélial en 2 D. Son approche se base sur le pavage de l'espace selon la partition de Voronoï et les cellules sont représentées par des polygones. Son modèle combine entre une représentation spatiale des cellules en 2D par le graphe de Voronoï et un modèle de vie cellulaire (Figure 6.1). En revanche, le modèle de Morel ne prend pas en compte la croissance de la biomasse ou le volume de la cellule et les durées du cycle cellulaire sont tirées au hasard pour chaque cellule dans un intervalle approximant le minimum et le maximum de la durée d'un cycle.

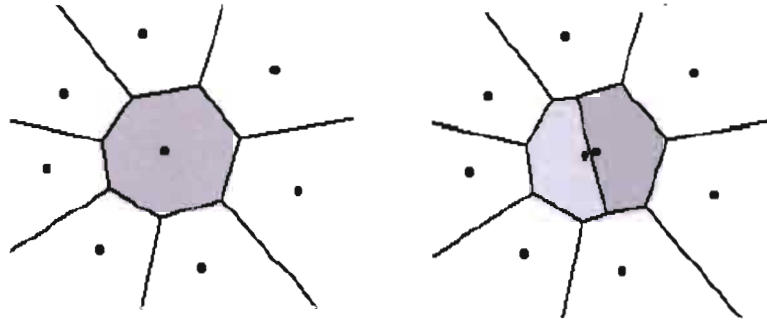


Figure 6.1 : représentation de la division d'une cellule en deux cellules filles par le graphe de Voronoï dans le modèle de Morel.

Dans [86], Savchenko propose un modèle représentant une colonie de cellules de mammifères représentée comme étant des particules déformables en contact, i.e. qu'elles peuvent avoir des formes arbitraires définies par des fonctions $f(x, y, z)$ continues avec des coordonnées cartésiennes tel qu'un élipsoïde

$$f(x, y, z) = 1 - (x/a)^2 - (y/b)^2 - (z/c)^2 + \text{bruit}(x, y, z), \quad a > 0, b > 0.$$

Les cellules à la base sont des élépsoïdes parfaits et en se divisant elles peuvent se chevaucher et donc se déformer (Figure 6.2).

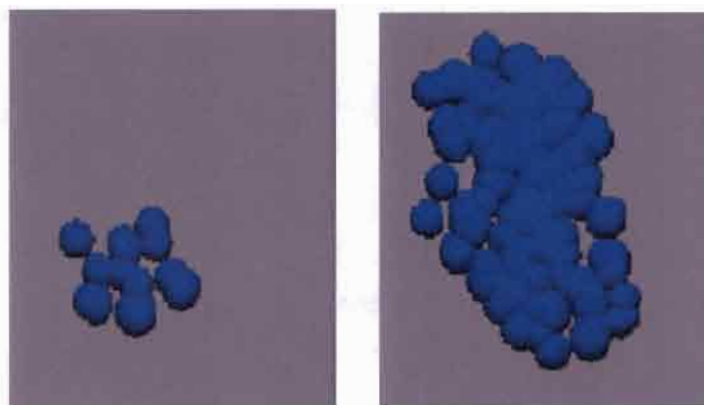


Figure 6.2 : représentation de Savchenko

Smallwood et al. [93] [94] se sont intéressé particulièrement aux interactions entre les cellules pour former un tissu. Ils a considéré que chaque cellule est un agent qui peut communiquer avec les autres agents. A chaque pas de temps la cellule est interrogée sur son état (position du cycle cellulaire, nombre de cellules voisines, concentration de calcium dans le milieu...) puis un certain nombre de règles établies sur le comportement de la cellule est executé et la cellule change son état. C'est un modèle en 3D représentant les cellules de l'épithélium modélisant les interactions de prolifération, de différenciation, de cellule-cellule et de cellule-substrat.

D'autre auteurs se sont intéressés à la croissance et la division des bactéries [15] [55] [56]. Le projet "Bacsim" [55] a été développé pour simuler la croissance et le comportement des bactéries. Le programme orienté objet Bacsim est une extension du simulateur Gecko qui représente un modèle de dynamique d'écosystèmes (forêts, plantes...). Ce modèle prend en considération des fonctions propres aux bactéries (croissance, substrat, division des bactéries, mort des bactéries). On donnera un aperçu sur Gecko et Bacsim plus loin.

Dans notre travail, on s'est basé principalement sur le simulateur "Bacsim". On a adapté notre modèle à leur approche.

Le modèle comprend plusieurs niveaux:

i) Cellule: ce niveau comprend la croissance moléculaire, la croissance du volume de la cellule et le contrôle de la durée du cycle cellulaire.

ii) Cellule/environnement: le milieu de culture contribue directement à la croissance de la cellule.

iii) Cellule/cellule: chaque cellule connaît ces voisines, les distances entre elles et ses voisines et les espaces vides (s'il y en a).

Ainsi, chaque cellule doit suivre les étapes suivantes établies dans le simulateur: croître en volume, mettre à jour les positions des cellules (coordonnées dans le repère du simulateur), pousser les voisines et enfin se diviser.

6.4.2 Modèle IBM

Le modèle décrit la croissance et la division cellulaire. Il est basé principalement sur l'évolution du volume(biomasse) de la cellule individuelle. Le modèle choisi s'appuie sur le modèle de Graña et Acerenza [40]. Naturellement, la cellule est un système très compliqué. En revanche, le modèle proposé prend en compte uniquement les éléments nécessaires pour la structure de la cellule.

Nous considérons que la cellule est constituée de deux types de molécules: des molécules qui contrôlent la durée du cycle cellulaire jusqu'à la division (gestion du temps) appelées "molécules du signal" et notées par s (quantité dans la cellule) et des molécules qui contribuent à la croissance de la biomasse (volume) et qui également contribuent à la formation des molécules du signal. Nous appelons ces molécules "molécules du nutriment intérieur" notées par n (quantité dans la cellule).

Les nutriments

La variation des nutriments dans la cellule fait intervenir de multiples réactions biochimiques très compliquées. Cependant, on résume cette variation en utilisant des taux de croissance et de dégradation dans le modèle. La croissance des nutri-

ments est du au milieu nutritif extérieur i.e au substrat. La cellule est séparée de son environnement par la membrane cellulaire donc ces molécules ne passent que par la surface de la cellule et leur quantité entrant dans la cellule est limitée. Par conséquent, on peut considérer que la concentration totale des molécules dans la cellule durant le cycle cellulaire est constante (noté par C) et la croissance des molécules entrant est proportionnelle à la surface (notée par a). D'autre part ces molécules se transforment en biomasse (ou en volume).

Donc, l'équation des nutriments est donnée par l'équation différentielle suivante:

$$\frac{dn}{dt} = k_{c_1} \frac{E}{E + K} a - k_{d_1} v \quad (6.1)$$

où k_{c_1} est le taux d'absorption du substrat pour la croissance des nutriments à l'intérieur de la cellule. k_{d_1} est le taux de transformation des nutriments en volume. E est la quantité des substances nutritives dans le milieu extérieur (substrat) et K est la capacité limite de ce milieu. Par ailleurs, dans ce modèle, nous considérons que la cellule a la forme d'une sphère. Par conséquent on peut calculer la surface a de la cellule en fonction de son volume v .

Le volume

Durant le cycle cellulaire, les cellules changent leur taille et ont des tailles différentes. La plupart des cellules mesurent entre $10\mu\text{m}$ (des micromètres) et $100\mu\text{m}$ de diamètre (bien que certains, tels que des cellules nerveuses peuvent être très longues mais très minces). La croissance du volume de la cellule est proportionnelle aux nombre de molécules à l'intérieur de la cellule. Par ailleurs, les molécules constituant la biomasse

peuvent être dégradées par différents processus biochimiques et donc la variation du volume de la cellule est donné par l'équation différentielle suivante

$$\frac{dv}{dt} = \frac{k_{c_2}}{C}n - k_{d_2}v \quad (6.2)$$

où k_{c_2} est le taux de croissance du volume et k_{d_2} le taux de dégradation.

S'il n'y a plus de substrat alors la cellule ne peut plus se nourrir et elle peut rétrécir de son volume. Dans notre étude, nous n'avons pas pris en compte cette hypothèse mais nous avons considéré que dans le cas où il y a peu de nutriments (substrat) alors le volume de la cellule s'arrête de croître et maintient son volume final.

Le signal

Une proportion faible de molécules est constituée des molécules du signal. En revanche, leur quantité est importante pour commencer la synthèse de l'ADN dans la cellule. Après qu'une cellule fille soit créée par le processus de division, l'interphase débute. La cellule croît jusqu'à un certain moment et provoque la synthèse de l'ADN. Cette étape est contrôlée par le temps appelé "temps adulte" noté par (t_a). Par ailleurs, la durée à partir de la synthèse de l'ADN jusqu'au moment de la division est fixe, noté par T .

On donne l'équation des molécules du signal par l'équation suivante:

$$\frac{ds}{dt} = k_{c_3}n - k_{d_3}s \quad (6.3)$$

avec k_{c_3} est le taux de croissance et k_{d_3} est le taux de dégradation.

Contrairement à Bacsim où il suppose que la division cellulaire s'effectue au moment

où la cellule atteint un certain volume dans notre modèle la division est gérée par le temps. La durée du cycle cellulaire est alors égale à $t_a + T$ où t_a est variable. Après que ce temps là s'écoule, la cellule peut se diviser en deux cellule filles qui n'ont pas toujours la même taille.

