

Université
de Liège



UNIVERSITE DE LIEGE
Faculté des Sciences Appliquées
Institut Montefiore

Performance et robustesse des modèles bistables en biologie.

Application au processus cellulaire d'apoptose

Promoteur : **Pr. Rodolphe Sepulchre**

Co-Promoteur : **Pr. Eric Bullinger**

Travail de fin d'études présenté par

Laura TROTTA

en vue de l'obtention du grade
d'Ingénieur civil biomédical

Année académique 2008 - 2009

Qu'il me soit permis de remercier Monsieur le Professeur Rodolphe Sepulchre qui m'a donné l'opportunité de réaliser ce travail de fin d'études dans le domaine de la biologie systémique, m'a guidée et conseillée tout au long de l'année.

Je souhaite également remercier vivement Monsieur le Professeur E. Bullinger pour les conseils utiles qu'il m'a prodigués, ainsi que pour le temps qu'il m'a consacré avec extrême gentillesse.

Enfin, je tiens à remercier ceux qui, par leur soutien , m'ont permis de mener à bien ce travail, ma famille et mes amis.

Résumé

L'apoptose est une forme de mort cellulaire contrôlée, utilisée par l'organisme pour éliminer les cellules inutiles, endommagées ou potentiellement dangereuses. Différents modèles mathématiques ont récemment été développés pour tenter de décrire les interactions biochimiques impliquées dans ce processus. Dans ces modèles, la cellule est présentée comme un système à deux états distincts, la survie et la mort, qui effectue une transition d'états en réponse à un stimulus pro-apoptotique. Ce comportement est typique des systèmes bistables. L'objectif de l'étude est de définir une série de mesures de performance et de robustesse des modèles bistables en biologie et de les appliquer au cas particulier de l'apoptose.

Dans un premier temps, nous tentons de formuler une définition de la bistabilité qui prend en compte le point de vue biologique d'une part et le point de vue mathématique d'autre part. En se basant sur cette définition, nous proposons trois mesures de performance que nous appliquons à deux systèmes bistables particuliers : le modèle de Griffith et un modèle d'apoptose proposé par T. Eissing et al. [1]. Nous étudions ensuite la robustesse de ces mesures à des modifications paramétriques et du signal d'entrée.

Les résultats obtenus pour le modèle d'apoptose montrent que le comportement de bistabilité est principalement robuste à trois paramètres. Nos résultats semblent être en accord avec des études précédentes mettant en lumière le rôle des inhibiteurs d'apoptose dans le mécanisme de bistabilité. De plus, notre analyse met en évidence l'importance du point de selle dans la performance des systèmes bistables, en particulier sur le processus de décision entraînant la transition d'états.

De manière générale, nos mesures pourraient être utilisées pour étudier d'autres systèmes bistables ou encore comme outil de comparaison et de discrimination entre différents modèles.

Table des matières

Table des matières	iii
Table des figures	v
Introduction	1
1 Bistabilité	3
1.1 La bistabilité en biologie cellulaire	3
1.1.1 Expérience de Solomon et al.	4
1.1.2 Expérience de Sha et al.	4
1.1.3 Caractéristiques des systèmes bistables en biologie	5
1.2 Les modèles bistables	6
1.2.1 Les modèles dynamiques en biologie	6
1.2.2 La bistabilité en dimension 1	9
1.2.3 Les systèmes bistables élémentaires en dimension 2	12
1.2.4 Le modèle de Griffith	15
1.2.5 Comparaison avec un système « Switch-like »	20
1.2.6 La bistabilité en dimension n	20
1.3 Lien entre bistabilité en biologie et théorie des systèmes dynamiques	22
2 L'apoptose	23
2.1 Description générale du mécanisme d'apoptose	23
2.1.1 Voie intrinsèque de l'apoptose	24
2.1.2 Voie extrinsèque de l'apoptose	24
2.2 L'apoptose, un processus bistable	25
2.3 Caractéristiques dynamiques de l'apoptose	26
2.4 Modélisation de l'apoptose	26
3 Mesures de performance des systèmes bistables	32
3.1 Performance dans les modèles d'apoptose	33
3.2 Performance des systèmes linéaires « SISO »(Single Input Single Output)	34
3.3 Mesures de performance	35
3.4 Application au modèle de Griffith	38
3.4.1 Représentation entrée-sortie du système	38
3.4.2 Mesure 1	39

3.4.3	Mesure 2	39
3.4.4	Mesure 3	39
3.5	Application au modèle de l'apoptose	41
3.5.1	Représentation entrée-sortie du système	41
3.5.2	Mesure 1	42
3.5.3	Mesure 2	42
3.5.4	Mesure 3	43
4	Robustesse	45
4.1	Robustesse paramétrique	46
4.1.1	Définition des mesures	46
4.1.2	Application au modèle de Griffith	49
4.1.3	Application au modèle d'apoptose	55
4.1.4	Analyse de sensibilité le long de trajectoires du système	57
4.2	Robustesse vis à vis d'une modification de l'entrée	58
4.2.1	Réponse du système à une entrée de type échelon	58
4.2.2	Application au modèle de Griffith	59
4.2.3	Application au modèle d'apoptose	59
4.3	Effet du bruit interne	59
5	Analyse des résultats	70
5.1	Interprétation des résultats pour le modèle de l'apoptose.	70
5.2	Lien entre les résultats et la théorie des systèmes dynamiques.	72
	Conclusion	76
	Bibliographie	79

Table des figures

1.1	Expérience de Solomon	4
1.2	Expérience de Sha	5
1.3	Cinétiques de Michaelis-Menten et de Hill	8
1.4	Système bistable de dimension 1	10
1.5	Modification des points d'équilibre du système de dimension 1 suite à une modification d'entrée	11
1.6	Diagramme de bifurcation en fonction de l'entrée du système (système de dimension 1)	11
1.7	Comparaison du « toggle switch » et du « one-way switch »	12
1.8	Représentation des systèmes E-E et I-I	13
1.9	Plan de phase d'un système E-E et d'un système I-I	14
1.10	Plan de phase du modèle de Griffith	17
1.11	Modification des points d'équilibre du système de Griffith suite à une variation de l'entrée ou à une variation paramétrique.	19
1.12	Comparaison entre un système « Switch-like » et un système bistable	21
2.1	Voies intrinsèque et extrinsèque de l'apoptose	25
2.2	Présentation d'un modèle d'apoptose.	27
2.3	Evolution temporelle des caspases effectrices pour une impulsion de caspases initiatrices	31
3.1	Mesures de performance des systèmes linéaires SISO	35
3.2	Temps de transition dans le modèle de Griffith	40
3.3	Représentation entrée-sortie du modèle d'apoptose	41
3.4	Temps de transition pour le modèle d'apoptose	44
4.1	Sensibilité des points d'équilibre du système de Griffith à une variation paramétrique.	50
4.2	Trajectoires pour le système de Griffith soumis à une variation paramétrique	51
4.3	Diagrammes de bifurcation du modèle de Griffith	52
4.4	Degrés de robustesse pour le système de Griffith	53
4.5	Sensibilité du seuil de transition pour le modèle de Griffith (figure 1)	53
4.6	Sensibilité du seuil de transition pour le modèle de Griffith (figure 2)	54
4.7	Degrés de robustesse du seuil de transition pour le modèle de Griffith	54
4.8	Sensibilité du temps de transition pour le modèle de Griffith	55

4.9	Sensibilité des points d'équilibre dans le modèle d'apoptose à une variation paramétrique	61
4.10	Degrés de robustesse pour le modèle d'apoptose	62
4.11	Sensibilité de la variable d'entrée au point de selle pour le modèle d'apoptose.	63
4.12	Sensibilité du seuil de transition dans le modèle d'apoptose (figure 1)	63
4.13	Sensibilité du seuil de transition dans le modèle d'apoptose (figure 2)	64
4.14	Degrés de robustesse du seuil de transition pour le modèle d'apoptose	64
4.15	Sensibilité du temps de transition dans le modèle d'apoptose	65
4.16	Evolution temporelle de la concentration de $C3^*$ pour deux impulsions d'entrée.	65
4.17	Sensibilités le long d'une trajectoire (1)	66
4.18	Sensibilités le long d'une trajectoire (2)	67
4.19	Sensibilités le long d'une trajectoire (2) : zoom	68
4.20	Robustesse à une entrée de type échelon : diagramme de bifurcation pour le modèle de Griffith	69
4.21	[Robustesse à une entrée de type échelon : diagramme de bifurcation pour le modèle d'apoptose	69
5.1	Représentation entrée-sortie du modèle d'apoptose : rappel	71
5.2	Types de bifurcation dans le modèle d'apoptose	72
5.3	Rôle du point de selle et de sa variété stable : modèle de Griffith	74
5.4	Rôle du point de selle et de sa variété stable : modèle de Lorenz (1)	75
5.5	Rôle du point de selle et de sa variété stable : modèle de Lorenz (2)	75

Introduction

La biologie systémique est une discipline actuellement en plein essor qui tente d'utiliser et d'adapter les outils informatiques et de modélisation à l'étude du vivant. Un des aspects de la biologie systémique consiste en le développement de nouveaux modèles mathématiques afin de décrire et comprendre les comportements cellulaires. Face à l'augmentation du nombre de ces modèles ainsi qu'à leur complexité croissante, il devient nécessaire d'établir des critères permettant de valider, critiquer ou classer ces différents modèles. Une des approches envisageables pour la définition de tels critères repose sur l'étude de la performance et de la robustesse des systèmes biologiques. Cette approche se base sur l'hypothèse que les organismes biologiques ont à travers l'évolution acquis un comportement adapté et robuste qui leur permet de survivre dans des environnements soumis aux perturbations et de plus ou moins grande variabilité.

