

Carra Alexandre

Département T.I.S. 3^{ème} année
Master ISM option MIMB

Modélisation et simulation de systèmes biologiques complexes par un modèle physique

Laboratoire TIMC
Equipes GMCAO et TIMB

Responsables: Jean-Louis Martiel et Emmanuel Promayon

Avril-Septembre 2004



1. Introduction.....	3
2. Le laboratoire TIMC.....	3
3. Contexte de travail.....	4
4. Outils de modélisation.....	5
4.1 <i>Phymul.....</i>	<i>5</i>
4.2 <i>Système d'équations différentielles ordinaires.....</i>	<i>6</i>
5. Choix et implémentation.....	6
5.1 <i>Solver d'équations différentielles ordinaires.....</i>	<i>6</i>
5.2 <i>Couplage EDO-Phymul.....</i>	<i>7</i>
6. Test, validation et résultats	8
6.1 <i>Démarche de validation.....</i>	<i>8</i>
6.2 <i>Transfert d'informations du système d'équations vers Phymul.....</i>	<i>9</i>
6.3 <i>Transfert d'informations de Phymul vers le système d'équations.....</i>	<i>10</i>
6.4 <i>Réaction-Diffusion.....</i>	<i>11</i>
6.5 <i>Diffusion et marquage cellulaire.....</i>	<i>13</i>
7. Discussion.....	15
8. Conclusion.....	16
Références bibliographiques.....	17
Annexes.....	18
Résumé.....	25
Abstract.....	25

1. Introduction

Les mouvements et les déformations cellulaires ont été largement étudiés au cours des vingt dernières années (Boal, 2002) car ils interviennent au cours de nombreux processus importants pour la cellule tels que la migration, la prolifération, la division cellulaire ou bien encore l'apoptose. Toutefois, de nombreux aspects demeurent encore mal compris, d'une part à cause de la complexité des processus impliqués (réseaux de régulation et structures comme les membranes, le milieu extérieur, le noyau) et d'autre part, en raison de la petite taille des compartiments cellulaires. La simulation des processus dans une cellule, en permettant de préciser les différentes contraintes en jeu et les mécanismes invoqués, s'avère être un outil complémentaire indispensable à toute expérimentation dans le domaine de la biologie cellulaire.

Classiquement, les processus biologiques sont modélisés par des systèmes d'équations différentielles partielles, ordinaires, et/ou non-linéaires. Néanmoins, des approches alternatives, directement fondées sur la physique, peuvent être aussi utilisées pour rendre compte des processus biologiques. C'est le cas en particulier de la bibliothèque Phymul, développée par E. Promayon (Promayon, 1997), qui permet de simuler le mouvement et la déformation d'objets physiques 3D. Au départ, cette bibliothèque a été utilisée pour la simulation de tissus mous (passifs ou musculaires) et squelettiques, soumis à des déplacements ou eux-mêmes siège de forces de contraction. Ce modèle physique a été ensuite étendu à différentes situations de biologie cellulaire (pincés optiques, micro-plaques, agrégation d'une population de cellules, Promayon, Martiel, Tracqui, 2003).

Pour tenir compte des différents niveaux de régulation qui opèrent dans les cellules ou les populations cellulaires (voies de signalisation, activité métabolique ou génétique), j'ai travaillé sur une extension de ce modèle physique. J'ai montré que la bibliothèque Phymul peut être couplée à la résolution d'un système d'équations différentielles ordinaires (EDO) rendant compte de mécanismes électriques, chimiques ou mécaniques qui se placent dans une région de l'espace 3D. La simulation de ces EDO est synchronisée avec celle du mouvement d'objets décrits par Phymul pour modéliser les interactions entre les processus physico-chimiques hébergés par l'objet et la dynamique de son déplacement.

J'ai tout d'abord montré la faisabilité du couplage EDO-Phymul. J'ai ensuite illustré cet outil en simulant le déplacement de cellules par chimiotaxie ou haptotaxie. Ces deux mécanismes interviennent dans un grand nombre de processus très importants en biologie cellulaire comme le développement ou la différenciation.

2. Le laboratoire TIMC

J'ai effectué mon stage au sein du laboratoire TIMC (Techniques de l'Imagerie, de la Modélisation et de la Cognition) (UMR-CNRS 5525). Ce laboratoire, implanté sur le campus Santé du CHU de Grenoble, représente l'interface de l'IMAG ouverte sur les applications biologiques et médicales des mathématiques et de l'informatique. Les activités de TIMC couvrent un très large spectre de l'ingénierie de l'information en santé. Celles ayant trait aux deux unités auxquelles mon travail me rattache sont les suivantes :

- la modélisation mathématique des processus cognitifs et des processus de prolifération, migration et biomécanique cellulaires (TIMB, entre autres) ;
- le traitement et l'analyse d'images médicales et microscopiques, la robotique chirurgicale (GMCAO).

L'objectif de recherche de l'équipe TIMB (Techniques de l'Informatique et de la Modélisation en Biomédecine) est le développement de modèles mathématiques en relation étroite avec des problèmes ou des applications biologiques ou médicaux. L'équipe essaye d'intégrer des aspects

fondamentaux de la biologie, tels que les mécanismes moléculaires et cellulaires, la formation de tissus, la génétique et la dynamique des populations ou bien encore le raisonnement médical aidé par un modèle mathématique. L'analyse des modèles est effectuée par des analyses théoriques ainsi que par des simulations numériques des équations.

Quant à l'équipe Gestes Médicaux-Chirurgicaux Assistés par Ordinateur (GMCAO), son objectif est clinique. Il consiste à assister le médecin et le chirurgien dans la réalisation de gestes diagnostiques ou thérapeutiques les plus précis et les moins invasifs possibles. Cet objectif nécessite l'exploitation quantitative de données médicales multi-modales et de connaissances a priori, la fusion de ces données, la planification de l'intervention optimale par rapport à un critère donné (par exemple : position optimale d'une prothèse, délivrance optimale d'une dose de radiation pour traiter une tumeur) et la mise en oeuvre de systèmes de guidage permettant de réaliser la stratégie planifiée de façon la plus précise et la plus sûre possible. Cet objectif clinique génère une problématique scientifique et est supporté par une vision industrielle.

3. Contexte de travail

D'un point de vue général, mon travail concerne la modélisation de phénomènes en biologie cellulaire selon différentes échelles :

- de temps : de la seconde à l'heure ;
- d'espace : depuis l'intérieur de la cellule (inférieur à 1 micron) jusqu'à une population de cellules (supérieur à 1 centimètre).

Je me suis intéressé en particulier à l'haptotaxie et à la chimiotaxie. Le premier processus biologique est la capacité qu'ont les cellules de se diriger à partir de signaux chimiques déposés par d'autres cellules. La chimiotaxie, quant à elle, concerne le même mouvement dirigé de cellules mais cette fois-ci à partir d'un signal chimique susceptible de diffuser dans le milieu.

Dans ces deux cas, le modèle mathématique va porter sur la modélisation de la diffusion de molécules (ou de cellules) dans un espace à deux ou trois dimensions. Ces processus ainsi que leur formulation mathématique apparaissent donc importants.

En général, si $C(M,t)$ est la concentration mathématique d'une molécule ou la densité de cellules au point M et au temps t alors $C(M,t)$ va changer au cours du temps si les molécules, ou les cellules, peuvent se déplacer. Dans le premier cas, il s'agit de mouvements Browniens résultants de la moyenne de chocs thermiques entre molécules. Dans le second cas, on a affaire à un déplacement aléatoire non stimulé par un signal. Le modèle mathématique est alors donné par l'équation différentielle :

$$\frac{\partial C}{\partial t} = D \left\{ \frac{\partial^2 C}{\partial x^2} + \frac{\partial^2 C}{\partial y^2} + \frac{\partial^2 C}{\partial z^2} \right\} \quad (1)$$

où x,y,z désignent les trois coordonnées spatiales. D est le coefficient de diffusion (en général constant).

Cette équation décrit précisément l'homogénéisation d'une solution de molécules dans l'eau ou bien la répartition homogène de cellules dans l'espace physique qui leur est attribué.

Si la molécule U est produite au point M et au temps t avec un taux $\tau(M,t)$ et est dégradée proportionnellement à sa concentration alors l'équation (1) devient :

$$\frac{\partial U}{\partial t} = D \left\{ \frac{\partial^2 U}{\partial x^2} + \frac{\partial^2 U}{\partial y^2} + \frac{\partial^2 U}{\partial z^2} \right\} + \tau(M, t) - \lambda U \quad (2)$$

où λ est le taux de dégradation de la molécule.