L'espace et le réarrangement spatial:

L'espace considéré est un espace continu où les cellules peuvent se déplacer et se propager dans n'importe quel point de cet espace. Il est constitué du substrat et l'espace de la croissance de la population.

Pour l'organisation spatiale, on utilise une base de règles pour spécifier le comportement des cellules décrivant l'espace. Le concept de voisin ou de voisinage est difficile à établir. Afin de simuler le réarrangement des cellules au sein du tissu ou la colonie, nous avons utilisé l'hypothèse établie par Kreft dans Bacsim [55].

La propagation du volume de la cellule est simulé par la fonction de croissance du volume (6.2) mais tout en respectant une distance minimale avec les voisines. Dans Bacsim, chaque cellule a évidemment une position i.e. des coordonnées dans l'espace. D'autre part, la disposition de la cellule au milieu de la population doit être réorganisée à chaque pas de temps et poussent ces voisines si elle peuvent se chevaucher. Nous calculons la somme des vecteurs de chevauchement avec les voisines et ensuite la position de la cellule est décalée dans la direction opposée de ce vecteur. Le rayon de chevauchement, R est donné par:

$$R = k(r_c + r_v) + d \quad (6.4)$$

où r_c est le rayon de la cellule de volume v_c

$$r_c = \sqrt[3]{\frac{3v_c}{4\pi}},$$

et r_v est le rayon de la cellule voisine de volume v_n

$$r_n = \sqrt[3]{\frac{3v_n}{4\pi}},$$

d est la distance euclidienne entre les deux centres et k est un coefficient pour ajuster la distance minimale entre les cellules et éviter le chevauchement [55]. Lors de la division de la cellule, la cellule mère se divise en deux cellules filles. La cellule mère n'existe plus, deux filles se créent (les tailles des cellules filles sont toujours plus petites que celle de la mère) et s'organisent dans l'espace en poussant les voisines comme les autres cellules.

6.4.3 Algorithme du simulateur

Les cellules sont considérées comme des agents qui sont capables de décider eux mêmes leurs actions à partir de la perception locale de leur environnement, selon des règles de comportements. Le modèle individu-centré que nous proposons de construire s'appuie sur le simulateur Bacsim, basé lui même sur la plate-forme Gecko [15]. Pour mieux illustrer le modèle, on présente l'espace de simulation dans le schéma suivant:

Gecko et Bacsim

Gecko est un simulateur d'un modèle individu-centré qui permet de simuler des dynamiques d'écosystèmes. Les agents sont représentés par des sphères, ils peuvent se

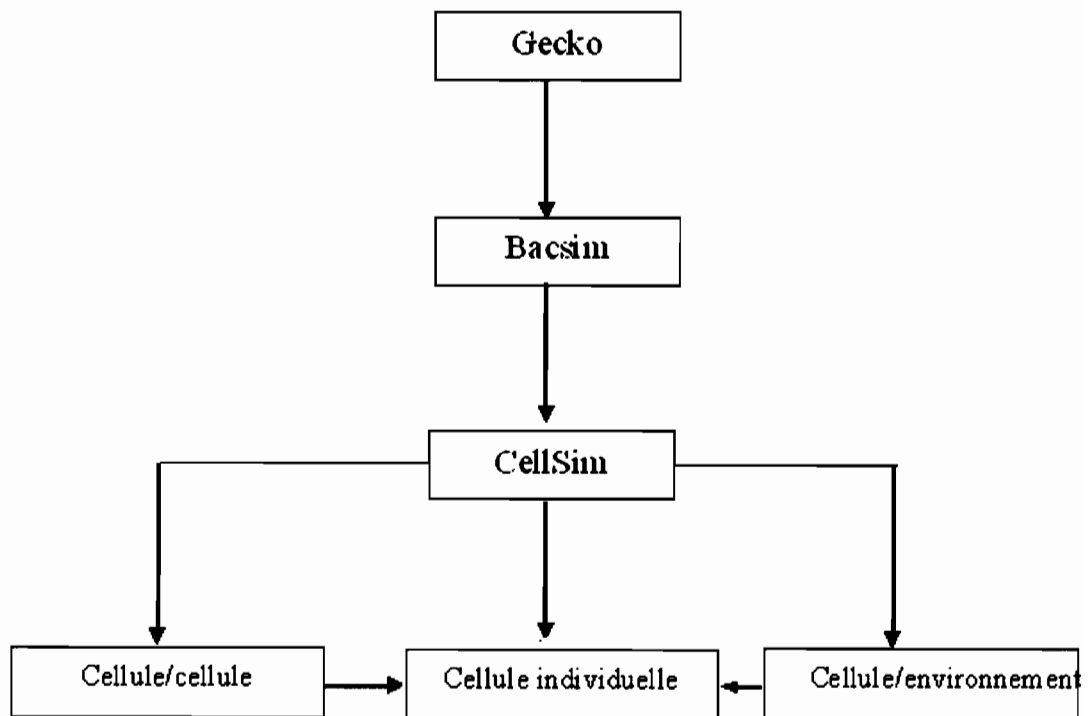


Figure 6.1: Figure 6.3: Le simulateur DivCellSim

déplacer, grossir ou diminuer de volume et des comportements compétitifs sont mis en place pour le partage de ressources nutritives. Des classes spécifiques pour des végétaux, herbivores et carnivores sont définies [15]. Gecko a été également utilisé au monde de la microbiologie. BacSim [56] est un IBM des populations bactériennes. Le simulateur de Bacsim est une extension de Gecko, pour modéliser la croissance des bactéries en particulier les colonies des bactéries E-coli et l'organisation du biofilm.

DivCellSim

Notre simulateur s'appelle "DivCellSim". Pour le lancement de notre simulateur, on commence par un nombre N de cellules représentées sous forme de cercles dispersées au début sur un plan et sur la même ligne de l'espace qu'on appelle substrat. Chaque cellule a sa position affectée au centre du cercle, a ses propres coordonnées dans l'espace et doit suivre les étapes suivantes: croissance selon l'équation du volume (6.2), mise à jour des positions (les coordonnées des cellules dans le repère du simulateur), réarrangement des voisines pour éviter le chevauchement selon l'approche de Bacsim et enfin la division en deux cellules filles (quand la cellule atteint l'âge de division donné par $t_a + T$).

6.4.4 L'interface graphique du simulateur

Nous utilisons une interface pour présenter le simulateur qui permet de tester plusieurs scénarios et visualiser en temps réel le comportement de la croissance et la division des cellules.

Cette interface (Figure 6.4) se compose d'une fenêtre principale où nous avons:

- 1) Un panneau de commandes avec des boutons. Certains de ces boutons peuvent ouvrir une petite fenêtre où on peut changer certains paramètres où annuler leur

fonction :

- i) boutons de contrôle: bouton "simulation" pour changer le temps de simulation et le pas de temps de visualisation, bouton "pause" pour arrêter la simulation, bouton "continuer" pour reprendre la simulation si elle est arrêtée, bouton "recommencer" pour réinitialiser et recommencer la simulation dès le début si on a changé certains paramètres et bouton "sortir" pour quitter la simulation.

- ii) boutons du modèle: un bouton "paramètre" affecté aux paramètres du modèle tel que le nombre de cellules initiale, taux d'absorption k_{c_1} , paramètre lié au substrat $E...$ et nous pouvons ajouter autant de paramètres que l'on veuille.

2) fenêtre de simulation: elle permet de visualiser à chaque instant l'évolution de la population des cellules représentées comme des cercles.

3) Un panneau de légende où on met le compteur de temps et la légende "cellules" en rouge.

A côté de cette fenêtre principale on peut visualiser deux fenêtres représentant les courbes de l'évolution de la population i.e le nombre des cellules au cours du temps et la biomasse totale.