L'objectif de l'étude est de définir une série de mesures de performance et de robustesse de systèmes biologiques présentant un comportement particulier, à savoir un comportement de bistabilité. La définition de ces mesures doit permettre d'étudier un comportement cellulaire récemment décrit en terme de bistabilité : le processus d'apoptose. L'apoptose est une forme de mort cellulaire contrôlée utilisée par l'organisme pour éliminer des cellules endommagées et potentiellement dangereuses pour la survie de l'organisme. Ce processus est un processus essentiel impliqué dans un certain nombre de maladies, comme les maladies neurodégénératives ou les cancers.

L'étude est articulée autour de cinq chapitres. Dans le premier chapitre, nous tentons de formuler une définition de la bistabilité qui prend en compte le point de vue biologique d'une part et le point de vue mathématique d'autre part. Pour ce faire nous identifions les caractéristiques principales des systèmes bistables en biologie sur base d'une recherche bibliographique et montrons comment relier ces propriétés à une caractérisation mathématique.

Le second chapitre présente le processus cellulaire d'apoptose. Nous effectuons dans un premier temps, un bref rappel des mécanismes biochimiques impliqués au niveau cellulaire de manière à placer le lecteur dans le contexte biologique du processus. Les caractéristiques en faveur d'un mécanisme de bistabilité dans l'apoptose sont alors mises en évidence. Le modèle d'apoptose sur lequel se basera notre analyse de performance et de robustesse est alors présenté.

Dans le troisième chapitre, nous discutons de la performance des systèmes bistables. Nous identifions une série de mesures que nous appliquons dans un premier temps à un modèle bistable simple de dimension 2 (le modèle de Griffith) et au modèle d'apoptose par la suite.

Le quatrième chapitre consiste en l'étude de robustesse des systèmes bistables. L'analyse se base principalement sur l'étude de la robustesse des mesures de performance définies précédemment.

Enfin, le dernier chapitre présente les résultats obtenus grâce à l'utilisation de nos mesures.

Chapitre 1

Bistabilité

La bistabilité est un concept récurrent dans la modélisation biologique et a été utilisée pour caractériser différents processus dans des domaines comme l'apoptose [1], le cycle cellulaire [2] ou encore les maladies à Prion [3].

Dans ce chapitre, le concept de bistabilité est défini de manière à extraire les composantes nécessaires à l'existence de tels systèmes. Dans les chapitres ultérieurs la performance et la robustesse des modèles biologiques pourront alors être discutée en fonction des différentes composantes mises en lumière dans le présent chapitre.

1.1 La bistabilité en biologie cellulaire

Le phénomène de bistabilité a notamment été mis en évidence dans le processus de cycle cellulaire des ovocytes de Xénopes [2], [4]. Ces résultats résultent d'une suite de phases expérimentales et de modélisation : les modèles tentant de traduire la réalité expérimentale et amenant de nouvelles hypothèses vérifiées expérimentalement.

Les expériences menées par Solomon et al. [5] et Sha et al. [4] ont contribué à caractériser la bistabilité dans le cycle cellulaire des ovocytes de Xénopes.

Le cycle cellulaire correspond à l'ensemble des étapes de régulation de la division cellulaire en cellules filles [6]. Ce cycle est divisé en 4 étapes G_1 , S, G_2 (interphase) et M (mitose). La progression du cycle cellulaire est régulée par différentes protéines dont les kinases Cdk (Cyclin dependant kinases). L'activité de ces protéines varie au cours du cycle et est régulée par d'autres protéines, les cyclines. La synthèse des Cdk est relativement constante au cours du cycle tandis que celle des cyclines varie, entraînant l'enchaînement des différentes phases [6]. L'entrée en phase M est déterminée par l'activation « efficace » de *cdc2*, une protéine kinase liée à la cycline B. Ces deux protéines liées forment ainsi le « Mitosis Promoting factor » MPF. Cette activation « efficace » est atteinte lorsque la concentration de cycline B est suffisante. Il a été montré qu'il existe des seuils de concentration en cycline B qui déclenchent l'entrée et la sortie en mitose [5], [4].

1.1.1 Expérience de Solomon et al.

Solomon et al. [5] ont montré qu'une concentration seuil de cycline était requise pour initier la mitose (voir figure 1.1). L'expérience de Solomon et al. consiste à ajouter, in vitro, de la cycline_{prA} à des extraits d'ovocytes de Xénopes bloqués en interphase et a observé l'évolution de la kinase H_1 et du MPF (« Mitosis promoting factor » indicateurs de la phase de mitose). Il a ainsi été montré que la réponse à la cycline_{prA} in vitro fonctionne en « tout ou rien » : lorsque l'ajout de cycline est faible, l'activité de H_1 et de MPF reste très faible mais, si l'ajout dépasse une certaine concentration seuil, alors l'activité de la kinase H_1 et de MPF augmente fortement. Il existe donc une concentration de cycline qui fait basculer la cellule de l'interphase vers la mitose.

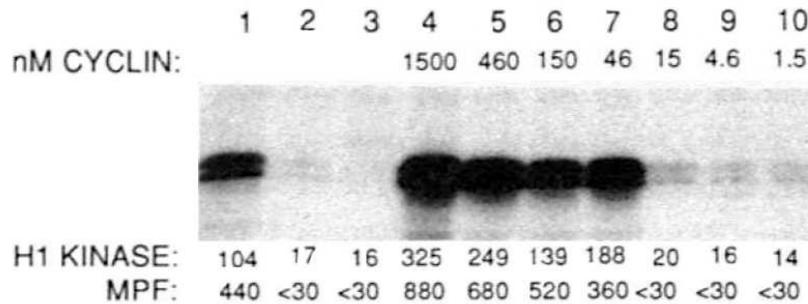


FIGURE 1.1 – Expérience de Solomon et al. : seuil d'activation de la kinase H_1 et de MPF. La figure est tirée de [5]. La planche 1 montre l'activité de la kinase H_1 et du MPF dans un extrait d'ovocyte de Xénope et la 2 leur activité dans l'extrait en interphase dérivé de ce dernier. La planche 3 est un extrait de contrôle et les planches 4 à 10 présentent les extraits soumis à un ajout de cycline_{prA}.

1.1.2 Expérience de Sha et al.

Sha et al ont mesuré les concentrations seuils de cycline pour entrer ou sortir de la mitose in vitro (voir figure 1.2).

Les résultats montrent que l'ajout de cycline B, Δ cycline B requit pour induire l'entrée en mitose se situe entre 32 et 40 nM alors que le seuil d'inactivation se situe entre 16 et 24 nM. Les seuils d'activation et d'inactivation sont donc différents.

Nous allons voir en quelle mesure ces expériences ont permis de caractériser le processus d'entrée en mitose comme un processus bistable.

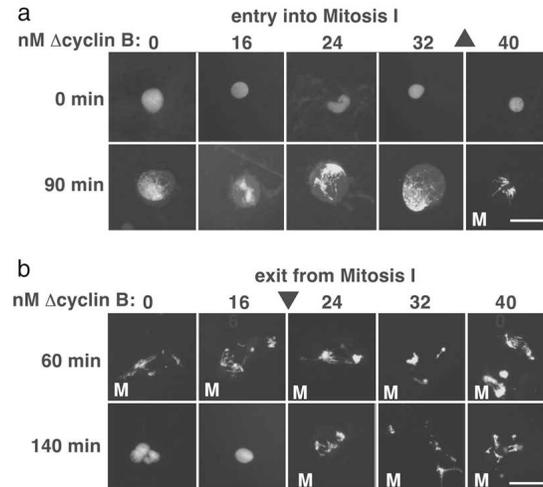


FIGURE 1.2 – Expérience de Sha et al. La figure est tirée de [4] et illustre les quantités de Δ cycline B nécessaire pour entrer ou sortir de la phase de mitose.

1.1.3 Caractéristiques des systèmes bistables en biologie

Le concept de bistabilité dans les modèles biologiques a été discuté par Tyson et al. [7] [8] ou encore Laurent et Kellershohn [9].

La caractéristique fondamentale des systèmes bistables est la coexistence de deux états d'équilibre stable distincts pour un même ensemble de conditions expérimentales. Le système peut présenter deux comportements différents clairement définis. A l'état stationnaire, le système se trouve dans un état ou un autre et ne peut changer d'état que s'il est soumis à un stimulus suffisant. Dans le cas du cycle cellulaire des ovocytes de Xénopes, ces deux états sont la présence de la cellule en interphase ou en phase de mitose.