Dans mon travail je me sers de ce modèle général pour rendre compte de la dispersion du signal chimiotactique.

Dans le cas de cellules, on a fondamentalement les mêmes équations mais l'interprétation des termes est différente. Si $U(M, t)$ désigne la concentration de signal chimiotactique, auquel est sensible une population de cellules de densité $C(M, t)$, alors l'évolution de cette densité sera donnée par :

$$\frac{\partial C}{\partial t} = D_1 \left\{ \frac{\partial^2 C}{\partial x^2} + \frac{\partial^2 C}{\partial y^2} + \frac{\partial^2 C}{\partial z^2} \right\} - D_2 \left\{ \frac{\partial}{\partial x} \left(C \frac{\partial U}{\partial x} \right) + \frac{\partial}{\partial y} \left(C \frac{\partial U}{\partial y} \right) + \frac{\partial}{\partial z} \left(C \frac{\partial U}{\partial z} \right) \right\}$$

Ici D_1 désigne le coefficient de mouvement aléatoire non dirigé ; D_2 représente le coefficient de déplacement chimiotactique. On peut voir que ce dernier terme est proportionnel au gradient de la distribution de la molécule U .

De manière évidente, si les cellules naissent avec un taux $N(M, t)$ et meurent selon le taux μ , l'équation ci-dessus doit être complétée par :

$$\frac{\partial C}{\partial t} = D_1 \left\{ \frac{\partial^2 C}{\partial x^2} + \frac{\partial^2 C}{\partial y^2} + \frac{\partial^2 C}{\partial z^2} \right\} - D_2 \left\{ \frac{\partial}{\partial x} \left(C \frac{\partial U}{\partial x} \right) + \frac{\partial}{\partial y} \left(C \frac{\partial U}{\partial y} \right) + \frac{\partial}{\partial z} \left(C \frac{\partial U}{\partial z} \right) \right\} + N(M, t) - \mu C(M, t) \quad (3)$$

On peut faire les remarques suivantes :

- Les équations (2) et (3) sont formellement identiques.
- Dans mon travail, j'ai utilisé des équations de type (2). Comme je modélise des cellules individuelles, l'équation (3) n'est pas directement utilisée.
- La chimiotaxie et l'haptotaxie sont modélisés via les mêmes termes mathématiques.
- Dans la formulation du programme, j'ai utilisé la version discrète de termes comme $\frac{\partial^2 C}{\partial x^2}$ (cf. équations des paragraphes 6.4 et 6.5).

4. Outils de modélisation

4.1 Phymul

Phymul est une bibliothèque écrite en C++ qui permet de simuler le mouvement et la déformation d'objets complexes. Dans mon cas, ces objets sont assimilés à des cellules. Ces dernières sont définies par une surface 3D fermée et représentées par des nœuds liés de manière triangulaire. Chaque cellule a un mouvement Brownien qui peut être contrôlé par des facteurs extracellulaires (chemio-attractants).

Plus généralement, les objets élastiques sont soumis d'une part à des forces externes (la gravitation, les forces développées au cours d'un contact cellule-signal, cellule-cellule ou cellule-matrice extracellulaire) et d'autre part à des forces internes qui rendent compte de la physique de l'objet (élasticité, contractilité) (Promayon, 1997).

Dans cette approche physique orientée objet, la structure géométrique a pour but d'imiter la structure physique.

La bibliothèque Phymul manipule des objets d'un type particulier, les « phymulob ». Ceux-ci sont décrits sous forme de fichier texte, utilisant le format phymulob spécifique. Ces fichiers utilisent l'extension *.pml* dont la lecture permet de construire un objet Phymul. Ce dernier est composé de différentes parties, appelées régions, qui peuvent avoir des comportements différents (élastique, musculaire, solide ou passif). Enfin, chaque région est formée de plusieurs éléments qui peuvent également se comporter différemment.

Phymul n'est cependant pas entièrement satisfaisant. En l'état actuel des choses, cette bibliothèque ne permet pas de rendre compte des différents niveaux de régulation qui opèrent dans les cellules ou les populations cellulaires. Il paraît donc nécessaire d'enrichir ce modèle physique en le couplant notamment à des systèmes d'équations différentielles ordinaires.

4.2 Système d'équations différentielles ordinaires

Il est admis que les équations différentielles constituent un outil précieux pour la modélisation de systèmes biologiques, tant pour l'identification de processus ou de paramètres que pour prédire l'émergence de comportements nouveaux lorsque le nombre de variables et de mécanismes en jeu est très grand. Si la géométrie du milieu (e.g. une cellule ou l'espace dans lequel se déplacent des cellules) est fixe alors la résolution numérique de problèmes de réaction-diffusion est relativement simple. Pour cela on dispose essentiellement des méthodes des différences finies ou des éléments finis. Il existe plusieurs bibliothèques de calcul fondées sur ces méthodes et qui donnent de bons résultats. Typiquement, on possède FEMLAB[®] pour les éléments finis, une boîte à outils pour simuler des processus de réaction-diffusion dans des géométries complexes (mais fixes).

Des difficultés commencent à surgir lorsque l'on utilise des équations plus complexes que des équations de réaction-diffusion. Lors de mon stage, j'ai modélisé la déformation élastique de cellules soumises à des déplacements ou à des forces. La version mathématique de ce modèle est plus difficile à mettre en œuvre (équations de Navier pour l'élasticité).

Dès que la géométrie du système change avec le temps, la simulation d'équations de réaction-diffusion ou de l'élasticité devient très lourde. Or, dans mon cas, les cellules sont le siège de réactions qui peuvent se déplacer ou se déformer. Une approche physique de type Phymul est donc plus simple à mettre en œuvre et donne des résultats similaires.

Dans mon travail, lorsque je modélise des processus de réaction-diffusion dans une géométrie fixe (diffusion de chimio-attractants dans l'espace) je garde le formalisme différentiel. Cela me conduit à trouver la solution numérique de systèmes d'équations différentielles ordinaires. En revanche, dans le cas d'objets élastiques qui se déforment et se déplacent (c'est le cas typiquement des cellules) j'utilise l'approche Phymul.

5. Choix et implémentation

5.1 Solver d'équations différentielles ordinaires

Dans un premier temps, mon travail a consisté à faire un état de l'art des *solvers* d'équations différentielles ordinaires. Parmi les bibliothèques répertoriées¹, mon choix s'est porté sur *Magic Software* (<http://www.magicsoftware.com/Numerics.html>). Cette bibliothèque,

¹ *Matpack, MuPAD, Magic Software, Taylor, Ofeli et RKF45*

open source, est écrite en C++ et s'exécute sous Linux. Elle présente également les caractéristiques suivantes : rapidité de calcul et fiabilité de manipulation. Le code implémenté utilise la méthode de Runge-Kutta du 4^{ème} à pas constant (Demailly, 1991). Cette méthode a retenu mon attention parce qu'elle a l'avantage d'une part d'être universelle et d'autre part de s'appliquer à de nombreux systèmes différentiels. Néanmoins, cet algorithme n'est pas nécessairement le meilleur. Il pourrait être intéressant d'enrichir la bibliothèque d'autres types d'algorithme de résolution et permettre le choix de la méthode en fonction de la difficulté à intégrer le système différentiel.

Des modifications ont été apportées de manière à programmer facilement le système différentiel représentant le problème biologique. On dispose ainsi d'un fichier XML dont j'ai défini le formalisme. Si j'ai choisi ce format c'est parce qu'il est standard, robuste, efficace et surtout extensible.

Le fichier XML écrit par l'utilisateur pour définir un système d'équations est lu en entrée, séquentiellement, par un *parser* SAX. SAX repose sur le déclenchement d'opération en fonctions d'évènements. Quand le *parser* lit un document XML, il émet des informations en fonction des évènements qu'il rencontre (début de balise, CDATA, fin de balise (*startElement()*, *endElement()*...)) (cf. annexe1).

Un objet C++ est finalement créé ou complété en fonction de la balise lue. Cet objet est ensuite manipulable dans le programme (cf. Figure 1).

Pour un système différentiel donné, chaque équation contient un opérateur (e.g. plus, minus,...) et deux opérandes. Ces données sont représentées par un élément XML et modélisées par une classe C++. L'écriture d'une équation suit une structure arborescente. Pour étendre par exemple une équation, il suffit simplement de rajouter une branche à l'arbre (cf. annexe2, annexe3).

5.2 Couplage EDO-Phymul

Le couplage EDO-Phymul, dans le sens EDO vers Phymul ou inversement, s'exprime à travers un ensemble de liens caractérisés par une opération et une cible (élément ou région d'un objet Phymul). On peut ainsi coupler une variable du système d'EDO avec n'importe quelle propriété de Phymul (cf. annexe4).