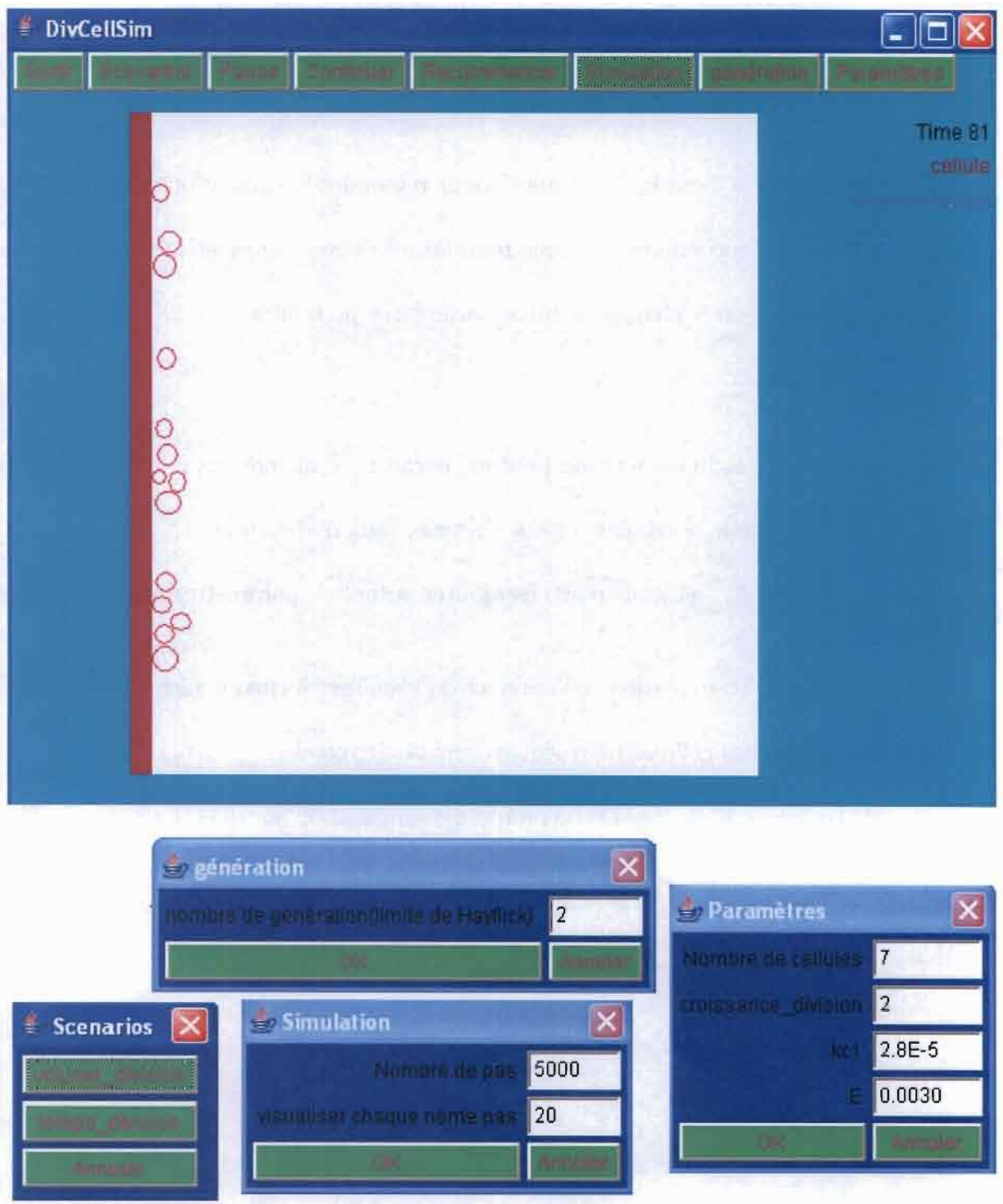


Figure 6.4: Interface du simulateur DivCellSim et les boites des boutons .

6.5 Résultats

Les résultats présentés dans ce chapitre constituent une synthèse des expériences menées à l'aide du simulateur de l'IBM présenté sur le comportement de la population de cellules. L'objectif est d'étudier la dynamique qu'on observe au niveau de la population à partir du comportement modélisé au niveau d'une cellule. Nous avons étudié plusieurs scénarios sur le comportement du système et nous avons également observé la manière dont ces grandeurs variaient d'une simulation à l'autre, pour les mêmes valeurs des paramètres.

Ci dessous nous présentons une capture d'écran de la simulation après un temps égal à 6080 (le pas de temps correspond à une minute).

6.5.1 dynamique de la population

Comme observé dans les expériences *in vitro* (les cellules en culture), la dynamique de la population cellulaire émergente du modèle IBM comprend trois phases: une première phase de croissance exponentielle, une phase très courte de ralentissement de la croissance et une phase où le nombre de cellules tend vers un plateau. Le ralentissement et le convergence vers un plateau observés en culture peuvent être liés à la limitation de l'espace, des nutriments disponibles ou l'atteinte d'une limite du nombre de division par les cellules (limite de Hayflick). Le même résultat est observé dans notre simulation (Figure 6.6).

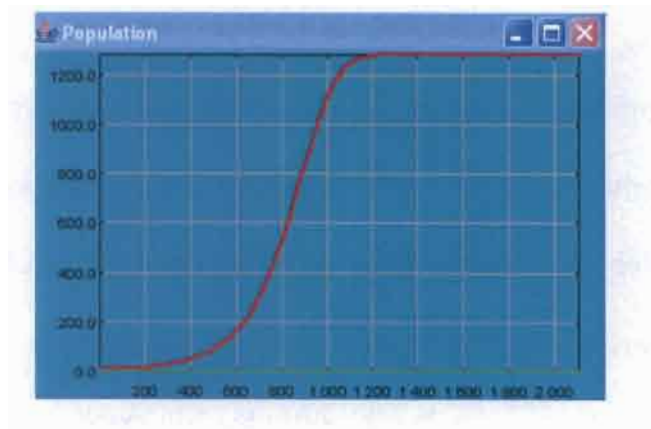


Figure 6.6 : graphique de l'évolution de la population cellulaire, $N=10$ (6.5)

Le temps mis pour atteindre l'équilibre a été obtenu en faisant plusieurs simulations pour chaque scénarios. Nous remarquons également que l'évolution de la population est bien une populations asynchrone (c'est à dire que les cellules ne se divisent pas en même temps).

Les graphiques figures 6.7 et figure 6.8 représentent l'influence des paramètres de l'IBM sur la croissance de la population et le temps de stabilisation.

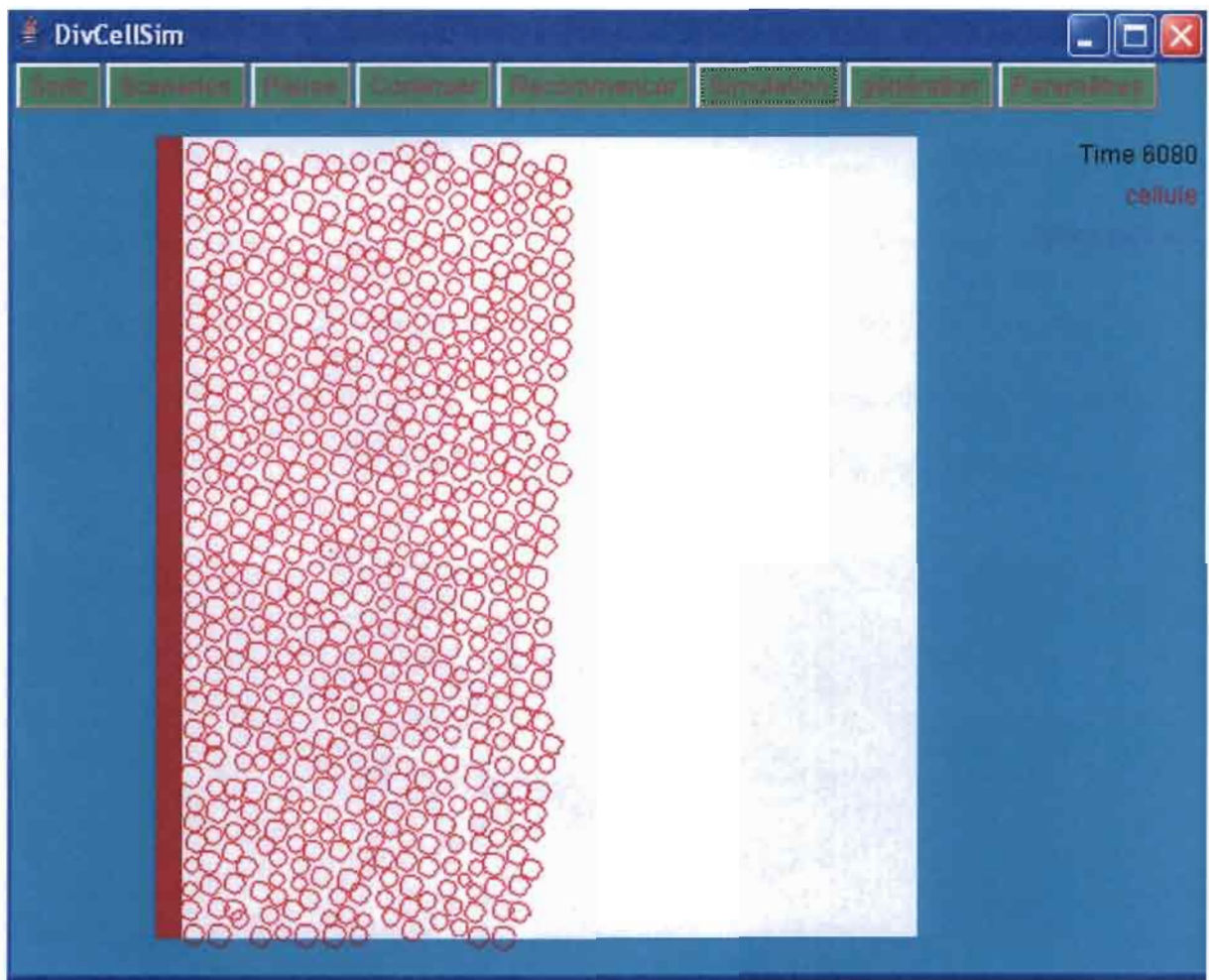


Figure 6.5 :capture d'écran après un certain temps de simulation

Effet du taux d'absorption k_{c1}

Dans la figure 6.7, nous analysons l'influence du paramètre k_{c1} pour un nombre initial N de cellules. Nous observons que pour un taux d'absorption du substrat au niveau de la cellule élevé la population peut évoluer plus rapidement qu'un taux d'absorption bas mais la différence n'est pas très importante. Ceci est peut être du à l'effet lent du temps de déclenchement de l'ADN et par conséquent le temps de division qui est géré par l'équation (6.3).