La présence de ces deux états distincts du système n'est cependant pas suffisante pour définir la bistabilité. Une autre composante essentielle est la présence d'une transition abrupte, d'une discontinuité entre ces deux états d'équilibre [9]. Il n'existe pas de réponse stationnaire intermédiaire du système au stimulus. Le système doit présenter une réponse semblable à celle d'un interrupteur qui peut être en position « on » (état 1) ou « off » (état 2) mais pas dans un état intermédiaire. La transition entre les états d'équilibre peut être initiée suite à une variation continue d'un signal ou stimulus. Les systèmes bistables permettent dès lors, de transformer un signal continu en un signal discret [9] [10], [8] puisque la variation continue d'un signal, une concentration par exemple, peut entraîner une transition d'un état vers l'autre. L'expérience menée par Solomon et al. permet d'illustrer ces propriétés. En effet, la réponse de la cellule, à savoir l'activité de MPF et H_1 , à un stimulus (ajout de cycline) fonctionne en « tout ou rien ». La transition entre ces deux phases s'effectue de manière abrupte et est déterminée par une concentration seuil en cycline.

Les systèmes bistables ont également la particularité d'exhiber un comportement d'hystérèse [11]. Lorsque le stimulus a atteint un niveau suffisant pour entraîner une

transition d'un état d'équilibre vers l'autre état, le système reste dans cet état même si le stimulus décroît en dessous de la valeur de transition. La valeur du stimulus pour entraîner la transition dans un sens diffère de la valeur qui entraîne la transition dans l'autre sens. L'état du système dépend donc de son histoire. Le système se rappelle du stimulus même un certain temps après l'application de ce-dernier [9] et a donc également une capacité de mémoire. Ces propriétés sont mises en évidence par l'expérience de Sha et al. En effet, cette expérience montre que les seuils d'activation et d'inactivation en cycline sont différents. Pour un même seuil de cycline appliqué, la cellule peut se trouver dans deux états distincts. Sa présence dans un état ou l'autre est donc déterminée non pas seulement par la quantité de cycline appliquée mais aussi par son histoire.

Les notions de discontinuité et d'hystérèse sont fondamentales pour faire la distinction entre les systèmes présentant une réponse « switch like » et les systèmes bistables [11]. Les systèmes présentant une réponse « switch like » présentent également une transition abrupte dans leur courbe de réponse au stimulus mais ne présentent pas les caractéristiques d'hystérèse et de discontinuité présentées ci-dessus. Notons enfin, que les systèmes bistables ont été utilisés pour décrire des processus réversibles ou non. Par processus réversible nous entendons ici des systèmes qui peuvent passer d'un état d'équilibre à l'autre dans un sens ou dans l'autre alors que pour un système non réversible, la transition est définitive. La transition entre interphase et mitose est un processus réversible, l'apoptose comme nous le verrons est un processus irréversible.

1.2 Les modèles bistables

1.2.1 Les modèles dynamiques en biologie

Les modèles déterministes utilisent les équations différentielles ordinaires afin de décrire les dynamiques moléculaires présentes dans les systèmes biologiques. L'état d'un système peut être caractérisé par un ensemble de variables d'états. Un système d'équations différentielles ordinaires permet de décrire l'évolution des variables d'état au cours du temps et donc l'évolution de l'état du système. En biologie, ces états sont typiquement des concentrations de protéines, de métabolites ou encore d'ions [12].

Les équations décrivant le système sont déduites des lois de cinétique chimique qui permettent de caractériser la dynamique des réactions. J. Kenner et J. Sneyd [13] dans leur ouvrage « Mathematical Physiology » rappellent les différentes lois de cinétique qui permettent de modéliser les phénomènes biologiques. Nous reprenons ici quelques uns de leurs exemples afin de comprendre le fondement des équations utilisées dans les modèles de bistabilité en biologie.

Loi d'action des masses

La loi d'action des masses est une loi fondamentale des réactions chimiques qui permet de lier la vitesse d'une réaction aux concentrations des réactifs de la réaction. Elle peut être énoncée de la manière suivante :

« La vitesse d'une réaction chimique est proportionnelle au produit des concentrations des réactifs. [13] »

Soit la réaction chimique irréversible de deux réactifs A et B pour former le produit C.



La réaction est caractérisée par une constante cinétique k_+ . La loi d'action des masses permet d'écrire :

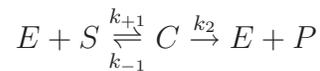
$$\frac{dc}{dt} = k_+ [A] [B]$$

où c est la concentration du produit C.

Michaelis-Menten

En biochimie, la plupart des réactions chimiques sont catalysées par des enzymes. Les enzymes accélèrent les réactions chimiques en diminuant l'énergie d'activation. Les réactions enzymatiques ne suivent pas directement la loi d'action des masses. En effet, on observe un phénomène de saturation lorsque la concentration en substrat augmente. La relation concentration en substrat - vitesse de réaction n'est plus linéaire. Le modèle de Michaelis-Menten permet d'expliquer ce comportement. Dans ce modèle, l'enzyme E se combine au substrat S pour former le complexe enzyme-substrat C qui permet de former le produit P, l'enzyme E étant relâchée.

Le schéma de réaction est le suivant :



La vitesse de formation du produit peut alors être exprimée en fonction de la concentration en substrat grâce à la relation :

$$V = \frac{dp}{dt} = \frac{V_{max}s}{s + K_m}$$

où s est la concentration du substrat, p la concentration du produit, $K_m = \frac{k_{-1}+k_2}{k_1}$ et $V_{max} = k_2e_0$ avec e_0 , la concentration initiale en enzyme. V_{max} représente la vitesse maximale de la réaction.

Coopérativité

Pour certains enzymes, souvent impliqués dans des mécanismes de contrôle, la vitesse de réaction ne suit plus une loi hyperbolique comme dans la cinétique de Michaelis-Menten mais la courbe $V(s)$ suit une loi sigmoïde.

Soit une enzyme pouvant fixer deux molécules de substrat. Dans certains processus biochimiques, la fixation de la première molécule est lente mais lorsque cette molécule est fixée, la fixation de la deuxième molécule est facilitée et plus rapide.

En général, si n molécules de substrat peuvent se lier à l'enzyme, il est possible d'exprimer la coopérativité positive par l'équation :

$$V = \frac{V_{max} s^n}{K_m^n + s^n}$$

avec $K_m^n = \prod_{i=1}^n K_i$.

Cette équation est connue sous le nom d'équation de Hill. La figure 1.3 illustre les courbes de vitesse de réaction en fonction de la concentration en substrat pour les cinétiques de Michaelis-Menten et de Hill. La forme de la courbe associée à la cinétique de Hill dépend de la valeur du paramètre n . Lorsque n augmente, la courbe présente la forme d'une sigmoïde. Plus n augmente et plus la zone de transition est abrupte. L'exemple traité est un exemple de coopérativité positive c'est à dire un exemple de réaction où la liaison d'une molécule de substrat à l'enzyme facilite la fixation des autres molécules.¹

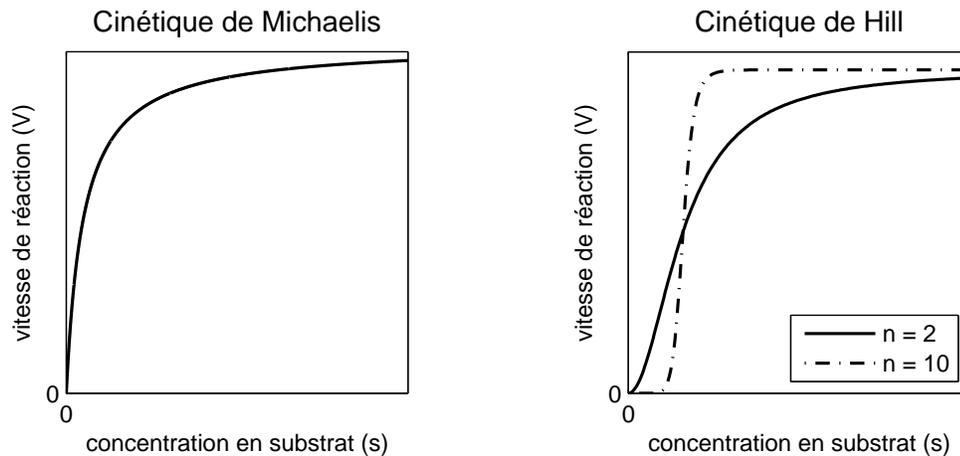


FIGURE 1.3 – Courbes représentant la vitesse de réaction en fonction de la concentration en substrat pour les cinétiques de Michaelis-Menten et de Hill.

1. Il existe également des cas de coopérativité négative, où la fixation d'une molécule de substrat à l'enzyme diminue la vitesse de liaison des autres molécules.

1.2.2 La bistabilité en dimension 1

Soit un système ouvert en dimension 1 caractérisé par le modèle suivant :

$$\dot{x} = f(x) + u \quad x, u \in \mathfrak{R}$$

où u représente l'entrée du système.

Les points fixes du système sont les solutions de l'équation

$$\dot{x} = 0$$

C'est à dire les solutions de $f(x) + u = 0$.

La stabilité des points d'équilibre peut être étudiée localement grâce à l'analyse du champ de vecteurs, c'est à dire en analysant le signe de $f(x) + u$.