A chaque élément XML correspond une classe qui permet de transformer un document XML statique en un ensemble d'objets C++ manipulables par programmation.

La résolution des EDO a été intégrée à Phymul de manière à pouvoir se dérouler en parallèle des simulations et à tenir compte des interactions EDO-Phymul à chaque pas de temps.

De manière simplifiée, le principe de fonctionnement est le suivant. L'utilisateur rédige un document XML à travers lequel il décrit un système à d'équations différentielles ordinaires. Grâce au *parser*, le fichier XML est lu séquentiellement. Des objets C++ sont alors créés.

La bibliothèque Phymul effectue ensuite ses « actions ». C'est à ce moment qu'a lieu l'appel de la méthode de résolution du *solver*. Ce dernier va alors utiliser les données concernant les équations stockées initialement. La solution du système différentiel est calculée à chaque pas de temps et utilisable par Phymul (cf. Figure1). La majorité des évènements susnommés prennent naissance dans la méthode *doMove* de Phymul. Il s'agit de la méthode motrice d'un *phymulob*. Avec un certain pas de temps (identique à celui utilisé par le *solver*), le *phymulob* calcule toutes les forces, la vitesse et les nouvelles positions de tous les éléments en prenant en compte les contraintes, les forces... L'algorithme mis en œuvre comporte plusieurs étapes parmi lesquelles se trouve celle concernant le couplage EDO-Phymul.

Pour mener à bien ce couplage, j'ai créé des classes C++, modifié des méthodes existantes dans Phymul, crée quelques programmes. Ces détails sont précisés dans l'annexe4

Pour visualiser les simulations j'utilise le logiciel Imp, développé au laboratoire TIMC. Ce logiciel représente plus de 35000 lignes de codes C++ et utilise la bibliothèque graphique 3D OpenGL à travers VTK. Il dispose d'un environnement 3D qui permet entre autres :

- La modélisation de surface 3D : création de nouveaux objets synthétiques, déformations des surfaces sous contraintes...
- L'interaction avec la bibliothèque de simulation physico-dynamique « PHYMUL » : simulation physique et résultats graphiques 3, calculs de données (volume, surface, pressions, forces)...

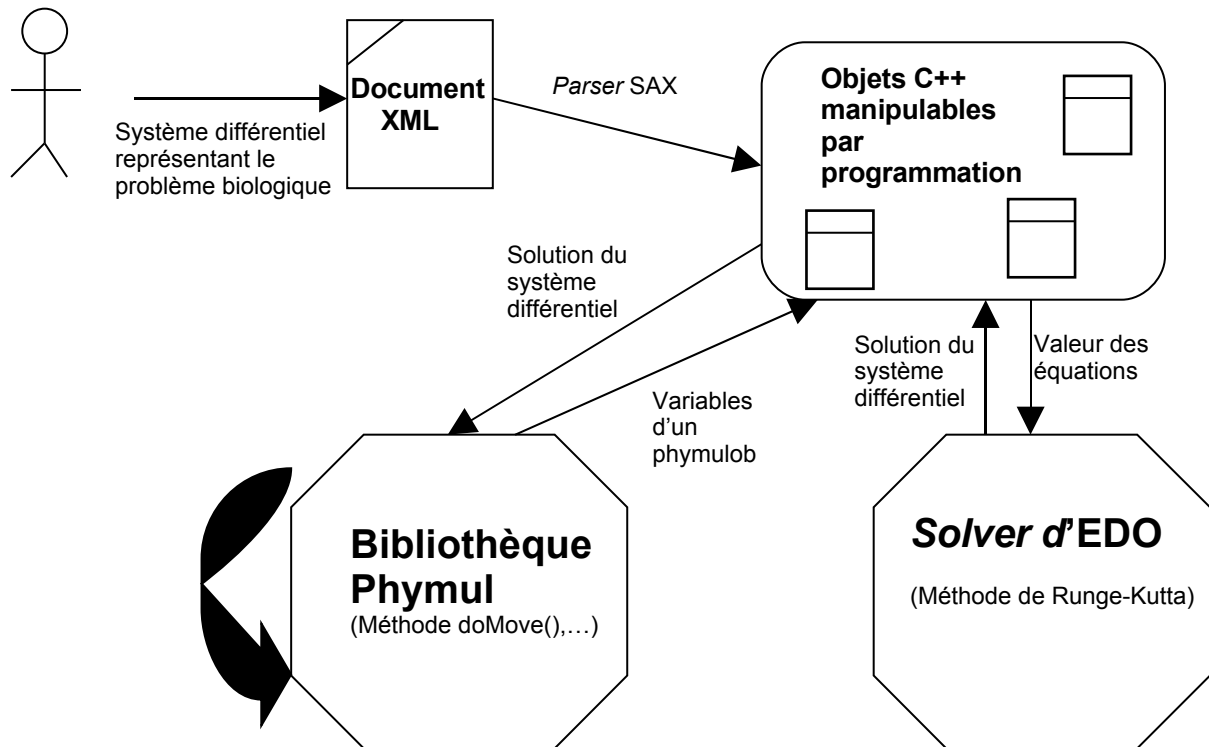


Figure1. Couplage EDO-Phymul, principe de fonctionnement

6. Test, validation et résultats

6.1 Démarche de validation

La toute première validation a concerné le *solver*. J'ai utilisé plusieurs systèmes d'équations classiques (système oscillant,...). A partir des résultats obtenus, j'ai effectué plusieurs tests concernant par exemple la périodicité. Cette phase de tests m'a permis de m'assurer de la fiabilité du *solver* ainsi que de sa rapidité de calcul.

Je me suis ensuite attelé à valider le couplage entre la bibliothèque de calcul et Phymul. Cette phase de validation, essentielle, m'a conduit à travers de simples exemples à vérifier aussi bien l'implémentation que la méthode et les idées.

J'ai procédé en plusieurs étapes. Je me suis assuré dans un premier temps que le transfert de données des équations vers Phymul était possible. J'ai ainsi utilisé un système d'équations différentielles ordinaires simple dont la solution, connue, est appliquée au sommet d'un objet Phymul. Il m'a ensuite suffi d'observer le comportement de ce dernier pour me rendre compte de la réussite du couplage.

Dans un deuxième temps, j'ai vérifié que le transfert d'informations de Phymul vers le système d'équations s'effectuait correctement. Pour ce faire, j'ai introduit dans mon système d'équations une variable correspondant au volume courant de l'objet Phymul. L'objectif était de récupérer à chaque pas de temps sa valeur. Comme précédemment, la solution du système est appliquée au sommet de l'objet. Le comportement de l'objet étant conforme à celui attendu (la solution du système étant préalablement connue), le couplage a été validé.

6.2 Transfert d'informations du système d'équations vers Phymul

Pour valider mon approche, j'utilise un objet Phymul, en forme de diamant composé d'une région élastique de six éléments et sur lequel aucune force physique n'est appliquée (cf. Figure 2). Par construction, cet objet a un point supérieur P sur lequel j'agis *via* des variables-solutions d'un système différentiel- pour solliciter l'objet en déplacement.

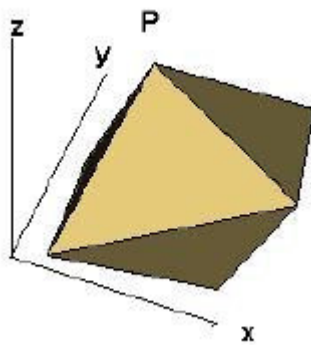


Figure2. Représentation de l'objet Phymul utilisé dans la phase de validation. Le point supérieur P est soumis à différents déplacements obtenus comme solutions de systèmes différentiels.

Tout d'abord, j'applique au sommet du diamant un déplacement périodique selon la composante U du système différentiel suivant :

$$\left\{ \begin{array}{l} \frac{dU}{dt} = -\omega V \\ \frac{dV}{dt} = \omega U \\ U(0) = 1, \quad V(0) = 0 \end{array} \right.$$

L'altitude du point supérieur suit bien un mouvement oscillatoire, d'amplitude constante et les points inférieurs réagissent au déplacement imposé (Figure 3, variable V_3).