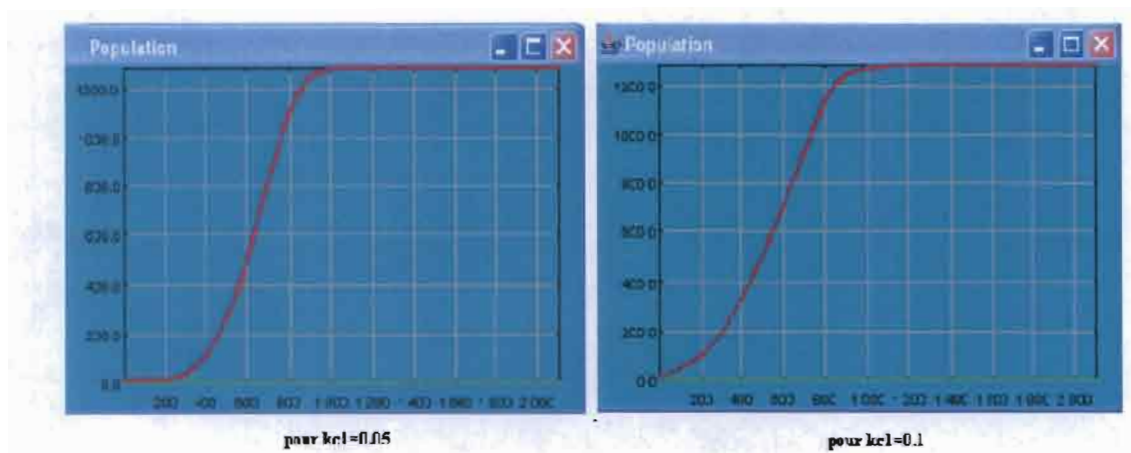


Figure 6.7 : Effet du taux d'absorption sur la population

Effet du substrat

Un autre scénario a été testé concernant la ressource nutritive qui est le substrat. Le paramètre indiquant l'effet du substrat sur la cellule est E . En faisant varier ce paramètre, on remarque que plus E est élevé plus le taux de croissance de la population est grand jusqu'à la stabilisation (Figure 6.8) mais un certain moment la différence de la croissance n'est plus significative et on peut expliquer ceci du fait que même si la quantité du substrat est élevée, la cellule n'absorbe pas beaucoup plus

qu'elle n'en a besoin et plus qu'elle ne peut en faire pénétrer à travers sa surface.

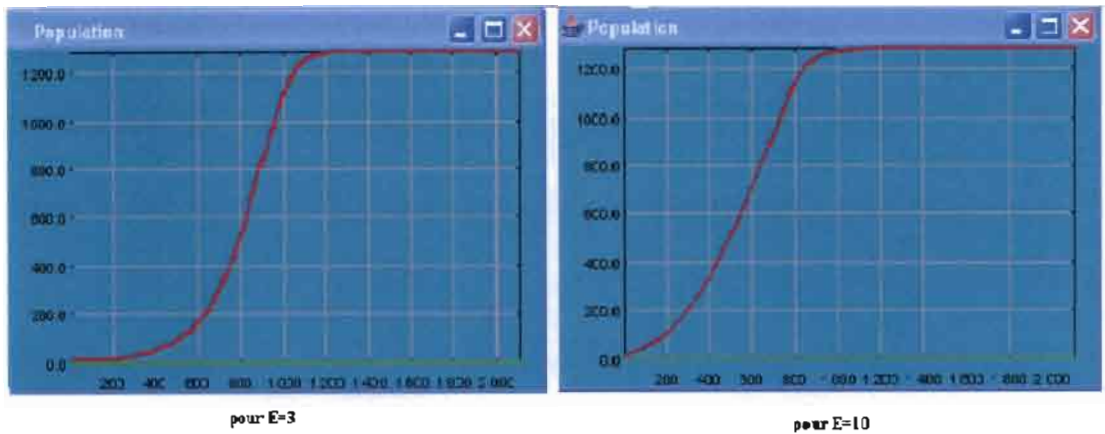


Figure 6.8 : Effet du paramètre E sur la population.

6.6 Conclusion

Le simulateur nous a permis de reconstituer un tissu cellulaire virtuel à partir de cellules dispersées initialement au hasard sur le substrat. Chaque cellule est considérée comme un agent autonome exécutant un ensemble de règles pour croître, se diviser et s'organiser dans l'espace avec les autres cellules. Les simulations apportent une meilleure compréhension du comportement des cellules entre elles et les cellules avec leur environnement.

Par ailleurs, Le modèle suppose que les mêmes molécules qui stimulent la croissance volumique de la cellule stimulent également les molécules qui commandent le temps de division. Ce qui permet, à la croissance de la cellule et sa division en deux cellules, d'être en harmonie.

Nous remarquons que même si le modèle est simple et que les règles gérant le cycle cellulaire, les interactions cellule/cellule et cellule/environnement ne sont pas très développées, nous avons pu reproduire certains scénarios qui sont plus ou moins com-

patibles avec les observations expérimentales. Nous remarquons également que les cellules petit à petit forment une colonie et la population suit bien une croissance exponentielle avant de se stabiliser. Nous avons testé certains paramètres de l'IBM pour voir leur effet sur la population tel que le taux d'absorption des nutriments de l'environnement extérieur vers l'intérieur de la cellule à travers sa surface.

Ce genre de modèle permettra peut être d'explorer des phénomènes de dérèglement dans un tissu à partir d'un outil de modélisation et de simulation de la vie cellulaire et de comprendre la variété des comportements collectifs qui peuvent résulter d'un jeu des lois locales des cellules.

Nous pouvons penser à étendre le modèle en introduisant des interactions beaucoup plus complexes par exemple l'évolution des protéines ou des gènes dans le cycle cellulaire reliant le niveau des molécules au comportement et la formation des tissus au lieu d'utiliser une seule équation qui représente la croissance de l'ensemble des molécules . Nous pouvons également penser à une meilleure présentation du modèle par une interface en 3D ou encore introduire plusieurs types de cellules et tester des expériences qui s'approchent du comportement des populations cellulaires in vitro ou in vivo ou encore voir l'effet de propagation de cellules cancéreuses dans un tissu sain. Nous espérons également explorer les relations qui existent entre les fonctions des cellules et la structure de leur environnement.

Partie V

Conclusion générale

Ce travail rentre dans le cadre de la modélisation pour aborder un processus biologique possédant plusieurs niveaux d'organisation: moléculaire, cellulaire et tissulaire. Trois points de recherche ont été développés à travers ce travail: une analyse de données, une modélisation mathématique et une modélisation informatique.

Le premier point nous a permis de reconstituer le profil au cours du temps d'une substance importante pour la progression du cycle cellulaire qui est la cycline E et ce grâce aux données récoltées par la technique du cytomètre en flux. En utilisant la méthode d'optimisation classique des moindres carrés appliquée aux données sur les lignées de cellules du fibroblaste du foie, nous avons obtenu la description de l'évolution de la cycline E durant le cycle cellulaire par tranche d'âge en chaque phase du cycle. La détection et la comparaison des profils semblables pour d'autres protéines impliquées dans le contrôle du cycle devraient contribuer à une compréhension quantitative de leurs rapports. C'est à partir de ce type de résultat qu'on peut construire des modèles mathématiques représentant le cycle cellulaire et les interactions moléculaires impliquées pour la progression de ce cycle d'une phase à une autre jusqu'à la division de la cellule.

Par ailleurs, nous avons établi un modèle mathématique dans lequel l'évolution temporelle des substances essentielles pour la progression du cycle cellulaire dans la phase G1 sont exprimées sous forme d'un système de quatre équations différentielles. La caractéristique importante de ce modèle est qu'il représente différents scénarios qui peuvent avoir lieu dans la vie d'une cellule à savoir la transition de la phase G1 à la phase S ou encore l'arrêt du cycle dans la phase G1. Nous avons mis en évidence le rôle du paramètre k_3 (taux de croissance de l'inhibiteur p27) et nous avons vu

que pour une valeur critique du taux de croissance de cet inhibiteur, nous avons un changement de stabilité. En effet, pour $k_3 < k^*$ l'unique équilibre est stable et donc la cellule passe de la phase G1 à la phase S et continue son cycle. Par contre si $k_3 > k^*$ alors cet équilibre est instable, ce qui correspond à une croissance du p27 élevée qui mène la cellule à arrêter son cycle. D'autre part si k_3 est proche de k^* une bifurcation super-critique se produit et ainsi une solution périodique stable apparaît à droite de k^* . Ceci est un phénomène intéressant qui peut correspondre à tous les points possibles que la solution puisse atteindre. C'est à dire ou bien le seuil appartient à cette orbite périodique et alors le CycE/CDK2 peut l'atteindre ce qui permet à la cellule de passer à la phase S ou bien il n'appartient pas à cette orbite et donc le CycE/CDK2 ne peut pas atteindre le seuil et la cellule reste en G1.

Dans le cas où la transition de G1 à S a lieu nous avons complété le modèle par un système linéaire représentant le reste du cycle cellulaire (S, G2/M) ensuite on a couplé le modèle complé du cycle cellulaire avec un modèle de la dynamique des populations. Nous avons donc obtenu un modèle de la dynamique de population cellulaire structuré en âge et en quantité du complexe cycE/CDK2 régié par le système du cycle cellulaire. Le développement pour l'étude de la solution du modèle couplé, donné par un système d'EDP, nous a mené à une équation intégrale à retard et la méthode utilisée pour l'étude de cette équation nécessite l'étude du semi-groupe associé à l'opérateur de l'équation intégrale. La démarche est inspirée par celle qui est développée par Arino et al. dans 25 où les auteurs ont étudié le semi-groupe des opérateurs associé au problème d'évolution. Nous avons ainsi démontré que le semi-groupe associé est quasi-compact. Par ailleurs, la quasicompacité du semi-groupe nous a aidé à voir le

comportement asymptotique de la densité $P(t, x)$ des cellules à la naissance (juste après la division des cellules mères) avec une quantité x de la cycE/CDK2 à l'instant t et nous avons obtenu le résultat suivant:

$$P(t, x) \underset{t \rightarrow +\infty}{\sim} \exp(\lambda^* t) \mu^*(x)$$

appelé un état stationnaire exponentiel avec λ^* est la valeur propre dominante.