Exemple Soit la fonction $f(x) = -x^3 + ax$ avec $a > 1$. Considérons dans un premier temps, une entrée nulle c'est à dire $u = 0$. Les points fixes du système sont alors les points $x = 0, x = \pm a$ (voir figure 1.4).

L'étude du champ de vecteurs permet de déterminer la stabilité des points fixes. Les points $x = \pm a$ sont stables tandis que le point $x = 0$ est instable. En effet, si le système se trouve en $x = -a$ ou $x = +a$ et subit une petite perturbation, il retourne vers cet état : le point d'équilibre est stable. Par contre, si le système subit une petite perturbation en 0, il évolue vers un autre état, $x = \pm a$: le point d'équilibre est instable.

L'exemple présenté ci-dessus est un exemple de système bistable. Le système présente deux points d'équilibre stable et évolue vers un des ces points en fonction des conditions initiales.

Considérons maintenant non pas une entrée nulle mais une entrée constante $u = \bar{b}$. Lorsque \bar{b} augmente, la courbe $f(x)$ se déplace vers le haut. Le système possède alors trois, deux ou un seul point d'équilibre en fonction de la valeur de \bar{b} 1.5.

Il est possible de tracer un diagramme de bifurcation représentant l'évolution des points fixes du système en fonction de l'entrée $u = \bar{b}$ 1.6.

Lorsque la valeur de \bar{b} augmente, le système passe d'une situation où un seul point fixe stable existe à un état de bistabilité où trois points fixes coexistent, deux stables et un instable. De même si la valeur de \bar{b} augmente trop, le système ne peut plus présenter qu'un seul point fixe stable. Les transitions entre ces situations sont appelées des **bifurcations col-noeud**. Une branche de points d'équilibre stable rencontre et « fusionne » avec une branche de points d'équilibre instable.

La figure 1.7 illustre deux types de diagramme de bifurcation pouvant être rencontrés pour des systèmes bistables. Dans le premier diagramme, il existe deux bifurcations col-noeud. Dans le second, il n'y a qu'une seule bifurcation col-noeud. En fait, il existe une

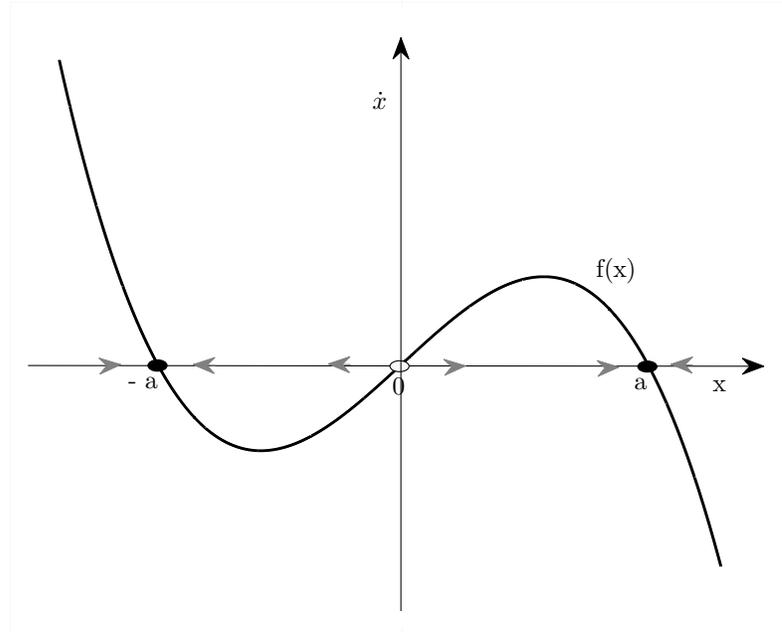


FIGURE 1.4 – Système bistable de dimension 1. La figure présente les points fixes du système décrit par $\dot{x} = -x^3 + ax$.

deuxième bifurcation mais elle se trouve à une valeur du signal s négative. Si s représente une concentration, cette valeur n'est donc pas acceptable physiquement.

Observons le premier diagramme (voir figure 1.7). Considérons que le système se trouve dans l'état non excité correspondant à la branche inférieure du diagramme de bifurcation et que la force du signal s est nulle. Lorsque s augmente, le point d'équilibre se déplace le long de la branche inférieure du diagramme. Si le signal s dépasse une certaine valeur critique S_{crit1} , le système subit une transition d'état et passe dans l'état excité, sur la branche supérieure du diagramme. Si le signal s diminue, le système reste dans l'état excité et suit la branche supérieure du graphe jusqu'à ce que le signal atteigne la valeur S_{crit2} où il subit une nouvelle transition qui le ramène vers l'état non excité. Il est important de noter que $S_{crit2} < S_{crit1}$, c'est à dire qu'il ne suffit pas que le signal redescende en dessous de la valeur critique S_{crit1} pour retourner à l'état non excité mais bien à une valeur inférieure. Pour une même valeur du signal s , le système peut donc se trouver dans deux états différents. La présence du système dans l'un ou l'autre de ces états dépend de la manière dont le signal s a été appliqué et donc de l'histoire du système. Ce comportement est connu sous le nom d' **hystérèse**.

Considérons maintenant le deuxième diagramme et appliquons le même raisonnement

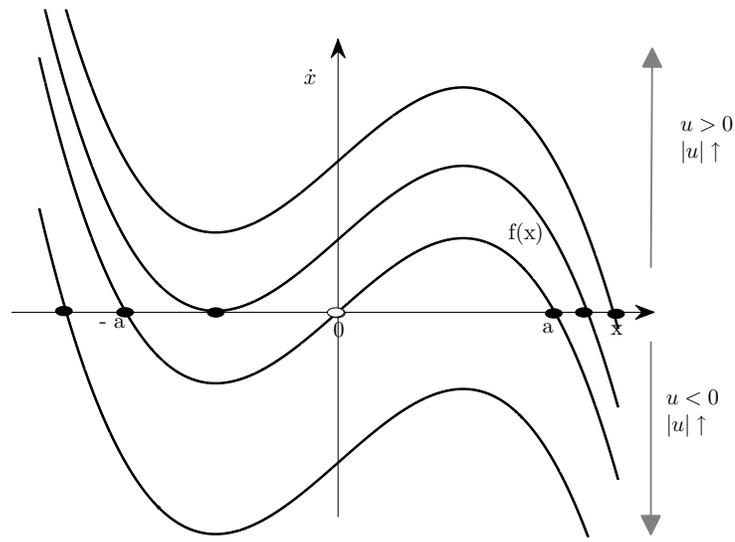


FIGURE 1.5 – Représentation des points fixes du système décrit par $\dot{x} = -x^3 + ax + u$ pour des valeurs de $|u|$ croissantes

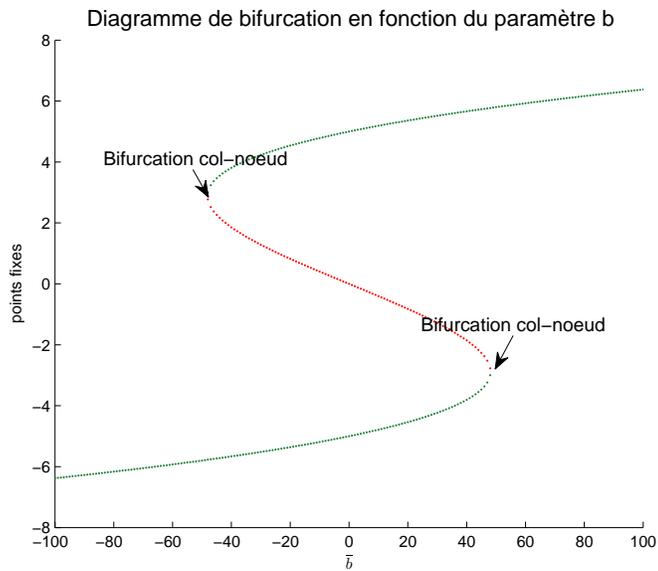


FIGURE 1.6 – Diagramme de bifurcation en fonction de la valeur d'entrée \bar{b}

que pour le premier. Lorsque s dépasse S_{crit} le système passe dans l'état excité. Il n'est cependant pas possible de retourner dans l'état non-excité car il n'existe pas de valeur S_{crit2} physiquement acceptable qui permettrait ce retour.

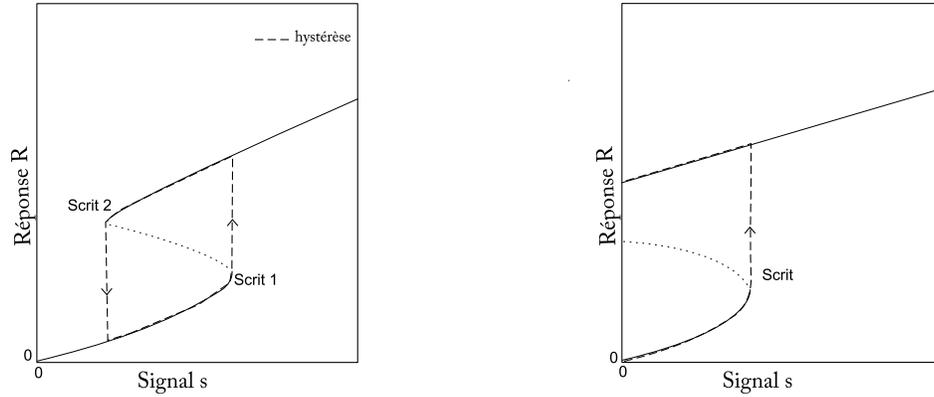


FIGURE 1.7 – Diagrammes de bifurcation de systèmes bistables : le « toggle switch » et le « one-way switch »

J. Tyson [7] fait la distinction entre les systèmes présentant ces deux types de diagrammes de bifurcation. Les systèmes correspondant au premier diagramme sont désignés sous le nom de « toggle switch » tandis que ceux correspondant au deuxième diagramme sont nommés « one-way switch ». Cette distinction est importante car elle permet de faire la différence entre les systèmes qui présentent une transition réversible entre deux états et ceux dont la transition est irréversible.