Dans un second temps, j'impose un déplacement vertical au sommet de l'objet, proportionnel à la solution du système différentiel :

$$\begin{cases} \frac{dU}{dt} = -0.1U \\ U(0) = 1 \end{cases}$$

J'observe alors une décroissance exponentielle de l'altitude du point supérieur en conformité avec la solution $U(t)$ (Figure 3, variable V_1). De plus, à cause des propriétés d'élasticité de l'objet, la sollicitation en déplacement provoque le mouvement de toute la structure. Ces simulations m'ont donc permis de vérifier le transfert de données du système d'EDO vers Phymul.

6.3 Transfert d'informations de Phymul vers le système d'équations

Enfin, pour valider le transfert d'informations de Phymul vers le système d'EDO, j'ai modifié le système précédent en :

$$\text{Eq. 1} \quad \begin{cases} \frac{dU}{dt} = -0.1 \times U \times \left(\frac{V(t)}{V_{\max}} - \frac{3}{4} \right) \\ U(0) = 1 \end{cases}$$

où $V(t)$ est le volume courant de l'objet Phymul et V_{\max} le volume initial. L'objectif ici est de récupérer le volume courant du diamant à chaque pas de temps. J'obtiens bien une décroissance exponentielle du sommet de l'objet avant d'atteindre un régime stationnaire (Figure 3, variable V_2).

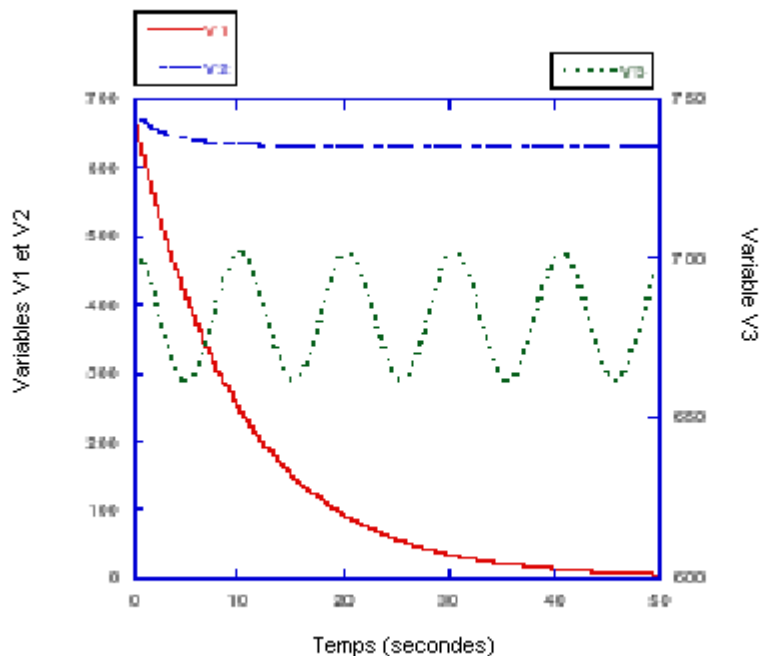


Figure3. Altitude du point supérieur d'un objet Phymul soumis à un déplacement périodique (V_3), un déplacement exponentiel (V_1). La variable V_2 montre la position du point lorsque le déplacement imposé dépend du volume de l'objet Phymul (cf. équation 1).

6.4 Réaction-Diffusion

Afin de simuler les processus de réaction-diffusion, essentiels en biologie, j'ai modélisé l'espace physique (à deux ou trois dimensions) dans lequel des cellules pourront se déplacer en fonction de gradients de molécules (signaux, morphogènes, matrice extracellulaire) et/ou de forces aléatoires. Pour déterminer mon modèle, je me suis inspiré de l'agrégation des amibes *Dictyostelium discoideum* par chimiotaxie, un processus bien caractérisé tant au niveau biologique (Gerish, 1987) qu'au niveau des mécanismes moléculaires (Martiel, Goldbeter, 1987).

Pour cela, j'ai créé un objet Phymul qui représente un plan à deux dimensions (cent éléments en forme de grille régulière 10 sur 10) et deux cellules en forme d'icosaèdres (cf. annexe5). Chaque point du plan, repéré par ses coordonnées entières (i,j) est le siège d'un processus de réaction-diffusion discrétisé décrit par :

$$\left\{ \begin{array}{l} \frac{dU_{ij}}{dt} = -D_U (U_{i+1,j} + U_{i-1,j} + U_{i,j+1} + U_{i,j-1} \\ \quad - 4U_{i,j}) - \lambda_U U_{i,j} + \delta_{ij} \\ \delta_{ij} = \begin{cases} p_1 - p_2 U_{i,j} & \text{si } i = i_0, j = j_0 \\ 0 & \text{sinon} \end{cases} \end{array} \right.$$

où D_U et λ_U sont, respectivement, le coefficient de diffusion et le taux de dégradation de la molécule U ; δ est un terme de source localisé au point (i_0, j_0) ; p_1 et p_2 sont deux paramètres qui contrôlent la dynamique d'apparition de la molécule U en (i_0, j_0) (cf. paragraphe 3).

Dans un premier temps, on peut visualiser la quantité U par le déplacement vertical de l'objet qui représente l'espace à deux dimensions (cf. Figure 4a). Il faut préciser qu'il s'agit ici d'un déplacement dans un espace de concentration et non d'un déplacement réel. En particulier, j'interdis aux différentes forces (gravitation, élasticité) d'agir.

Le déplacement aléatoire est simulé de la façon suivante. On se donne un temps caractéristique τ . La probabilité de changer de direction augmente avec le temps comme:

$$\Pr(t) = 1 - \exp\left(-\frac{t - t_0}{\tau}\right)$$

où t_0 est l'instant de dernier changement de direction. A chaque instant, la trajectoire est déviée d'un angle $\theta = \sigma N^2(0,1)$ avec la probabilité $\Pr(t)$.

Pour calculer le gradient de U , je me sers du fait que chaque nœud d'une cellule est entouré par quatre points du plan. Soient $U_0 = U_{ij}$, $U_1 = U_{i+1,j}$, $U_2 = U_{i+1,j+1}$, $U_3 = U_{i,j+1}$. A partir de là, je peux estimer les composantes du gradient de U par:

$$G_U = \begin{pmatrix} \frac{U_1 + U_2}{2} - \frac{U_0 + U_3}{2} \\ \frac{U_2 + U_3}{2} - \frac{U_0 + U_1}{2} \end{pmatrix}$$

Ce gradient est à l'origine d'une force externe additionnelle appliquée aux nœuds de la cellule qui permet à celle-ci de se diriger vers le point du plan où la concentration de U est maximale. D'un nœud à l'autre le gradient pouvant être différent, la cellule peut donc se déformer.

² $N(0,1)$ est la loi de Gauss de moyenne 0 et de variance 1

J'ai également tenu compte d'une période réfractaire dans le déplacement des cellules en multipliant l'intensité de la force par une variable V donnée par :

$$\begin{cases} \frac{dV}{dt} = \frac{(1-V)}{\tau_1} \\ V(0) = 1 \end{cases}$$

Cette variable est mise à 0 au temps $t+h$ si dans l'intervalle $[t; t+h]$ la vitesse de déplacement de la cellule est supérieure à un certain seuil. τ_1 est un temps de relaxation qui contrôle la sortie de la période réfractaire.

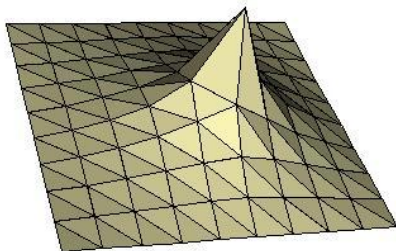
Enfin, j'ai considéré l'adaptation de cellules à un signal en multipliant cette fois l'intensité de la force par une variable W donnée par :

$$\begin{cases} \frac{dW_i}{dt} = \lambda_0(1-W_i) - \lambda_1 \bar{S} W_i \\ W_i(0) = 1 \\ \bar{S} : \text{valeur moyenne du signal vue par le noeud } i \text{ de la cellule} \end{cases}$$

Ce processus permet le découplage entre le signal extracellulaire (ici, \bar{S}) et la transmission de l'information. Par exemple, pour $W=1$ le nœud est sensible au signal. En revanche, pour $W=0$ il y est insensible. Ce système différentiel permet de contrôler la déformation des cellules.

Il est important de préciser ici que la bibliothèque Phymul a été adaptée de manière à considérer ces processus biologiques. Cette adaptation se traduit par l'utilisation de systèmes différentiels dans la mesure où il aurait été possible de rendre compte de ces mécanismes sans utiliser d'équations.

La figure 4b illustre les trajectoires des cellules avec, initialement, une phase où prédomine la composante aléatoire. Ensuite, comme la cellule se dirige vers le maximum de U , sa trajectoire est de plus en plus rectiligne sous l'influence exclusive du signal.