Un autre point dans ce travail a été abordé qui consiste en la modélisation informatique par multi-agents. Nous avons construit un modèle IBM représentant la croissance de la cellule individuelle et son organisation spatiale avec les cellules voisines. Le simulateur conçu constitue un laboratoire virtuel de l'étude du comportement d'une colonie de cellules. Nous nous sommes intéressés à la variété des comportements collectifs qui peuvent résulter d'un jeu de lois locales données a priori sur les cellules. Cet outil a permis d'étudier les processus d'organisation structuraux et fonctionnels d'un tissu à partir des lois de ses éléments constitutifs qui sont les cellules. Les simulations obtenues confirment bien que le modèle est un modèle d'une population cellulaire asynchrone avec une croissance exponentielle.

REFERENCES

- Aguda B., " A quantitative analysis of the kinetics of the G2 DNA damage checkpoints system", *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 96, 11352-11357 (1999).
- Ciliberto A. et Tyson J.J., " Mathematical model for early development of the sea urchin embryo ", *Bull.Math.Biol.*, vol. 62 1: 37-59 (2000).
- Arino O. and Kimmel M., "Asymptotic analysis of a cell cycle model based on unequal division.", *Siam J. Appl. Math.* 47, 128-145 (1987).
- Arino O. and Kimmel M., "Asymptotic behavior of a nonlinear functional-integral equation of cell kinetics with unequal division", *J. Math. Biol.* 27: 341-354 (1989).
- Arino O. and Kimmel M., "Asymptotic behavior of nonlinear semigroup describing a model of selective cell growth regulation", *J. Math. Biol.* 29: 289-314 (1991).
- Arino O., Kimmel M. and Zerner M., "Analysis of a cell population model with unequal division and random transition". In Arino O., Axelrod D.E. and Kimmel M., eds. *Mathematical Population Dynamics. Lecture Notes in Pure and Applied Mathematics*, 131 Marcel Dekker, New York, 13-27 (1991).
- Arino O., "Some spectral properties for the asymptotic behavior of semigroups connected to population dynamics", *SIAM Review* 34: 445-476 (1992).
- Arino O. and Kimmel M., "Comparison of approaches to modeling of cell population dynamics", *SIAM J. Appl. Math.* 53: 1480-1504 (1993).
- Arino O., "A survey of structured cell population dynamics", *Acta Biotheor.* 43: 3-25 (1995).
- Arino O. and Sanchez E., "A survey of cell population dynamics", *J. Theor. Med.* 1: 35-51 (1997).
- Arino O., Sanchez E. and Webb G., "Structured cell population dynamics", second international summer school on Mathematics and Physiology of the Cell held in Termoli, Italy (1999).
- Bell G.I., Anderson.E.C, "Cell growth and division. I. A mathematical model with applications to cell volume distributions in mammalian suspension cultures", *Biophys. J.* 7, 329351, (1967).
- Bhalla U. S, Iyengar R, "Emergent properties of networks of biological signaling pathways". *Science.* Vol. 283. 381-386 (1999).
- Bonsall F. F., Duncan J., "Numerical Ranges of Operators on Normed Spaces and Elements of Normed Algebras", Cambridge University Press, London (1971).

Booth G., "Gecko: A Continuous 2D World for Ecological Modeling", *Artificial Life*, Vol. 3, Issue 3 - Summer 1997.

Cavalla P., Schiffer D., Cell cycle and proliferation markers in neuroepithelial tumors. *Anticancer Research*. 17. 6B. 4135-4143 (1997).

Chiorino G., Arino O. and Ubezio P., "Cell cycle regulation and perturbations", *Eur. Comm. Math. Theor. Biol.* 1: 7-10.(2000).

Chellapan S., Hiebert S., Mudryj M.; Horowitz J., Nevins J., "The E2F transcription factor is a cellular target for the RB protein. *Cell*. 65. 1053-106 (1991).

G. Chiorino, *Modelisation Mathematique et etude du Couplage Proliferation-Cycle Cellulaire*, these de doctorat, Université de Pau et des pays de l'Adour Dec (2000).

G. Chiorino, M. Lupi, "Variability in the timing of G1/S transition", *Mathematical Biosciences*, 177 (2002) 85-101.

Coats S ; Flanagan W. M ; Nourse J, Roberts J. M, "Requirement of p27KIP1 for restriction point control of fibroblast cell cycle". *Science*. Vol. 272. 877-880 (1996).

S. Cooper, C. Yu, J.A. Shayman, "Revisiting retinoblastoma protein phosphorylation during the mammalian cell cycle", *CMLS Cell. Mol. Life Sci.* 58 580-595 (2001).

Z. Darzynkiewicz, "Metabolic and kinetic compartments of the cell cycle distinguished by multiparameter flow cytometry from Growth", *Cancer and the Cell Cycle*, Skehan P. and Friedman S.J. eds., Humana Press (1984).

Z. Darzynkiewicz, J. Gong, G. Juan, B. Ardel, F. Traganos, "Cytometry of cyclin proteins", *Cytometry* 25, 1-13(1996).

Huston M., De Angelis D., Post W., New computer models unify ecological theory. *Bioscience*, Vol 38, n°10, (1988).

R.J. Deshaies, T. Jacks, "Cell multiplication. Peering in and peering out: regulation of and by the cell cycle", *Curr Opin Cell Biol.* Dec, 11(6): 705-707 (1999).

Diekmann O., Heijmans H.J.A.M. and Thieme H.R., "On the stability of the cell size distribution", *J. Math. Biol.* 19: 227-248 (1984).

D. Donjerkovic, D.W.Scott, "Regulation of the G1 phase of the mammalian cell cycle", *Cell Res.* Mar 10(1) 1-16 (2000).

Engel K.J., Nagel R., "One-Parameter Semigroups for Linear Evolution Equations", *Graduate Texts in Mathematics* 194, Springer-Verlag, (1999).

- Erlanson M., Landberg G., "Flow cytometric quantification of cyclin E in human cell lines and hematopoietic malignancies", *Cytometry* 32: 214-222 (1998).
- Erlandsson F., Linnman C., Ekholm S., Bengtsson E., Zetterberg A., "A detailed analysis of cyclin A accumulation at the G(1)/S border in normal and transformed cells, *Exp. Cell Res.* 259: 86-95 (2000).
- Faretta M., Bergamaschi D., Taverna S., Ronzoni S., Pantarotto M., Mascellani E., Cappella P., Ubezio P., Erba E., "Characterization of cyclin B1 expression in human cancer cell lines by a new three-parameter BrdUrd/cyclin B1/DNA analysis", *Cytometry* 31: 53-59 (1998).
- Fredrickson A.G., Ramkrishna D., Tsuchiya H.M., "Statistics and dynamics of procaryotic cell population", *Math. Biosc.* 1, 327-374, (1967).
- Y. Geng, E.N. Eaton, M. Picon, J.M. Roberts, A.S. Lundberg, A. Gifford, C. Sardet, R.A. Weinberg, "Regulation of Cyclin E transcription by E2F's and Retinoblastoma protein", *Oncogen* 12 1173-1180 (1996).
- Goldbeter A., "A minimal cascade model for the mitotic oscillator involving cyclin and cdc2 kinase", *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, vol. 88: 9107-11 (1991).
- Darzynkiewicz Z., Gong J., Juan G., Ardel B., Traganos F., "Cytometry of cyclin proteins", *Cytometry* 25: 1-13
- Juan G., Gong J., Traganos F., Darzynkiewicz Z., "Unscheduled expression of cyclins D1 and D3 in human tumour cell lines", *Cell Proliferation* 29: 259-266 (1996).
- J. Gong, F. Traganos, Z. Darzynkiewicz, "Threshold expression of cyclin E but not D type cyclins characterizes normal and tumour cells entering S phase", *Cell Proliferation* 28: 337-346 (1995).
- Graña X., Premkumar Reddy E. "Cell cycle control in mammalian cells : role of cyclins, cyclin dependent kinases (CDKs), growth suppressor genes and cyclin-dependent kinase inhibitors (CKIs)", *Oncogene*. 11. 211-219 (1995).
- Graña M, Acerenza L, "A model combining cell physiology and population genetics to explain the evolution of *Escherichia coli* in laboratory experiments". *BMC Evol Biol*, 1: 12 (2001).
- Grimm V., "Ten years of individual-based modelling in ecology: what we have learned and what could we learn in the future?", *Ecological modelling*, 115: 129-148(1999).
- Gyllenberg M., Webb G.F., "Quiescence in structured population dynamics: Applications to tumor growth, in *Mathematical Population Dynamics*", O. Arino, D. Axelrod, M. Kimmel (Eds.), Marcel Dekker, 45-62 (1991).

Hall M ; Bates S and Peters G, Evidence for different modes of action of cyclin-dependent kinase inhibitors : p15 and p16 bind to kinases, p15 and p16 bind to kinases, p21 and p27 bind to cyclins. *Oncogene*. 11. 1581-1588 (1995).