Ces deux types de transitions sont observées dans les systèmes biologiques. L'activation du MPF (mitosis promoting factor) étudié par Ferrel est un exemple de « toggle switch » où la transition est réversible. Les transitions de type « one way switch » jouent un rôle important dans les processus cellulaire caractérisés par un point de non retour [7].

1.2.3 Les systèmes bistables élémentaires en dimension 2

Les systèmes de dimension 2 sont des systèmes présentant deux variables d'état, x_1 et x_2 , pouvant être caractérisés par un système d'équation différentielles du type :

$$\begin{cases} \dot{x}_1 = f_1(x_1, x_2) + u & x_1, x_2, u \in \mathfrak{R} \\ \dot{x}_2 = f_2(x_1, x_2) + v & x_1, x_2, v \in \mathfrak{R} \end{cases}$$

avec u et v , les entrées du système.

Pour simplifier, considérons que les entrées du système sont nulles, c'est à dire :

$$\begin{cases} \dot{x}_1 = f_1(x_1, x_2) \\ \dot{x}_2 = f_2(x_1, x_2) \end{cases}$$

Il est possible d'obtenir les points fixes du système en résolvant :

$$\begin{cases} x_1 = f_1(x_1, x_2) = 0 \\ x_2 = f_2(x_1, x_2) = 0 \end{cases}$$

La stabilité locale des points fixes peut être étudiée en étudiant les valeurs propres de la matrice jacobienne du système évaluée en ces points. C'est à dire en calculant les valeurs propres λ_1, λ_2 de la matrice :

$$J = \begin{pmatrix} \frac{\partial f_1}{\partial x_1} & \frac{\partial f_1}{\partial x_2} \\ \frac{\partial f_2}{\partial x_1} & \frac{\partial f_2}{\partial x_2} \end{pmatrix}$$

évaluée au point fixe.

La stabilité du point fixe dépend alors de λ_1 et λ_2 :

- λ_1 et λ_2 sont à partie réelle négative, le point fixe est un point d'équilibre stable.
- λ_1 et λ_2 sont à partie réelle positive, le point fixe est un point d'équilibre instable.
- une des valeurs propres présente une partie réelle positive et l'autre une partie réelle négative, le point fixe est un point de selle.

Le comportement de bistabilité étudié en dimension 1 est également rencontré dans les systèmes de dimension 2. J.J. Hopfield a identifié deux systèmes élémentaires présentant un comportement de bistabilité en dimension 2, les systèmes excitateur-excitateur (**E-E**) ou inhibiteur-inhibiteur (**I-I**) (voir figure 1.8).

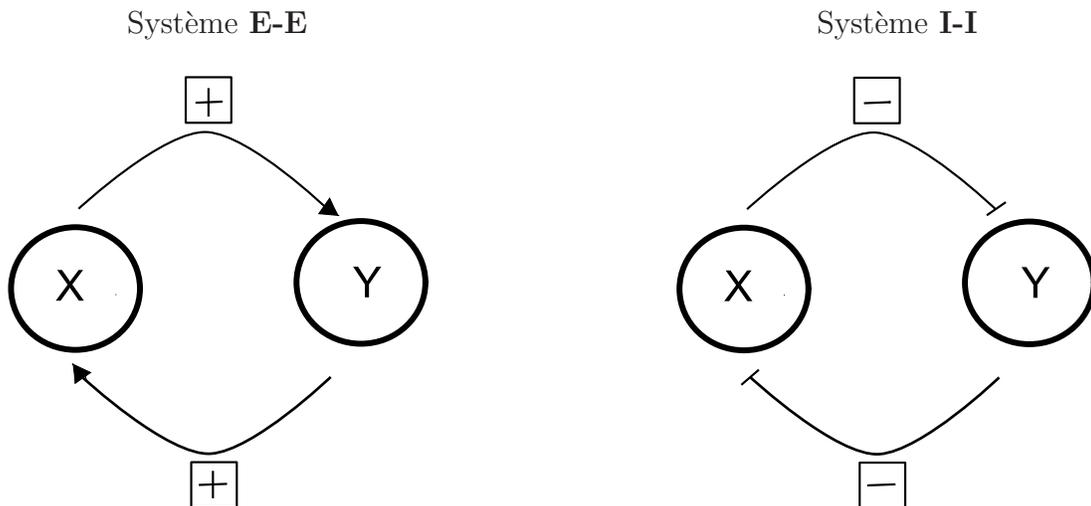


FIGURE 1.8 – Représentation des systèmes **E-E** et **I-I**.

Le modèle **E-E** est décrit par les équations suivantes :

$$\begin{aligned}\dot{x} &= -x + sat_1(y) \\ \dot{y} &= -y + sat_2(x)\end{aligned}$$

$sat_1(y)$ traduit le feed-back positif de y sur x et $sat_2(x)$ traduit le feed-back positif de x sur y

Les fonctions sat sont des fonctions « seuil » (marche, sigmoïde, tangente hyperbolique ...)

Le modèle **I-I** est décrit par les équations suivantes :

$$\begin{aligned}\dot{x} &= -x - sat_1(y) \\ \dot{y} &= -y - sat_2(x)\end{aligned}$$

$-sat_1(y)$ traduit le feed-back négatif de y sur x et $-sat_2(x)$ traduit le feed-back négatif de x sur y

Afin de déterminer les points fixes du système, il est possible de représenter les isoclines du système dans le plan de phase, c'est à dire les droites d'équation $\dot{x} = 0$ et $\dot{y} = 0$. Les points d'intersection des isoclines sont les points fixes du système. La figure 1.9 illustre les plan de phases d'un système **E-E** et d'un système **I-I**. Le systèmes **E-E** et **I-I** présentent trois points fixes, deux points d'équilibre stable et un point de selle.

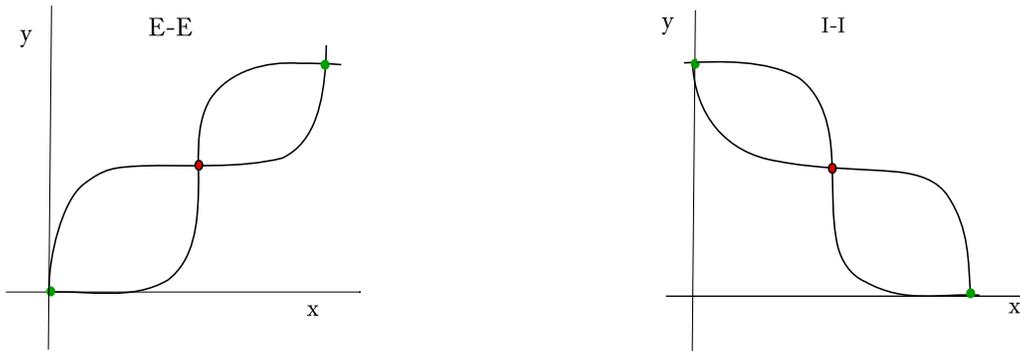


FIGURE 1.9 – Plan de phase d'un système **E-E** et plan de phase d'un système **I-I**. Les courbes noires représentent les isoclines du système et leurs intersections, les points fixes du système. Les points verts sont des points d'équilibre stable, les points rouges des points de selle.

Plaçons-nous dans un cas biologique. Les systèmes **E-E** et **I-I** pourraient, par exemple, représenter des interactions entre gènes.

Dans un système **E-E**, les points d'équilibre stable correspondent alors typiquement à deux états où les gènes sont tous les deux activés ou tous les deux inactivés. Le système fonctionne comme un **interrupteur** et offre une capacité de **mémoire**.

Dans un système **I-I**, les points d'équilibre stable correspondent alors à deux états où un gène est activé tandis que l'autre est inactivé. C'est un mécanisme où les deux gènes ne peuvent pas être activés en même temps, mécanisme de « **Winner takes all** ».

1.2.4 Le modèle de Griffith

Le modèle de Griffith(1971) est un exemple concret de système présentant de la bistabilité en dimension 2. Ce modèle représente un mécanisme de contrôle génétique dans lequel l'activité d'un gène est directement stimulée par son propre produit. La protéine produite effectue donc un feed-back positif sur l'activité du gène, impliquant ainsi un mécanisme auto-catalytique. Ce modèle peut être étudié grâce à la théorie des systèmes non linéaires [14].

$$\begin{cases} \dot{x} &= -ax + y \\ \dot{y} &= \frac{x^2}{(1+x^2)} - by \end{cases}$$

où x est proportionnel à la concentration de protéine produite et y est proportionnel à la concentration d'ARN messenger à partir de laquelle la protéine est traduite. a et b sont des paramètres positifs qui gouvernent les vitesses de dégradation de x et y .