(a)

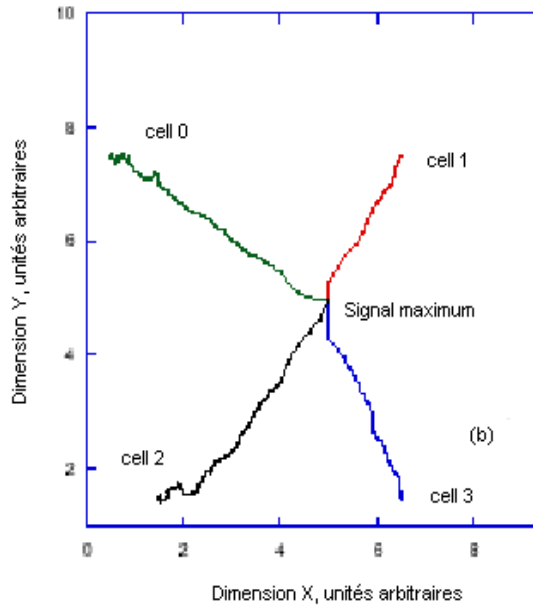


Figure 4. Modélisation de la réponse chimiotactique à un gradient de concentration de signal (figure 4a). La figure 4b présente quatre traces de migration d'une cellule vers le maximum de concentration du signal. Les paramètres utilisés sont : $D_u = 0.1 \text{sec}^{-1}$, $\lambda_u = 0.01 \text{sec}^{-1}$, $p_1 = 2U \cdot \text{sec}^{-1}$, $p_2 = 0.01 \text{sec}^{-1}$.

6.5 Diffusion et marquage cellulaire

Dans cette section, je m'intéresse aux processus qui contrôlent le déplacement par interactions entre les cellules et la matrice extracellulaire. Ces mécanismes sont très importants à plusieurs niveaux tels que le développement neuronal, l'embryogenèse ou la migration cellulaire (contrôle de la croissance du cône axonal sue la N-Cam, Berlot, Goodman, 1984 ; migration des fibroblastes sue la fibronectine, Dufour et al., 1988 ; Hynes, 1985).

De nombreuses cellules se déplacent au sein d'un organisme. Par exemple, certaines cellules du système immunitaire peuvent migrer massivement à une vitesse de plus de 1 millimètre à l'heure vers le lieu d'une infection pour combattre l'agent pathogène. Dans un autre registre, au cours du développement embryonnaire, certaines cellules précurseurs migrent dans l'embryon pour former de nouvelles structures. Parfois, seule une partie de la cellule se déplace, c'est le cas des prolongements des neurones, capables de migrer à plusieurs centimètres de leur corps cellulaire afin d'innervier leur cible. Le dérèglement de ces capacités de déplacement a, pour sa part, des conséquences dramatiques. Ainsi, dans le cas du cancer, l'augmentation de la mobilité des cellules malignes leur permet de s'échapper du centre de la tumeur initiale pour former des métastases et envahir l'organisme.

D'une manière générale, pour se déplacer, les cellules en migration doivent trouver un point d'appui dans l'environnement, s'accrocher à ce point d'appui et exercer une traction sur ce point pour se propulser. Cependant, les mécanismes moléculaires sous-jacents sont encore mal connus.

Une composante principale de l'environnement cellulaire est la matrice extracellulaire, formée d'un réseau de protéines telles que des collagènes ou la fibronectine. Ce réseau, propre à chaque tissu, participe à la structuration tissulaire et fournit des sites d'ancrage pour les cellules. L'interaction des cellules avec la matrice extracellulaire se fait par l'intermédiaire de protéines d'adhésion, telles que les intégrines. Ce sont des molécules présentes dans la membrane des cellules, capables de s'accrocher simultanément à des composants de la matrice extracellulaire

et à des structures internes de la cellule, qui forment le cytosquelette. Ce dernier se déplace et se réorganise en permanence. Il exerce ainsi des forces de traction sur les points d'ancrage par l'intermédiaire des protéines d'adhésion, permettant à la cellule de se déplacer. En particulier, dans la partie frontale des cellules en migration, le lamellipode, le cytosquelette est principalement formé d'une protéine, l'actine. Celle-ci est en mouvement permanent de l'avant vers l'arrière de la cellule, et l'on suppose que c'est ce mouvement qui fournit l'énergie de traction nécessaire à l'avancement de la cellule.

Afin de rendre compte des interactions entre des cellules et la matrice extracellulaire via des protéines (e.g. la fibronectine), j'ai considéré deux types cellulaires :

- Type « A » : les cellules se déplacent selon le gradient de U et déposent une molécule M au cours de leur déplacement ;
- Type « B » : les cellules ont une composante aléatoire dans leur déplacement qui leur permet d'explorer le plan ; en plus, elles sont sensibles au gradient de M .

La dynamique de M est donnée par :

$$\left\{ \begin{array}{l} \frac{dM_{i,j}}{dt} = D_M (M_{i+1,j} + M_{i-1,j} + M_{i,j+1} + M_{i,j-1} \\ \quad - 4M_{i,j}) - \lambda_M M_{i,j} + \delta_{M,ij} - p^4 M_{i,j} \\ \delta_{M,ij} = \begin{cases} p_3 & \text{si il y a une cellule de type "A" en } (i,j) \\ 0 & \text{sinon} \end{cases} \end{array} \right.$$

Le gradient G_M est calculé de la même façon que G_U . La cellule de type « A » (*cell 0*, Figure 5b) se dirige selon le gradient d'un signal tout en déposant une trace M dont la synthèse est contrôlée négativement, ce qui prévient son accumulation (ce que traduit le terme $p^4 M_{i,j}$ avec $\frac{p^3}{p^4} = 1$) (cf. Figure 5a). Cette trace sert de guide pour les trois cellules de type « B » (*cell 1, 2 et*

3, Figure 5b) qui, dans un premier temps, ont un mouvement aléatoire (cf. Figure 5b). A cause de la production de M , les trajectoires deviennent rectilignes et correspondent à un net déplacement vers les zones du plan où M est maximal i.e. la position de la cellule 0 (cf. Figure 5b). Les changements brutaux de direction sont dus à la période réfractaire du mouvement. En effet, lorsqu'une cellule « B » est à l'arrêt, la cellule « A » et M continuent d'évoluer. Lorsque la cellule « B » sort de la phase réfractaire, la distribution de M a changé, ce qui explique le changement brutal de direction. Lors des simulations on observe également une déformation des cellules du fait de la différence de force appliquée en chacun des nœuds. Finalement, ces cellules recouvrent leur forme initiale. L'utilisation de Phymul prend donc ici tout son sens.

Je me suis finalement intéressé à l'orientation des fibres de la matrice qui commande le déplacement d'une cellule. Afin de rendre compte de ce phénomène, j'ai multiplié la force

externe additionnelle par un vecteur $\vec{V} = \left(\frac{u_x}{\sqrt{u_x^2 + u_y^2}}, \frac{u_y}{\sqrt{u_x^2 + u_y^2}} \right)$ dont la norme est égale à 1.

u_x et u_y sont deux réels choisis au hasard. Pour traduire par exemple une orientation parallèle des fibres selon l'axe des abscisses il suffit de choisir u_y nul.

Pour cette section et celle d'avant, il est possible de travailler à partir de matrices de tailles différentes (carrées ou non). Les coefficients de diffusion D_u et D_m et les gradients G_u et G_m sont alors calculés automatiquement en fonction du choix effectué.

A noter que l'utilisateur dispose d'une fenêtre de commande à l'aide de laquelle il peut effectuer les simulations qu'il souhaite en variant à son gré les différents paramètres du modèle

(taille de la matrice, nombre de cellules, variables des systèmes de réaction-diffusion...) (cf. annexe6).