LH. Hartwell, MB. Kastan, "Cell cycle control and cancer", *Science* Dec 16 , 266 (5192), (1994) 1821-1828.

V. Hatzimanikatis, K.H. Lee, J.E. Bailey, "A Mathematical Description of Regulation of the G1-S Transition of the Mammalian Cell Cycle", *Biotechnol Bioeng*. Dec 20, 65(6), 631-637 (1999).

Howard A, Pelc S. R, "Synthesis of deoxyribonucleic acid in normal and irradiated cells and its relation to chromosome breakage", *Heredity*. Lond. (Suppl. 6). 261-273 (1953).

Huhns M. N., "Distributed Artificial Intelligence", Pitman, 1987.

Jennings N. R., Sycara, K., Wooldridge M., "A roadmap of agent research and development". *Autonomous Agents and Multi-Agent Systems*, 1, 275-306 (1998).

Juan G., Li X., Darzynkiewicz Z., "Correlation between DNA replication and expression of cyclins A and B1 in individual MOLT-4 cells", *Cancer Res*. 57: 803-807 (1997).

Kholodenko B. N ; Demin O. V ; Moehren G, Hoek J. B, "Quantification of short term signaling by the epidermal growth factor receptor". *J. Biol. Chemistry*. Vol. 274. No. 42. 30169-30181 (1999a).

Kimmel M., Darzynkiewicz Z., Arino O. and Traganos F., "Analysis of a cell cycle model based on unequal division of metabolic constituents to daughter cells during cytokinesis", *J. Theor. Biol*. 110: 637-664 (1984).

A. Koff, A. Giordano, D. Desai, K. Yamashita, J.W. Harper, S. Elledge, T. Nishimoto, D.O. Morgan, B.R. Franza, J.M. Roberts, "Formation and activation of a cyclin E-cdk2 complex during the G1 phase of the human cell cycle", *Science*. Sep 18;257(5077), 1689-94 (1992).

K.W. Kohn, "Functional capabilities of molecular network components controlling the mammalian G1/S cell cycle phase transition", *Oncogene*. Feb 26, 16(8), 1065-1075 (1998).

K.W. Kohn, "Molecular interaction map of the mammalian cell cycle control and DNA repair systems", *Mol Biol Cell*. Aug 10(8), 2703-2734 (1999).

Kreft J.U, Booth G, BacSim, "a simulator for individual-based modelling of bacterial colony growth", *Microbiology Wimpenny JWT*, 144: 3275-3287 (1998).

Kreft J.U, "Biofilms promote altruism", *Microbiology*, 150: 2751-2760 (2004).

- Lasota A., Mackey Mc., "Globally asymptotic properties of proliferation cell populations", *J.Math.Biol*, 19(1) : 43-62 (1984).
- Lasota A., Mackey Mc., "Probabilistic properties of deterministic systems", Cambridge, Cambridge University Press, (1985).
- Legay J.-M., *L'expérience et le modèle, Un discours sur la méthode*. INRA éditions, (1997).
- G. Leone, J. DeGregori, L.Jakoi, J.G. Cook, J.R. Nevins, "Collaborative role of E2F transcriptional activity and G1 cyclin-dependent kinase activity in the induction of S phase", *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 96 6626-6631 (1999).
- Lew D.J., Duli V., Reed S.I., "Isolation of three novel human cyclins by rescue of G1 cyclin (Cln) function in yeast", *Cell* 661197-1206 (1991).
- Lieberman I., Abrams R., Ove P., "Changes in the metabolism of ribonucleic acid preceding the synthesis of deoxyribonucleic acid in mammalian cells cultured from the animal", *J. Biol. Chem.* 238. 2141-2149 (1963).
- J.Lukas, T.Herzinger, K. Hansen, M.C.Moroni, D. Resnitzki, K. Helin, S. Reed, J. Bartek , "CyclinE induced S phase without activation of the pRb/E2F pathway", *Gen. Dev.* 11 (1997) 1479-1492.
- Marcelpoil R. , Beaufrepaire E., Pesty S., "La sociologiecellulaire : modéliser et simuler une société cellulaire pour étudier le vivant", *Intellectica*, pp. 53-72, n°19, (1994).
- Metz J.A.J, Diekmann O., "Dynamics of physiologically structured populations", *Lecture Notes in Biomath*, 86, Springer-Verlag (1986).
- Mikulits W., Dolznig H., Edelmann H., Sauer T., Deiner E.M., Ballou L., Beug H., Mullner E.W., "Dynamics of cell cycle regulators: artifact-free analysis by recultivation of cells synchronized by centrifugal elutriation", *DNA Cell Biol.* 16: 849 -859 (1997).
- S. Mittnacht, "Control of pRb phosphorylation", *Curr. Op. Gen. Dev.* 8 21-27 (1998).
- Montalenti F.,Sena G., Cappella P., Ubezio P., "Simulating cancer cell kinetics after drug treatment: application to cisplatin on ovarian carcinoma", *Phys. Rev. E* 57 5877-5887 (1998).
- Morel D., Marcelpoil R. and Brugal G., "A proliferation control networks model : application to the simulation of epithelial homeostasis and tumour genesis in 2D", proceedings of the second international conference on Deterministic and stochastic modeling of biointeraction, Purdue University, West Lafayette (Indiana), 23-27 august 2000.

- Morgan, D. O., "Principles of CDK regulation", *Nature*. Vol. 374. 131-134 (1995).
- Murray A. W. and Kirschner M. W., "Dominoes and clocks: the union of two views of the cell cycle, *Science*", vol. 246: 614-621 (1989).
- K.I. Nakayama, S. Hatakeyama, K. Nakayama, "Regulation of the cell cycle at the G1-S transition by proteolysis of cyclin E and p27Kip1", *Biochem Biophys Res Commun*. Apr 13, 282(4), (2001) 853-860.
- R.Norel, Z.Agur , "A model for the adjustment of the mitotic clock by cyclin and MPF levels", *Science*. Mar 1, 251(4997), 1076-1078 (1991).
- B Novak, J.J.Tyson, "Modeling the cell division cycle: M-phase trigger, oscillations, and size control", *J. Cell Science*. 106. 1153-1168 (1993).
- M.N. Obeyesekere, S.L. Tucker, S.O. Zimmerman, "Mathematical models for the cellular concentrations of cyclin and MPF", *Biochem Biophys Res Commun*. Apr 30, 184(2): 782-9 (1992).
- M.N. Obeyesekere , J.R. Herbert , S.O. Zimmerman , "A model of the G1 phase of the cell cycle incorporating cyclin E/cdk2 complex and retinoblastoma protein", *Oncogene* Sep 21, 11(6), 1199-1205 (1995).
- M.N. Obeyesekere, E.S. Tecarro, "Analysis of a model of the Mammalian Cell cycle's G1 phase", *Nonlinear Analysis and Applications, Real World Applications* 4 (2003), 87-107.
- Painter P.G., Marr A.G., "Mathematics of microbial populations", *Ann. Rev. Microbiol.*, 22, 519-548, 1968.
- Slingerland J, Pagano M, "Regulation of the cdk inhibitor p27 and its deregulation in cancer", *J Cell Physiol*. Apr;183(1):10-17 (2000).
- Phillips R.S., "A note on the abstract Cauchy problem", *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 40: 244-248 (1954).
- Pines J., "Four-dimensional control of the cell cycle". *Nature. Cell Biol*. Vol. 1. E73-E79 (1999).
- Polyak, K ; Kato J. Y ; Solomon M. J ; Sherr C. J ; Massague, J ; Roberts, J. M and Koff, A p27Kip1, a cyclin-Cdk inhibitor, links transforming growth factor-beta and contact inhibition to cell cycle arrest. *Genes Dev*. 8. 9-22 (1994).
- Polymenis M. and Schmidt E.V., "Coupling of cell division to cell growth by translational control of the G₁ cyclin CLN3 in yeast", *Genes Dev*. 11: 2522-31 (1997).
- Priori L., Ubezio P., "Mathematical modelling and computer simulation of cell synchrony", *Methods Cell Sci*. 18: 83-91(1996).