Le modèle de Griffith peut être considéré comme un cas particulier de système **E-E**.

Points fixes et stabilité

Les isoclines du modèle de Griffith sont les courbes d'équation :

$$\begin{cases} y &= \frac{ax}{x^2} \\ y &= \frac{1}{b(1+x^2)} \end{cases}$$

Les isoclines du système s'intersectent lorsque

$$ax = \frac{x^2}{b(1+x^2)}$$

Le premier point fixe est le couple $(x^* = 0, y^* = 0)$. Les autres points fixes satisfont :

$$ab(1+x^2) = x$$

Cette équation présente deux solutions :

$$x^* = \frac{1 \pm \sqrt{1 - 4a^2b^2}}{2ab}$$

si $1 - 4a^2b^2 > 0$ c'est à dire si $2ab < 1$. Le système présente donc trois points fixes.

Les isoclines du système peuvent être tracées dans le plan de phase, leurs points d'intersection, donnent les points fixes du système (figure 1.10). La stabilité locale des points fixes peut être étudiée grâce à la matrice jacobienne du système.

$$J = \begin{pmatrix} -a & 1 \\ \frac{2x}{(1+x^2)^2} & -b \end{pmatrix}$$

La somme des valeurs propres de la matrice jacobienne est donnée par la trace de la matrice.

$$\lambda_1 + \lambda_2 = \text{trace}A = -(a + b)$$

et est donc négative.

Le produit des valeurs propres de la matrice est donné par son déterminant :

$$\lambda_1 * \lambda_2 = \Delta$$

Le déterminant évalué en un point d'équilibre est donné par

$$\Delta = ab - \frac{2x^*}{(1 + x^{*2})^2}$$

et son signe dépend du point x^* .

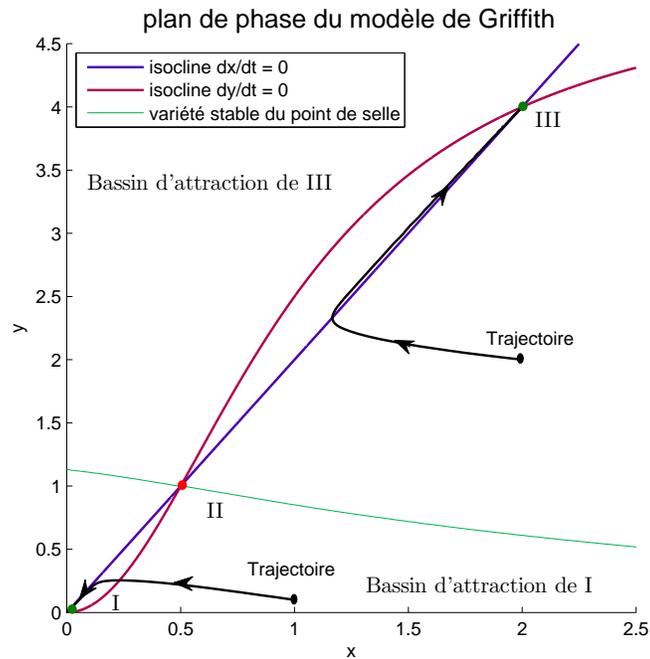
La stabilité du point d'équilibre dépend donc du signe de Δ en ce point :

- Si $\Delta > 0$, le système possède deux valeurs propres à partie réelle négative et le point fixe est stable.
- Si $\Delta < 0$, le système possède deux valeurs propres réelles et de signes opposés, le point d'équilibre est donc un point de selle.

Le système a donc deux points d'équilibre stable et un point de selle.

Il est possible de déterminer les variétés stable et instable du point de selle. La variété stable du point de selle représente l'ensemble des conditions initiales (points dans l'espace d'états) pour lesquelles les solutions convergent vers le point de selle en temps positif. La variété instable du point de selle représente l'ensemble des conditions initiales pour lesquelles les solutions convergent vers le point de selle en temps négatif. En se plaçant très près du point de selle et en simulant la trajectoire du système en temps inverse il est possible de tracer la variété stable du point de selle (voir figure 1.10).

La simulation des trajectoires du système montre que selon que la condition initiale du système se trouve d'un côté où de l'autre de la variété stable, le système converge vers l'un ou l'autre des points d'équilibre stable. La variété stable du point de selle joue donc un rôle de séparatrice et sépare le plan de phases en deux zones : les bassins d'attractions des points d'équilibre stable. En fonction des conditions initiales, les solutions du système convergent vers un des deux points d'équilibre stable. Ce type de plan de phase est caractéristique des systèmes dynamiques bistables de dimension 2 : deux états stables coexistent présentant chacun un bassin d'attraction dans le plan de phase, la variété stable du point stable séparant ces bassins d'attraction (voir figure 1.10).

FIGURE 1.10 – Plan de phase du modèle de Griffith ($a=2, b=0.2$)

Effet d'un stimulus externe

Nous avons dans un premier temps considéré le système décrit par le modèle de Griffith comme un système fermé où l'état du système était déterminé par sa condition initiale, c'est à dire les concentrations x_0 et y_0 . L'analyse du plan de phase nous a montré que selon x_0 et y_0 , l'état du système évoluait vers un des deux états d'équilibre stable. Ces deux états peuvent être interprétés de la manière suivante. Le premier état d'équilibre, à l'origine peut être considéré comme un état « inactivé ». En effet, les concentrations en Arn messenger et en protéine sont nulles ce qui correspond à un état où le gène est inactif. Le deuxième état correspond à l'état « activé », le gène est activé et maintient la concentration de protéine à un niveau élevé.

Les systèmes biologiques sont cependant, le plus souvent considérés comme des systèmes ouverts c'est à dire qu'ils peuvent subir l'influence de perturbations extérieures au système. Une des concentrations du système peut par exemple subir une augmentation suite à la présence d'un stimulus externe. Imaginons que le système se trouve initialement dans l'état inactivé. Un facteur externe peut activer le gène et de ce fait la production d'Arn messenger. Si la perturbation externe est suffisante pour élever le niveau d'Arn messenger au dessus d'une certaine concentration seuil alors le système bascule vers l'état activé.

Pour tenir compte d'une perturbation, ajoutons une entrée u au système. En général,

un système biologique de dimension 2 peut donc être modélisé par :

$$\dot{\mathbf{x}} = \mathbf{f}(\mathbf{x}) + \mathbf{b}u \quad \mathbf{x} = (x, y) \in \mathfrak{R}^2, \mathbf{b} \in \mathfrak{R}^2, u \in \mathfrak{R}$$

où u représente l'entrée du système dont la forme mathématique dépend de la perturbation.

2. Entrée transitoire Si une des concentrations du système (y , par exemple) est portée à un niveau supérieur de manière brusque et transitoire, l'effet peut être modélisé en posant :

$$\begin{aligned} \mathbf{b} &= \begin{pmatrix} 0 \\ 1 \end{pmatrix} \\ u &= b * \delta(t) \end{aligned}$$

où $b \in \mathfrak{R}$ et $\delta(t)$ est l'impulsion de Dirac.

Une perturbation de cette forme aura pour effet de modifier de façon « ponctuelle » l'état du système. L'effet de l'entrée est concentrée en $t=0$ et influence simplement la condition initiale du système. Considérons que le système se trouve initialement dans l'état « inactivé ». Si la perturbation est faible, l'augmentation transitoire de y ne dépasse pas la valeur seuil y_{seuil} déterminée par la variété stable du point de selle. Le système est donc robuste vis à vis de perturbations extérieures. Si la perturbation est suffisamment importante, y dépasse la valeur seuil y_{seuil} entraînant le système dans le bassin d'attraction du second point d'équilibre stable. Le système subit alors une transition d'état et passe dans l'état « activé » où il demeure tant qu'il n'est pas soumis à une nouvelle perturbation.

Cet exemple peut être relié à deux propriétés importantes des systèmes bistables en biologie : la robustesse du système vis à vis de perturbations externes et la présence d'une transition nette entre états. Une transition d'état ne peut en effet être initiée que lorsque le système est suffisamment perturbé pour évoluer vers un autre état d'équilibre ce qui permet au système de résister, dans une certaine mesure, à des perturbations externes

2. Entrée continue Imaginons que l'entrée agisse de manière continue sur la variable y .

$$\begin{aligned} \mathbf{b} &= \begin{pmatrix} 0 \\ 1 \end{pmatrix} \\ u &= b * 1(t) \end{aligned}$$

où $1(t)$ est la fonction échelon qui est nulle pour $t < 0$ et égale à 1 pour $t \geq 0$ et $b \in \mathfrak{R}$.