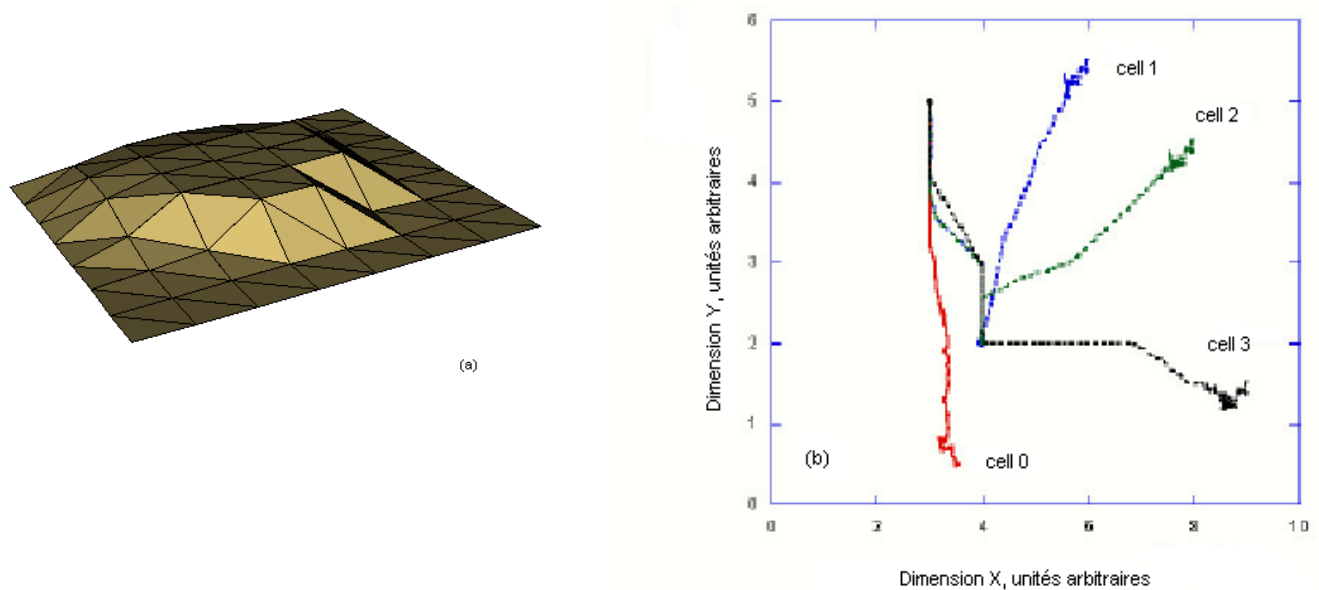


Figure 5. La cellule 0 (Figure 5b) se déplace par chimiotaxie selon la distribution U (Figure 4a). Au cours de son déplacement, elle dépose une molécule M (Figure 5a) qui permet aux cellules (1, 2 et 3) de se déplacer selon M . Les paramètres utilisés sont : $D_m = 0.005 \text{ sec}^{-1}$, $\lambda_m = 0 \text{ sec}^{-1}$, $p_3 = 0.1 M \cdot \text{sec}^{-1}$.

7. Discussion

Après une phase de validation qui a permis de tester le couplage entre le *solver* d'équations différentielles et la bibliothèque Phymul, je me suis intéressé au mouvement des cellules engendré par un signal extérieur. En effet, cette question est importante en biologie cellulaire où les modifications subies par les cellules (déformation, déplacement, différenciation ou apoptose) sont contrôlées par une combinaison de différents signaux (électriques, chimiques, mécaniques).

Dans un premier temps, j'ai simulé la trajectoire d'une cellule sous l'effet d'un signal qui diffuse depuis un point de l'espace. Initialement, loin de la source U , la trajectoire est contrôlée par le mouvement Brownien. Lorsque U devient important, la trajectoire devient rectiligne car la composante aléatoire de la force est négligeable devant la composante chimiotactique. Le mécanisme de période réfractaire des cellules rend compte des alternances d'accélération et de ralentissement de la cellule au cours de sa migration et des ruptures dans la direction des trajectoires.

Dans un second temps, je considère un système plus complexe, avec deux molécules signal U et M . Ici, M est produite par une cellule qui se déplace selon le gradient de U et pourrait par exemple jouer le rôle de la fibronectine ou de la N-Cam lors de la migration des fibroblastes ou du cône axonal. Les simulations montrent nettement l'alternance de directions des cellules (cf. Figure 5b).

Les deux hypothèses de mouvement Brownien et de sensibilité au gradient d'un signal sont nécessaires pour expliquer les phases de la trajectoire. En effet, le signal M diffuse peu ou bien est immobile. Les cellules doivent donc « explorer » l'espace avant de détecter un gradient

de M et se diriger selon celui-ci. Lorsque la cellule est dans une région où M est important, le gradient devient à nouveau faible et le mouvement s'arrête.

8. Conclusion

D'un point de vue informatique, il est permis d'affirmer que le couplage EDO-Phymul a été réalisé avec succès. Dans cet outil que j'ai développé tout est paramétrable du fait de l'utilisation de langages xml. Il peut donc être facilement exploitable par des personnes ayant peu de connaissances en informatique. L'utilisateur peut faire varier à son gré les différents paramètres du modèle à travers une fenêtre de commande.

Les perspectives sont nombreuses, par exemple :

- Gérer les collisions, les adhérences ;
- Intégrer un autre *solver* mettant en oeuvre la méthode des éléments finis ;
- Améliorer les temps de simulation en désynchronisant le dt utilisé par Phymul et celui employé par la bibliothèque de calcul.

Au niveau biologique, la mise au point de cet outil de simulation, combinant la représentation de phénomènes complexes à l'aide du formalisme différentiel et la modélisation d'objets de l'espace par un modèle physique, offre de grandes possibilités pour simuler la complexité des processus hébergés par une cellule (ou un tissu). Le présent travail propose les premières étapes de la modélisation de la chimiotaxie et de l'haptotaxie, avec différents niveaux de complexité et différentes échelles:

- en considérant les signaux qui permettent le déplacement ;
- en modélisant le comportement global des cellules (déplacement, arrêt, changement de direction) ;
- en tenant compte de structures fines au niveau d'une seule cellule.

Il paraît important maintenant d'obtenir des trajectoires avec des paramètres réalistes.

Références bibliographiques

- Berlot J. et Goodman CS. 1984. Guidance of peripheral pioneer neurons in the grasshopper : adhesive hierarchy of epithelial and neuron surface. *Science*. 223:493-496.
- Boal D. *Mechanics of the cell*. 2002. Cambridge University Press.
- Demailly JP. *Analyse numérique et équations différentielles*. 1991. Presses Universitaires de Grenoble.
- Dufour S., Duband JL, Kornblihtt AR, Thiéry JP. The role of fibronectin in embryonic cell migration. 1988. *Trends Genet*. 4 :198-203.
- Gerish G. Cyclic AMP and other signal controlling cell development and differentiation in Dictyostelium. 1987. *Annu. Rev. Biochem*. 56 :853-879.
- Hynes RO. Molecular biology of fibronectin. 1985. *Annu. Rev. Cell. Biol*. 1 : 67-90.
- Mattiel JL et Goldneter A. 1987. A model for chemotactic signalling in Dictyostelium discoideum based on receptor desensitization. *Biophysical J*. 52 :807-828.
- Promayon E, Martiel J.L. and Tracqui P. 2003. Physical-object-oriented 3D simulations of cell deformations and migration. In *Multiscale Modeling and Numerical Simulations.*, W. Alt, M. Chaplain, M. Greibel and J. Lenz editors, Birkhäuser.
- Promayon E. 1997. Modélisation et simulation de la respiration. Thèse d'informatique de l'Université Joseph Fourier, Grenoble.

Annexes

Annexe1 : Détails du travail effectué et modélisation UML

En ce qui concerne la bibliothèque de calcul, j'ai apporté quelques modifications de manière à l'intégrer parfaitement à Phymul. C'est ainsi que les conditions initiales puis les solutions du système différentiel, sont stockées au fur et à mesure dans un vecteur (vector). Cet outil C++ présente notamment l'avantage de ne pas avoir de contraintes de taille et de permettre l'accès à n'importe quel élément. La classe abstraite *mgcODE* possède ainsi un pointeur vers la classe *odeSystem* qui permet l'accès à toutes les équations. Finalement, la classe *mgcRK4*, dérivée de la classe *mgcODE*, met en œuvre une routine qui prend l'itération courante et calcule une étape du *solver* en stockant dans le vecteur la solution approximée.

Concernant la lecture d'un document XML, voici les principales classes que j'ai dérivées. Il m'a suffi de surcharger certaines méthodes.