- Sanchez E., Arino O. and Kimmel M., "Noncompact semigroups of operators generated by cell kinetics models", *Differential and Integral equations*, 4: 1233-1249 (1991).
- Savchenko V., Basnakian A., Pasko A., Ten S., Huang R. "Simulation of a growing mammalian cell colony: collision-based packing algorithm for deformable particles", *Computer Graphics: Developments in Virtual Environments*, R.Earnshaw and J.Vince (Eds.), (CG International'95 Conference, Leeds, UK, June 26-30), Academic Press, 437-447 (1995).
- Sena G., Onado C., Cappella P., Montalenti F., Ubezio P., "Measuring the complexity of cell cycle arrest and killing of drugs: kinetics of phase-specific effects induced by taxol", *Cytometry* 37: 113-124 (1999)
- R.j. Sheaff, M. Groudine, M. Gordon, J.M. Roberts, B.E. Clurman, "Cyclin E-CDK2 is a regulator of p27^{KIP1}", *Genes & Development* 11 (1997) 1464-1478.
- C.J. Sherr, "Cancer cell cycles", *Science* Dec 6, 274(5293): 1672-1677 (1996).
- C.J. Sherr, J.M. Roberts, "CDK inhibitors: positive and negative regulators of G1-phase progression", *Genes Dev.* Jun 15;13(12), (1999) 1501-1512.
- Sinko J.W., Streifer W., "A model for age-size structure of population", *Ecology*, 48, 910-918, (1967).
- J. Slingerland, M. Pagano, "Regulation of the cdk inhibitor p27 and its deregulation in cancer", *J. Cell Physiol.* Apr 183(1), (2000):10-17.
- Smallwood R H, Holcombe W M L, Walker D C, "Development and validation of computational models of cellular interaction", (2004).
- Smallwood R H, Holcombe M, Walker D C, Southgate J, Hill G, Hose D R, Wood S M, "the epithelium: agent-based modelling of the social behavior of cells", (2003).
- Steel G., "Growth Kinetics of Tumours", Clarendon Press, Oxford, (1977).
- C.D. Thron, "Mathematical analysis of a model of the mitotic clock", *Science*. Oct 4, 254 (5028), (1991) 122-123.
- Tyson J. and Hannsgen K..B., "Cell growth and division : a deterministic/probabilistic model of the cell cycle ". *J.Math.Biol.*, vol. 23(2) : 231-246 (1986).
- Tyson J. J., "Modelling the cell division cycle: cdc2 and cyclin interactions." *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, vol. 88: 7328-7332 (1991).
- Novak B. and Tyson J.J., "Numerical analysis of a comprehensive model of M-phase control in *Xenopus* oocyte extracts and intact embryos", *J Cell Sci.*, vol.106, 1153-1168 (1993).

B. Novak, A. Csikasz-Nagy, B. Gyorffy, K. Chen, J.J. Tyson, "Mathematical model of the fission yeast cell cycle with checkpoint controls at the G1/S, G2/M and metaphase/anaphase transitions", *Biophys. Chem.* 72 185-200 (1998).

J.J. Tyson, B. Novak, "Regulation of the eukaryotic cell cycle: molecular antagonism, hysteresis, and irreversible transitions", *J Theor Biol.* May 21, 210(2): 249-263 (2001).

H. Toyoshima, T. Hunter, p27, "A novel inhibitor of G1 cyclin-Cdk protein kinase activity is related to p21", *Cell.* Jul 15, 78(1), (1994) 67-74.

Ubezio P., "Relationship between flow cytometric data and kinetic parameters", *Eur. J. Hist.* 37 (Supp.4) 15-28 (1993).

Val J. and Tyson J., "A purely deterministic model for the population dynamics of budding yeast", in *Advances in Mathematical Population Dynamics - Molecules, Cells and Man*, (Arino, O., Axelrod, D. and Kimmel, M., eds), World Scientific (1997).

Vercouter L., Franchesquin N., Treuil J.-P., Pinson, S. "Simulation multi-agent des processus de négociation en agronomie : un exemple de gestion locale sous contrainte collective", *Cahier du LAMSADE no115, Juillet* (1999).

Viallard J.F., Lacombe F., Dupouy M., Ferry H., Belloc F., Reiffers J., "Flow cytometry study of human cyclin B1 and cyclin E expression in leukemic cell lines: cell cycle kinetics and cell localization", *Exp. Cell Res.* 247: 208-219 (1999).

Voit E. O, *Computational analysis of biochemical systems.* Cambridge University Press (2000).

Webb G.F., "Theory of Nonlinear age-dependent population dynamics", *Monographs and Textbooks in Pure and Appl. Math. Series, 89*, Dekker, (1985).

Weng G, Bhalla U. S, Iyengar R, "Complexity in biological signaling systems". *Science.* Vol. 284. 92-96 (1999).

Wiggins S., *Introduction to Applied Nonlinear Dynamical Systems and Chaos*, Texts in Applied Mathematics, Springer-Verlag New York, vol. 2, (1990).

Partie VI

Outils Mathématiques

Chapitre 7

Rappels

7.1 Rappels sur les semi-groupes

La plupart des résultats exposés dans cette section se trouvent dans Henry (1981), Nagel (1998) et Pazy (1983).

7.1.1 Semi-groupe fortement continu

Soit X un espace de Banach, muni de la norme $\|\cdot\|$. Dans toute la suite, on notera par Id , l'opérateur identité sur X .

Definition 2 (*semi-groupe fortement continu*) [Pazy] *Etant donnée une famille $(T(t))_{t \geq 0}$ d'opérateurs linéaires bornés sur X , nous dirons que cette famille est un semi-groupe fortement continu sur X si et seulement si les trois propriétés suivantes sont satisfaites:*

(i) $T(t + s) = T(t)T(s)$ pour $t \geq 0$ et $s \geq 0$,

(ii) $T(0)x = x$, pour tout $x \in X$,

(iii) Pour tout $x \in X$ fixé, l'application: $t \longrightarrow T(t)x$ est continu sur $[0, \infty[$.

Un semi-groupe fortement continu d'opérateurs linéaires bornés est aussi appelé C_0 semi-groupe. La même notion peut être définie dans le cas non linéaire.

Au semi-groupe $T(t)$, on fait correspondre la famille d'opérateurs A_t , pour $t > 0$, définie par

$$A_t \varphi = \frac{1}{t} (T(t)\varphi - \varphi), \text{ pour } t > 0 \text{ et pour } \varphi \in X.$$

Cette famille nous permet de définir le générateur infinitésimal d'un semi-groupe.

Definition 3 (générateur du semi-groupe) [Pazy] Le générateur infinitésimal du semi-groupe $(T(t))_{t \geq 0}$ est l'opérateur A défini sur le domaine

$$D(A) = \left\{ x \in X, \lim_{t \rightarrow 0} A_t x \text{ existe} \right\},$$

par

$$\text{pour } x \in D(A), Ax = \lim_{t \rightarrow 0} A_t x.$$

Theorem 29 de Hille-Yosida Une condition nécessaire et suffisante pour qu'un opérateur fermé A , à domaine dense dans $D(A)$, soit le générateur infinitésimal d'un semi-groupe fortement continu, est qu'il existe deux réels M et ω tels que:

$\forall \lambda \in \mathbb{R}, \lambda > \omega$, on a $\lambda \in \rho(A)$ et

$$\|R(\lambda, A)^n\| \leq \frac{M}{(\lambda - \omega)^n},$$

pour tout $n \geq 1$.

Si $\{T(t)\}_{t \geq 0}$ est un semi-groupe défini sur un espace de Banach alors son taux de croissance exponentielle du semi-groupe noté ω_0 est donné par la formule suivante:

$$\omega_0 = \lim_{t \rightarrow 0} \frac{1}{t} \log \|T(t)\| = \inf_{t > 0} \frac{1}{t} \log \|T(t)\|$$

et pour chaque $\omega > \omega_0$, il existe une constante $M_\omega \geq 1$ telle que:

$$\|T(t)\| \leq M_\omega \exp(\omega t), \quad t \geq 0.$$

On peut énoncer des propriétés générale sur le spectre $\sigma(A)$ du générateur infinitésimal A dans X . $\sigma(A)$ est défini comme l'ensemble des valeurs $\lambda \in \mathbb{C}$ tels que $(A - \lambda I)$ n'est pas bijectif (l'ensemble complémentaire est appelé ensemble résolvant).

$\sigma(A)$ peut être décomposé en trois ensemble:

- Le "spectre ponctuel" noté $\sigma_p(A)$;
- Le "spectre continu" noté $\sigma_c(A)$, i.e., l'ensemble des nombres complexes $\lambda \in \sigma(A)$ tel que $(A - \lambda I)$ est injectif, avec $\text{Im}(A - \lambda I)$ dense et non surjective;
- Le "spectre résiduel" $\sigma_r(A)$, i.e., l'ensemble des nombres complexes $\lambda \in \sigma(A)$ tel que $(A - \lambda I)$ est injectif, avec $\text{Im}(A - \lambda I)$ qui n'est pas dense.

La relation entre le spectre du générateur infinitésimal et le semi-groupe sont établi comme suit:

$$\exp t\sigma(A) \subset \sigma(T(t)), \quad \forall t \geq 0.$$

On appelle que le semigroupe vérifie le théorème du spectre si et seulement si:

$$\exp t\sigma(A) = \sigma^*(T(t)), \quad \forall t \geq 0,$$

avec $\sigma^* = \sigma - \{0\}$. Dans ce cas, on a:

$$\exp t\sigma_c(A) = \sigma_c^*(T(t))$$

7.1.2 Problème de Cauchy

A un opérateur linéaire non borné, fermé dans X , de domaine $D(A)$ dense dans X .

On considère le problème (P) suivant:

Trouver u , vérifiant

$$\begin{cases} (i) \frac{du}{dt} = Au & \text{pour } t > 0, \\ (ii) u(0) = u_0, \end{cases}$$

u_0 donnés.

Remark 6 Classiquement la terminologie <<problème de Cauchy>> réfère à un problème du type (P) où A est un opérateur différentiel dans \mathbb{R}^n [Dautray]. Cette notion s'étend dans les deux directions puisque (P) couvre en particulier les cas suivants:

1^{er} cas: L'opérateur A peut être un opérateur différentiel sur un ouvert Ω de \mathbb{R}^n (avec les conditions aux limites appropriées)

2^e cas: L'opérateur A peut être un opérateur abstrait dans un espace de Banach abstrait.

Theorem 30 (Pazy (1983), page 104) Soit $(A, D(A))$ le générateur d'un C_0 -semi-groupe $(T(t))_{t \geq 0}$ sur l'espace de Banach X .