L'effet de l'entrée est double. D'une part elle modifie la condition initiale du système comme dans le cas d'une impulsion et d'autre part elle modifie les équations du système. L'effet de l'entrée est dans ce cas de modifier l'isocline $\dot{y} = 0$. Plus la valeur de b est importante et plus l'isocline se déplace vers le haut, entraînant une modification des points

d'équilibre du système. En fonction de la valeur de l'entrée le système peut présenter un, deux ou trois points d'équilibre (voir figure 1.11). Les notions de bifurcation col-noeud et d'hystérèse introduites pour le système de dimension 1 sont donc également présentes en dimension 2.

Les bifurcations peuvent également résulter d'une modification paramétrique. Dans le modèle de Griffith, le paramètre a représente la vitesse à laquelle la protéine est dégradée. La figure 1.11 présente le plan de phase du système pour différentes valeurs de a lorsque b est fixé. Pour $a < 2.5$, les isoclines présentent trois points d'intersection et le système a donc trois points fixes, deux points d'équilibre stable et un point de selle. Lorsque a augmente la pente de la droite augmente. Le point d'équilibre correspondant à l'état activé et le point de selle se rapprochent pour fusionner lorsque $a = 2.5$. Pour des valeurs de a supérieures à 2.5, le système ne présente plus qu'un seul point fixe correspondant à l'état d'équilibre inactivé. Nous retrouvons donc une **bifurcation col-noeud**. Le diagramme de bifurcation obtenu pour le modèle de Griffith est présenté à la figure 1.11.

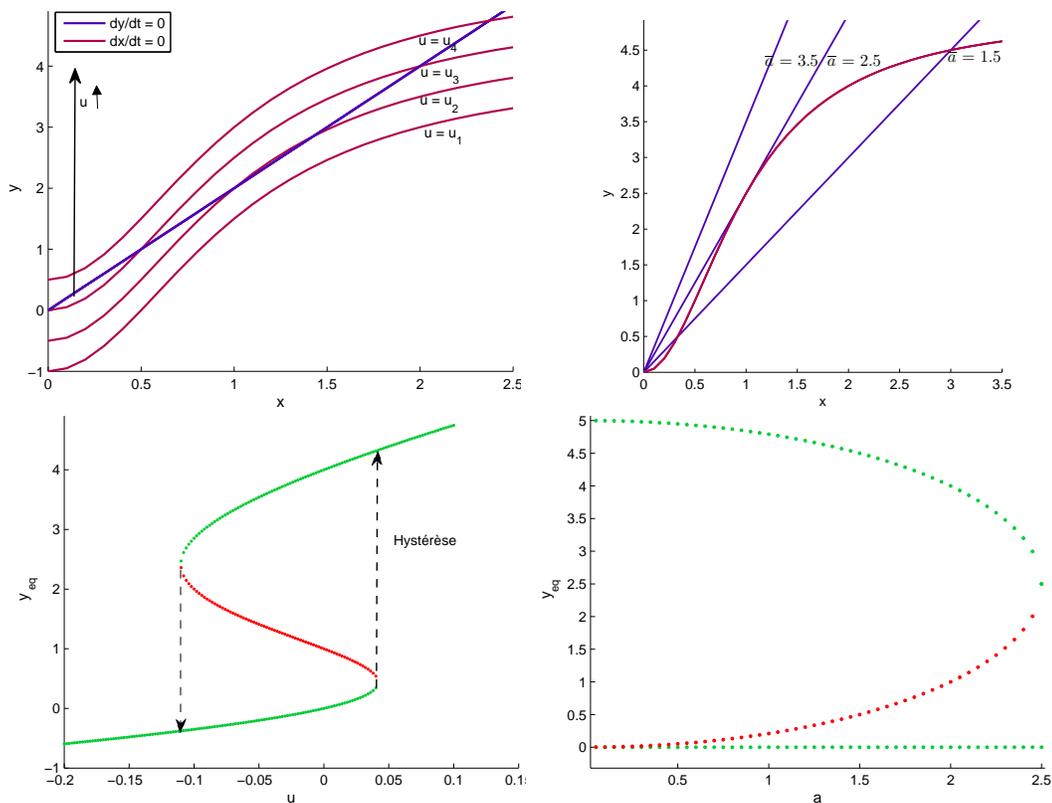


FIGURE 1.11 – Modification des points d'équilibre du système de Griffith. Les figures de gauche illustrent l'effet d'une entrée de type échelon et celles de droite, l'effet d'une variation paramétrique.

La zone $a < 2.5$ correspond donc à une zone de bistabilité tandis que la zone $a > 2.5$ correspond à une zone de monostabilité.

1.2.5 Comparaison avec un système « Switch-like »

Soit un système décrit par les équations :

$$\begin{cases} \dot{x} &= -x + k_1 + b * u \\ \dot{y} &= -y + f(x) \end{cases}$$

avec $n > 1$, $b \in \mathfrak{R}$, u l'entrée du système et y la sortie du système. $f(x)$ est une fonction de type sigmoïde par exemple :

$$f(x) = \frac{k_m x^n}{K + x^n}$$

où k_m et K sont des constantes réelles. Le système décrit par ces équations est un système de type « Switch-like ». Un plan de phase est présenté à la figure 1.12.

Effet d'une impulsion Lorsque l'entrée u est une impulsion, les équations du système ne sont pas modifiées. Le système possède un seul point d'équilibre et retourne dans cet état d'équilibre.

Effet d'une entrée continue Lorsque l'entrée u est continue, les équations du système se trouvent modifiées. Le système possède un point d'équilibre pour chaque valeur de u . L'évolution des points d'équilibre en fonction de la valeur de u est représentée sur la figure 1.12. Les valeurs d'équilibre de la sortie y suivent une courbe continue présentant une forme sigmoïde. Pour de faibles valeurs de u , la sortie y correspond à des valeurs faibles. Lorsque u augmente, le système voit sa sortie augmenter de manière graduelle. Il existe donc une série de concentrations intermédiaires entre les concentrations faibles de y correspondant aux faibles valeurs d'entrée et les concentrations élevées de y correspondant à de hautes valeurs d'entrées.

La figure 1.12 permet de faire la distinction entre systèmes « Switch-like » et systèmes bistables. Dans les systèmes « switch-like », le signal de sortie présente une réponse continue au signal ou stimulus d'entrée. Il n'existe pas de discontinuité entre sortie faiblement activée et sortie fortement activée. Dans le cas des systèmes bistables, comme nous l'avons vu pour le modèle de Griffith, la transition est discontinue. Cette transition peut s'effectuer soit par modification de la condition initiale du système et changement de bassin d'attraction (comme montré avec l'entrée impulsion) ou par modification des équations du système (comme pour l'entrée échelon). Dans les deux cas, la transition est nette et il n'existe pas de réponse intermédiaire du système au stimulus. De plus, les systèmes « Switch-like » ne présentent pas le comportement d'hystérèse des systèmes bistables.

1.2.6 La bistabilité en dimension n

La bistabilité existe également pour des systèmes de plus grande dimension. Les points fixes du système et leur stabilité peuvent être étudié comme en dimension 2 grâce aux valeurs propres de la matrice jacobienne. Il n'est cependant plus possible de représenter