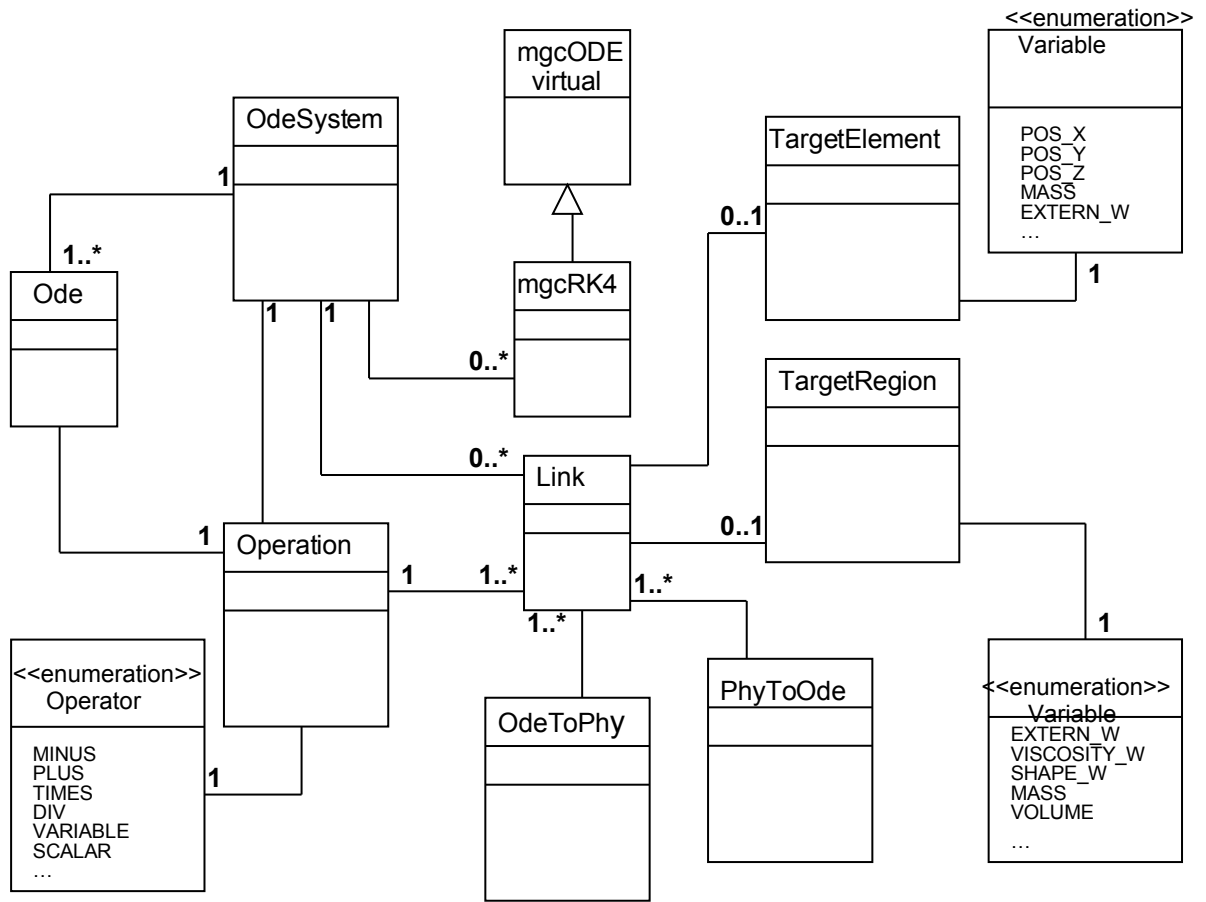
- La classe *XMLHandler*. C'est dans cette classe que sont effectuées les actions (construction d'objets, affectations, initialisations) associées à la lecture de chaque balise xml.
- La classe *XMLObject*. Cette classe définit la structure d'un objet pouvant lire et écrire ses caractéristiques dans un format XML, via les deux méthodes *xmlRead()* et *xmlWrite()*. La méthode *xmlRead()* utilise la classe *XMLHandler* pour réaliser la lecture effective du fichier xml.

Ma démarche a été la suivante. J'ai créé une classe *OdeXMLHandler* en dérivant la classe *XMLHandler* dans laquelle j'ai réimplémenté les méthodes *characters()*, *endDocument()*, *startElement()* et *endElement()*. J'ai rajouté mes propres actes de lecture dans chacune de ces méthodes. J'ai également dérivé la classe *XMLObject*, réimplémenté les méthodes *xmlWrite()* et *xmlRead()* en y mettant mes propres lignes de lecture.

Au niveau de Phymul, je me suis attelé principalement à compléter la méthode *doMove*. J'ai rajouté en fait une étape dans l'algorithme mis en œuvre. Ainsi a lieu l'appel d'une méthode *applyOdeConditions* qui permet d'effectuer les calculs relatifs au couplage EDO-Phymul. Dans un premier temps, la méthode de résolution du système différentiel est appelée avec pour paramètre le pas de calcul. Ce dernier est identique à celui utilisé par Phymul (paramètre de la méthode *doMove*). De cette façon, le *solver* et le modèle physique sont synchronisés. Je traite ensuite, s'ils existent, les liens entre le système d'équations et Phymul (i.e. si l'utilisateur a écrit une balise *<odeToPhymul>*). Finalement, des actions sont déclenchées si le booléen *phy2Ode* est vrai ce qui correspond à la détection d'une balise *<phymulToOde>* lors de la lecture du document XML.

En dernier lieu, j'ai développé un programme nommé *hapto*. Ce dernier permet à l'utilisateur de disposer d'une fenêtre de commande à partir de laquelle il peut faire varier tous les paramètres du modèle (cf. annexe6). A partir de cette saisie, le programme met à jour les différents paramètres et déclenche les actions nécessaires à la simulation (création d'objets Phymul, appel de la méthode *doMove*...).

Voilà le diagramme UML des différentes classes que j'ai implémentées :

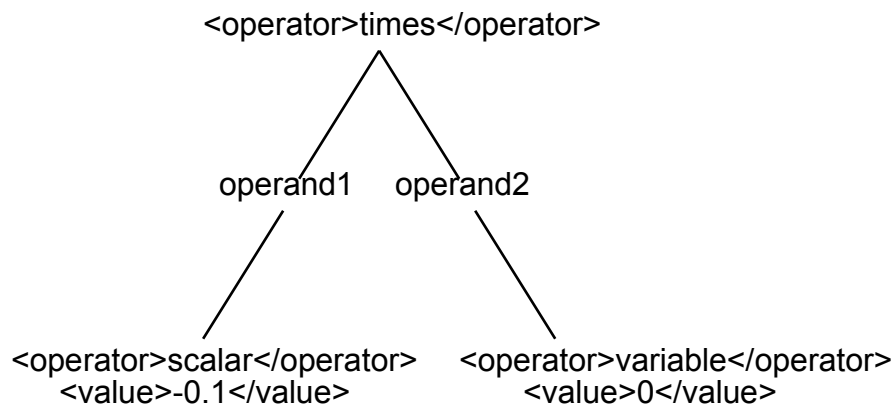


Annexe2 : fichier xml correspondant au système différentiel

$$\begin{cases} \frac{dU}{dt} = -0.1 \times U \\ U(0) = 1 \end{cases}$$

```
<odeSystem>
  <ode index="0" initial_condition="1" >
    <operator>times</operator>
    <operand1>
      <operator>scalar</operator>
      <value>-0.1</value>
    </operand1>
    <operand2>
      <operator>variable</operator>
      <value>0</value>
    </operand2>
  </ode>
</odeSystem>
```

Ecriture sous forme arborescente:

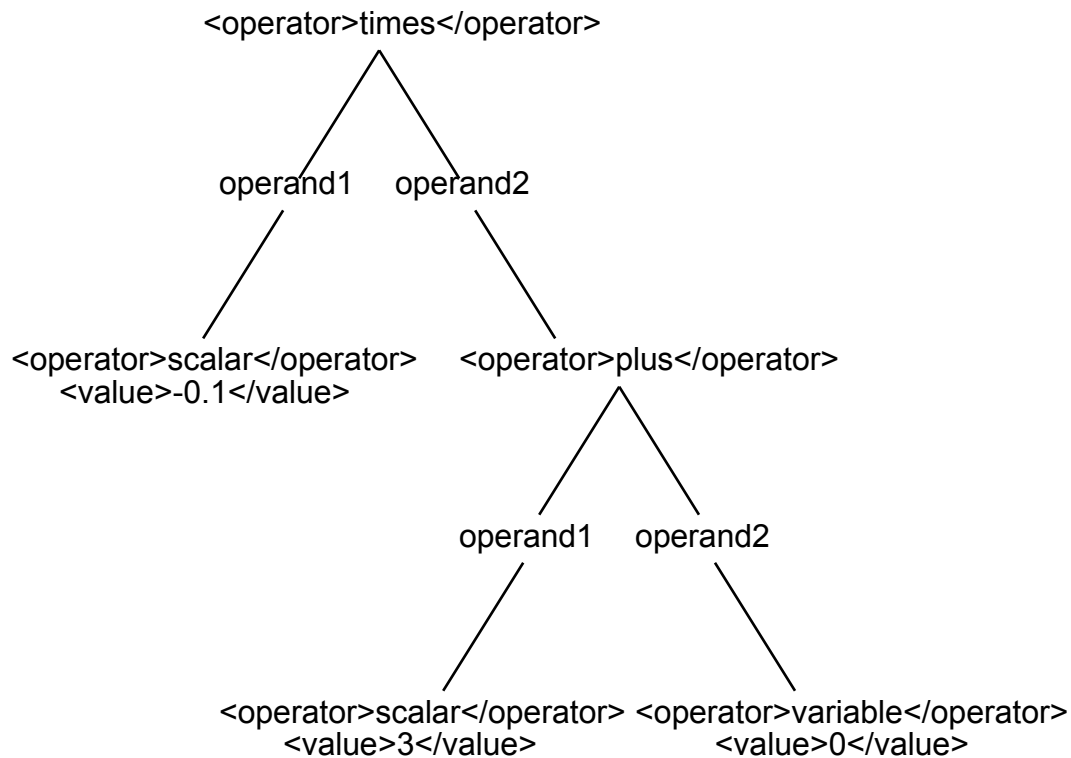


Annexe3 : fichier xml correspondant au système différentiel

$$\begin{cases} \frac{dU}{dt} = -0.1 \times (3 + U) \\ U(0) = 1 \end{cases}$$

```
<odeSystem>
  <ode index="0" initial_condition="1">
    <operator>times</operator>
    <operand1>
      <operator>scalar</operator>
      <value>-0.1</value>
    </operand1>
    <operand2>
      <operator>plus</operator>
      <operand1>
        <operator>scalar</operator>
        <value>3</value>
      </operand1>
      <operand2>
        <operator>variable</operator>
        <value>0</value>
      </operand2>
    </operand2>
  </ode>
</odeSystem>
```

Ecriture sous forme arborescente:



Annexe4: fichiers xml exprimant le couplage EDO-Phymul

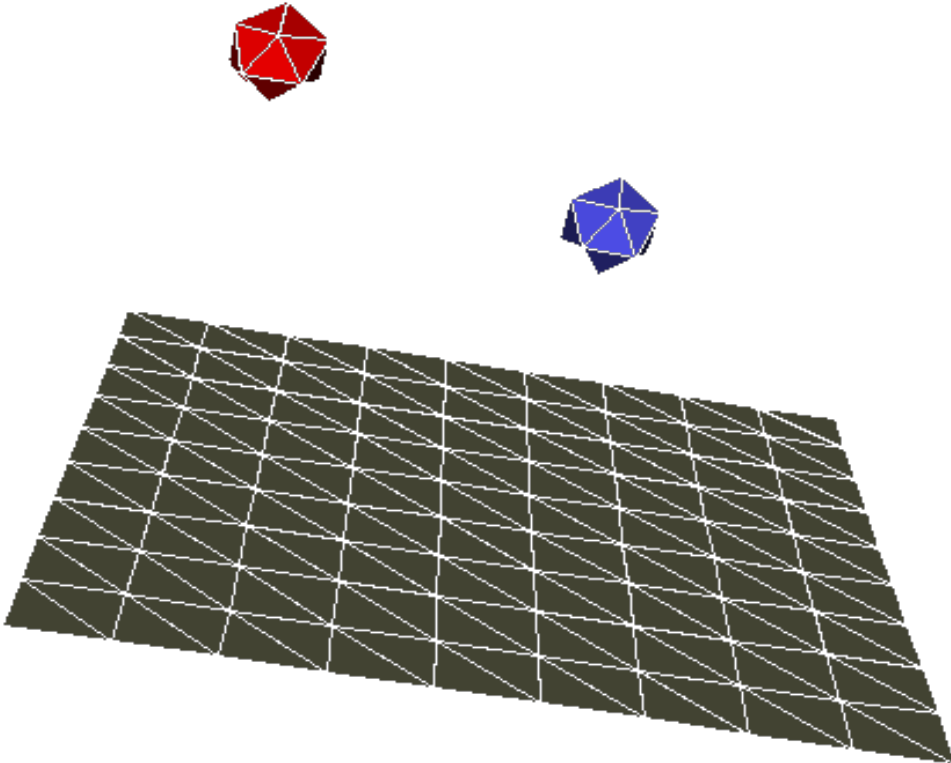
Fichier xml signifiant que l'on applique à la variable Y de l'élément 4 le résultat de l'équation d'index 0 multiplié par 682 :

```
<odeToPhymul>
  <link>
    <operator>times</operator>
    <operand1>
      <operator>scalar</operator>
      <value>682</value>
    </operand1>
    <operand2>
      <operator>ode</operator>
      <odeIndex>0</odeIndex>
    </operand2>
    <element index = "4" variable = "POS_Y"/>
  </link>
</odeToPhymul>
```

Fichier xml permettant d'ajouter à l'équation d'index 0 le volume de la région 1 divisé par 2000000 :

```
<phymulToOde>
  <link operator = "plus">
    <operator>div</operator>
    <operand1>
      <operator>region</operator>
      <region index = "1" variable = "VOLUME" />
    </operand1>
    <operand2>
      <operator>scalar</operator>
      <odeIndex>2000000</odeIndex>
    </operand2>
    <odeIndex>0</odeIndex>
  </link>
</phymulToOde>
```

Annexe5: Objet Phymul représentant un espace à deux dimensions ainsi que deux cellules



Annexe6 : Exemple de fenêtre de commande

hapto -c 2 -mLen 10 -mWid 10 -chut -odes test.oml -limit 500 -io 6 -jo 6 -st 1 -ux 3.3 -uy 1.5 -lambdaU 0.01

#-c int [default=2] specify the number of cells
#-mLen int [default=10] specify the length of the matrix
#-mWid int [default=10] specify the width of the matrix
#-chut [default=not silent] don't display anything while working, display only at end
#-odes omlfile. use omlfile (OML file following the ode schema to define all the odes)
#-limit float compute until time is equal to limit (starts at 0)
#-io int. the abscissa of the concentration's pic
#-jo int. the ordinate of the concentration's pic
#-st float save every st seconds
#-ux double. parameter monitoring the fibre orientation
#-uy double. parameter monitoring the fibre orientation
#-lambdaU. [default=0.01] rate of dissipation of the molecule U

Résumé

Comme de nombreux processus en biologie cellulaire sont complexes à étudier, je présente un outil pour leur simulation en tenant compte des aspects d'échange d'information entre cellules et des réponses globales au niveau de la cellule (déformation, migration et différenciation cellulaire). Mon approche est physique et s'appuie sur Phymul, une bibliothèque écrite en C++ qui permet de simuler le mouvement et la déformation d'objets physiques 3D. Dans mon cas, ces objets sont assimilés à des cellules.

J'ai tout d'abord sélectionné dans la littérature un *solver* d'équations différentielles ordinaires (EDO) selon certains critères. Des modifications ont été apportées de manière à programmer facilement le système différentiel représentant le problème biologique. On dispose ainsi d'un fichier XML dont j'ai défini le formalisme. Pour réaliser mon outil, j'ai finalement couplé Phymul à la bibliothèque de calcul pour rendre compte de propriétés biologiques complexes. La simulation de ces EDO est synchronisée avec celle du mouvement décrit par Phymul ce qui permet d'intégrer les interactions entre les processus physico-chimiques hébergés par l'objet et la dynamique de son déplacement. Après une phase de validation, j'ai travaillé sur les premières étapes de la modélisation de la chimiotaxie et de l'haptotaxie.

Mots-clés. Equations différentielles ordinaires (EDO), *solver*, Phymul, simulation, modèle physique.

Abstract

As, in general, cellular biology processes are difficult to study, I present a tool to simulate them. So, I have considered the information exchanged between cells and the cellular global answers (distortion, migration and cellular differentiation). My approach is physical and is based on Phymul, a library written in C++. This library allows to simulate the movement and the deformation of 3D physical objects. In my case, these objects are ranked as cells.

First of all, I chose a solver of ordinary differential equations (ODE) in accordance with certain criteria. Changes have been made to program the differential system representing the biological problem. I have defined the formalism from an XML file. Finally, to carry out my project, I linked Phymul and the solver. This link explains any complex biological properties. The ODE simulation is synchronised with the one of movement described by Phymul. Thus, the interactions between the physical and chemical processes hosted by the object and the dynamic of its movement are integrated.

After a validation phase, I set up the first steps towards chemotaxy and haptotaxy modelling.

Keywords. Ordinary Differential Equations (ODE), *solver*, Phymul, simulation, physical model.