Pour tout $u \in D(A)$, le problème de Cauchy

$$\begin{cases} (i) \frac{du}{dt} = Au \text{ pour } t > 0, \\ (ii) u(0) = u_0, \end{cases}$$

admet une unique solution $u : \mathbb{R}_+ \rightarrow D(A)$ qui est de classe C^1 , comme application de $\mathbb{R}_+ \rightarrow X$, pour tout $u \in D(A)$

$$u(t) = T(t)u_0.$$

7.2 Bifurcation de Hopf

7.2.1 Bifurcation de Hopf pour les équations différentielles ordinaires

Considérons l'équation différentielle ordinaire suivante

$$\frac{d}{dt}x(t) = f(\mu, x(t)) \quad (7.1)$$

où $f :]-\bar{\mu}, \bar{\mu}[\times \mathbb{R}^n \rightarrow \mathbb{R}^n$ de classe C^{k+1} , $k \in \{3, 4, \dots\}$ tels que $f(\mu, 0) = 0$ et $Df(\mu, 0)$ admet une branche de valeurs propres $\alpha(\mu) \pm i\beta(\mu)$, α et β sont deux fonctions de classe C^{k+1} définies sur l'intervalle $]-\bar{\mu}, \bar{\mu}[$ à valeurs dans \mathbb{R} telles que, $\alpha(0) = 0$, $\beta(0) = 1$ et $\frac{d\alpha}{d\mu}(0) \neq 0$.

Theorem 31 (*Bifurcation de Hopf, Théorème de Neimark-Sacker*) Soit la famille d'applications $F(\mu) : \mathbb{R}^2 \times \mathbb{R} \rightarrow \mathbb{R}^2$ appartenant à la classe C^2 et $F_\mu(x) = F(x, \mu)$. Si F_μ remplit les conditions suivantes:

1. F_μ possède un point fixe $x^* = F_\mu(x^*)$ pour tout μ dans un intervalle autour de μ_0 ,
2. les valeurs propres de $DF_{\mu_0}(x^*)$ sont $\lambda(\mu_0), \bar{\lambda}(\mu_0), |\lambda| = 1$ mais $\lambda^k \neq 1$ pour $k = 1, \dots, 4$,
3. $\frac{d}{d\mu} |\lambda_1(\mu)| = d > 0$ lorsque $\mu = \mu_0$,
4. Dans la forme normale $z_{k+1} = \lambda z + \beta(\lambda) z_k^2 \bar{z}_k + \dots$, le terme $\beta(\lambda(\mu_0)) < 0$,
alors il existe un $\varepsilon > 0$ et une courbe fermée ζ_μ de la forme $r = r_\mu(\theta)$ définie pour $\mu_0 < \mu < \mu_0 + \varepsilon$ et invariante sous F_μ . De plus, ζ_μ est attractif dans un voisinage de x^* et $\zeta_\mu \rightarrow \mu_0$ pour $\mu \rightarrow \mu_0$.

Ajoutons quelques remarques à ce théorème. La condition $\frac{d}{d\mu} |\lambda_1(\mu)| = d > 0$ lorsque $\mu = \mu_0$ signifie que les valeurs propres croisent le cercle unité de l'intérieur vers l'extérieur quand μ augmente. Si l'on inverse les inégalités (3) et (4), le théorème reste valide. Toutefois, après bifurcation, le cycle limite obtenu est répulsif tandis que le point fixe reste attractif.

7.3 Variété centre

Considérons le système continu:

$$\frac{dx}{dt} = v(x)$$

et supposons qu'il admet un point d'équilibre \bar{x} .

Tout système linéaire continu,

$$\frac{dx}{dt} = Ax$$

est décomposable (changement de base sur x) de la façon suivante :

$$\begin{cases} \frac{dx^c}{dt} = A^c x^c \\ \frac{dx^h}{dt} = A^h x^h \end{cases} \quad (7.2)$$

avec $x = (x^c, x^h)$ et $A = \begin{pmatrix} A^c & 0 \\ 0 & A^h \end{pmatrix}$ et où A^h correspon aux valeurs propres à partie réelle non nulle et A^c aux valeurs propres sur l'axe imaginaire (la partie centrale de A).

Les ensembles (espaces vectoriels) définis par $x^c = 0$ (resp. $x^h = 0$) sont invariants par le flot de (7.2). Sur l'ensemble $x^c = 0$, la dynamique est simple si toutes les valeurs propres sont à partie réelles négatives alors sur cet sous-espace le système est stable si par contre il existe une valeur propre à partie réelle positive alors sur cet sous-espace le système est instable. En revanche sur l'ensemble $x^h = 0$, l'espace vectoriel que l'on appelle espace centre, la dynamique peut être beaucoup plus complexe et les questions de stabilité doivent être étudiées au cas par cas. Si toutes les valeurs propres de A^h sont à partie réelle négative, alors la stabilité de (7.2) est entièrement conditionnée par celle du sous système central

$$\frac{dx^c}{dt} = A^c x^c$$

Une telle séparation se prolonge également au non linéaire, de la même façon. Comme pour le linéaire, si la partie sous-espace $x^c = 0$ est stable asymptotiquement, la stabilité autour de \bar{x} peut être directement analysée à partir de la dynamique sur une sous-variété (non nécessairement unique), appelée variété centre.

En linéaire, tous les calculs, changement de base et matrices A^c et A^h , sont explicites

et reposent sur la décomposition d'une matrice en sa forme de Jordan. En non linéaire, les calculs sont nécessairement approchés et donnent, de manière itérative, les termes des développements limités autour de x des équations de la variété centre et de la dynamique sur cette variété. la dynamique sur cette sous-variété. En pratique, on arrête les calculs à l'ordre à partir duquel le portrait de phases n'est plus modifié de manière qualitative par les termes d'ordre supérieur. En fait, l'idée maitresse de cette démarche se résume à faire des changements de coordonnées adaptées, de façon à éliminer la partie générée par A^c dont on connaît bien la structure, et afin de se ramener à un système de taille réduite sur la variété centre. Tout revient donc à utiliser les bonnes coordonnées, encore faut-il les construire.

Theorem 32 (*Sous-variété centre pour les systèmes continus*). Soient un champ de vecteurs v sur un ouvert U de \mathbb{R}^n , r fois continûment dérivable s'annulant en $\bar{x} \in U$, et V un petit voisinage de \bar{x} dans U . Notons ϕ_t le flot dont v est le générateur infinitésimal. Considérons E_s , E_c et E_i , les espaces propres généralisés correspondants aux valeurs propres de $Dv(\bar{x})$ à partie réelle strictement négative, nulles et strictement positive, respectivement: E_s , E_c et E_i sont des espaces vectoriels stables par $Dv(\bar{x})$ et $\mathbb{R}^n = E_s \oplus E_c \oplus E_i$. Alors, les sous-espaces,

$$W_s^{loc} = \left\{ x \in v : \lim_{t \rightarrow +\infty} \phi_t(x) = \bar{x} \text{ et } \forall t \geq 0 \phi_t(x) \in V \right\}$$

et

$$W_i^{loc} = \left\{ x \in U : \lim_{t \rightarrow +\infty} \phi_t(x) = \bar{x} \text{ et } \forall t \geq 0 \phi_t(x) \in V \right\}$$

possèdent des structures de sous-variétés différentiables de classe C^r autour de \bar{x} et admettent pour espaces vectoriels tangents en \bar{x} , E_s et E_i , respectivement. Il existe

aussi une sous-variété différentiable de classe C^{r-1} , W_c^{loc} (non nécessairement unique contrairement à W_s^{loc} , W_s^{loc} et W_i^{loc}), invariante par le flot, et dont l'espace tangent en \bar{x} est égal à E_c . W_c^{loc} est appelée sous-variété centre. Elle est définie localement autour de \bar{x} .

Soient x_c des coordonnées locales sur W_c^{loc} et $v^c(x^c)$ le champ de vecteurs induit par v sur W_c^{loc} (cela a un sens car v est tangent à W_s^{loc}). Alors

$$\frac{dx}{dt} = v(x)$$

est, autour de \bar{x} , équivalent au système suivant :

$$\begin{cases} \frac{dx^c}{dt} = v^c(x^c) \\ \frac{dx^s}{dt} = -x^s \\ \frac{dx^i}{dt} = x^i \end{cases}$$

où les dimensions de x^s et x^i sont égales à celles de E_s et E_i .

L'intérêt de cette décomposition en trois sous-variétés invariantes est alors clair.

D'une part, elle permet, au moins par un changement de variables continu (et pas nécessairement dérivable), de se ramener à des équations découplées, d'éliminer ainsi la partie où les valeurs propres de la matrice $Dv(\bar{x})$ non nulles dont le comportement local autour de \bar{x} est sans ambiguïté, et de focaliser l'étude sur la dynamique centrale et le champ de vecteurs v_c .

En particulier, le théorème précédent implique que, si $Dv(\bar{x})$ n'a pas de valeurs propres à partie réelle strictement positive, la stabilité de \bar{x} est alors conditionnée par celle la dynamique sur la sous-variété centrale, plus précisément :

si $\frac{dx^c}{dt} = v_c(x_c)$, est asymptotiquement stable en \bar{x} , alors le système complet

$\frac{dx}{dt} = v(x)$, est aussi asymptotiquement stable;

si $\frac{dx^c}{dt} = v_c(x_c)$ n'est pas stable en \bar{x} , alors le système complet $\frac{dx}{dt} = v(x)$ n'est pas stable.