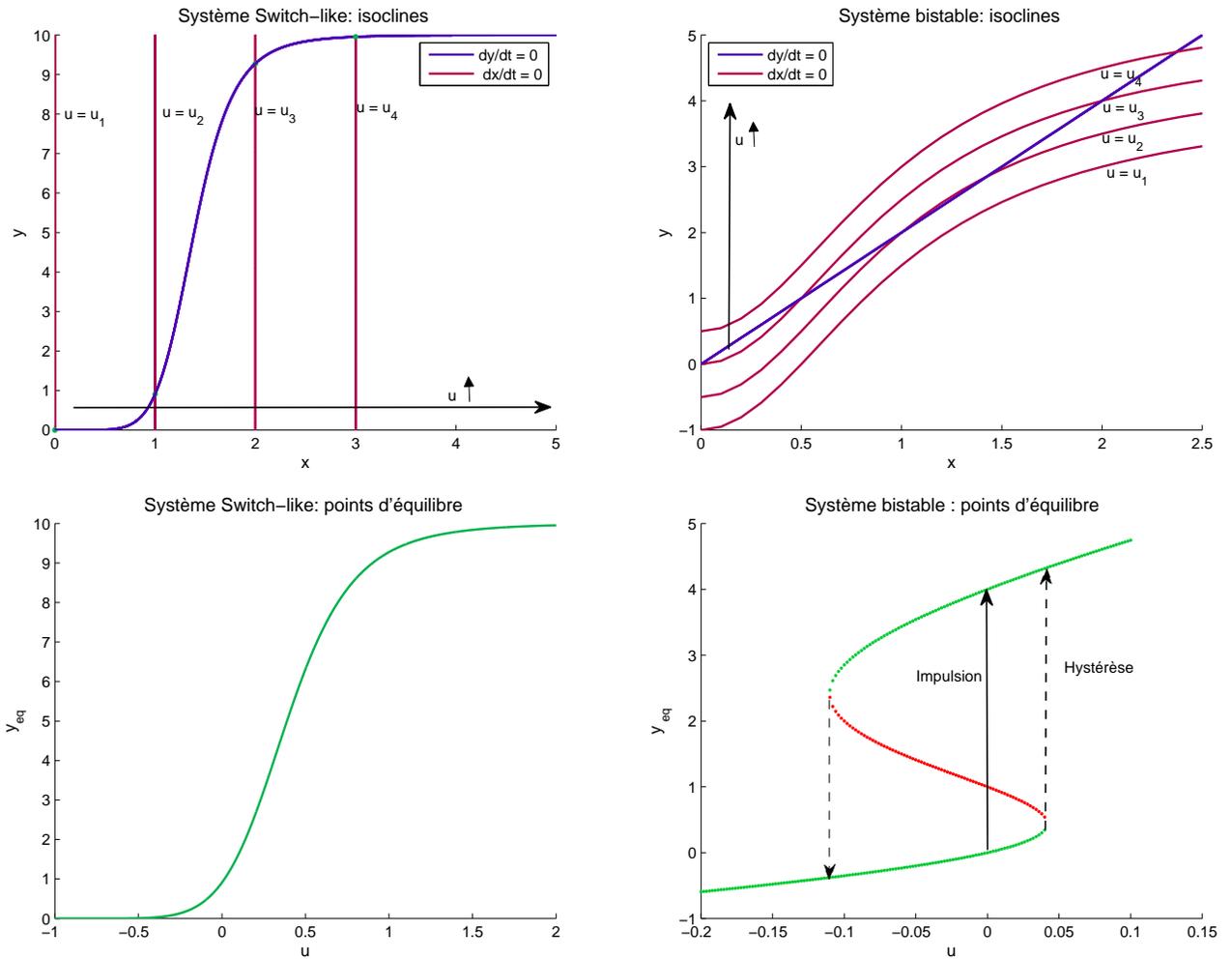


FIGURE 1.12 – Comparaison entre un système « Switch-like » et un système bistable. Les figures de gauche illustrent le comportement d'un système « Switch-like » et celles de droite celui d'un système bistable.

l'état du système sur un plan de phase.

La notion de bifurcation col-noeud existe également en dimension n . Remarquons qu'il existe d'autres types de bifurcations [14].

Notons, enfin que les systèmes de dimension n peuvent présenter des comportements plus complexes que ceux de dimension 2 (présence de chaos notamment). Il s'agit donc de rester prudent lors de l'analyse de ces systèmes.

1.3 Lien entre bistabilité en biologie et théorie des systèmes dynamiques

L'étude du plan de phase obtenu avec les modèles 2D permet de mettre en évidence les caractéristiques des systèmes bistables en biologie.

Pour ces différents systèmes de dimension 2, la présence de deux points d'équilibre stable et du point de selle vient de la non linéarité des isoclines du système. Pour obtenir trois points d'équilibre distincts, il faut en effet que les isoclines du système présentent une forme particulière (présence d'une sigmoïde, par exemple). La forme des isoclines n'est cependant pas suffisante : un système I-E par exemple, présente des isoclines en forme de sigmoïdes mais n'aura qu'un seul point d'équilibre. En biologie, la forme sigmoïde d'une isocline peut s'obtenir grâce à des mécanismes particuliers : coopérativité (cinétique de Hill), ultrasensibilité d'ordre zéro, ultrasensibilité via la présence d'inhibiteurs.

En dimension n , la bistabilité peut être obtenue en utilisant la simple loi d'action des masses lorsque le système présente une structure particulière. La présence d'une boucle de feed-back positif couplée à un mécanisme d'inhibition, par exemple, conduit dans certains cas à de la bistabilité comme nous le verrons par la suite.

La notion de discontinuité entre les états d'équilibre s'explique par le changement de bassin d'attraction du système (comme montré avec l'entrée impulsion) mais également suite à une modification des points d'équilibre du système (comme montré avec l'entrée continue). Dans ce cas, la transition a lieu suite à la disparition d'un des points d'équilibre stable du système et le système n'est plus en soi bistable.

La capacité de mémoire du système découle du fait que celui-ci reste dans un état activé pendant un certain temps même après application du stimulus. Dans le cas d'une entrée impulsion, cela s'explique par le fait que le système a subi une transition d'état et devrait subir une nouvelle impulsion pour changer d'état. Dans le cas de l'entrée continue, la capacité de mémoire est liée au phénomène d'hystérèse : l'entrée continue qui mène à une transition est différente de celle enclenchant la transition inverse.

La notion d'hystérèse peut être visualisée au moyen des diagrammes de bifurcation. Elle résulte de l'effet de l'entrée sur les concentrations du système (entrée continue) ou de perturbations de la cinétique des réactions (modifications de paramètres du modèle).

Chapitre 2

L'apoptose

L'apoptose est une forme de mort cellulaire « programmée » utilisée par l'organisme pour éliminer les cellules inutiles, endommagées ou potentiellement dangereuses. Elle intervient dans des le développement embryonnaire, la régulation du système immunitaire, la morphogenèse ou encore l'homéostasie tissulaire [15], [6]. L'apoptose est impliquée dans diverses pathologies sévères : les maladies neurodégénératives, comme la maladie d' Alzheimer ou de Parkinson, s'accompagnent d'une apoptose anormalement accrue tandis que la plupart des cancers s'accompagnent d'une apoptose réduite [6].

La compréhension des différents mécanismes sous-jacents au processus d'apoptose est donc une étape importante vers l'élaboration de thérapies pour ces diverses pathologies. L'apoptose a fait l'objet de nombreuses études qui ont permis de mettre en évidence la plupart des composants biochimiques impliqués dans ce « suicide cellulaire ».

Au delà de l'identification des différents éléments intervenant dans le processus, l'étude de leurs interactions et la mise en évidence de différents chemins de signalisation ont mené à une compréhension de plus en plus fine des mécanismes entrant en jeu lors de l'apoptose. Toutefois certaines questions persistent quand à la dynamique et aux logiques de régulation impliquées dans le processus et fournissent un sujet de recherche intéressant en biologie systémique.

Récemment, l'apoptose cellulaire a été décrite comme un système bistable caractérisé par deux états : la « survie » et la « mort » [1]. Dans ce chapitre, nous effectuons tout d'abord un bref rappel des mécanismes cellulaires impliqués dans l'apoptose et nous tentons ensuite d'expliquer en quoi celle-ci peut être considérée comme un système bistable au regard des caractéristiques mises en évidence dans le chapitre précédent.

2.1 Description générale du mécanisme d'apoptose

L'apoptose est un processus de mort cellulaire actif et régulé. Ces caractéristiques permettent de la distinguer d'autre forme de mort cellulaire comme la nécrose, un processus passif et non contrôlé [16]. Lors de l'apoptose, la cellule subit différentes modifications

dont un rétrécissement cellulaire et nucléaire, la condensation de la chromatine et une fragmentation de l'ADN, la fragmentation du noyau (karyorhexis) ou le bourgeonnement membranaire et la formation de vésicules apoptotiques contenant des fragments cellulaires dégradés mais évitant le déversement d'enzymes dans le milieu extracellulaire [17], [6].

L'apoptose peut être déclenchée suite à différents stimuli comme la déprivation en facteurs de croissance, le stress ou les lésions cellulaires (lésions de l'ADN notamment) ou encore l'activation de récepteurs spécifiques, les *death receptors* [6]. Après la phase d'initiation vient la phase effectrice consistant en l'activation de différentes enzymes (protéases et nucléases) qui permettent finalement la dégradation de la cellule.

Les caspases sont des cystéine-protéases présentes sous forme latentes (proenzymes) dans le cytosol et peuvent être activées par protéolyse. Bien que les mécanismes intervenant dans l'apoptose soit hautement complexes, il est possible de distinguer deux voies caspase-dépendantes de l'apoptose¹ : la voie intrinsèque ou mitochondriale et la voie extrinsèque ou *death receptor* dépendante de l'apoptose.

Il existe un grand nombre de protéines impliquées dans les mécanismes d'apoptose. Nous présentons ici un schéma simplifié des deux grandes voies de signalisation.

2.1.1 Voie intrinsèque de l'apoptose

La voie intrinsèque repose sur la formation de pores dans la membrane des mitochondries libérant dans le cytoplasme différentes protéines effectrices de l'apoptose. Cette voie peut être initiée par différents stimuli comme la déprivation en facteur de croissance, l'exposition à des radiations ionisantes ou des lésions de l'ADN. Ces différents facteurs interagissent avec les protéines de la famille BH3-only, protéines pro-apoptotique menant à une augmentation de la perméabilité (formation de pores) de la membrane mitochondriale externe [6]. Le cytochrome c, une protéine normalement présente dans l'espace intermembranaire de la mitochondrie, peut alors diffuser vers le cytosol où il se combine aux protéines APAF-1 pour former l'**apoptosome** [6]. Le complexe ainsi formé recrute et active la procaspase 9 entraînant l'activation d'une chaîne de caspases effectrices (caspases 3 puis 7 et 6) menant à la mort cellulaire [6]. D'autres protéines relâchées en même temps que le cytochrome c interviennent également dans le mécanisme d'apoptose. Citons notamment Smac/DIABLO et HtrA2/Omi dont le rôle serait de promouvoir l'apoptose en inhibant différentes protéines de la famille IAP (protéines inhibitrices de l'apoptose) [6].

2.1.2 Voie extrinsèque de l'apoptose

La voie extrinsèque de l'apoptose est initiée par la fixation d'un ligand de *death receptor* à la membrane cellulaire. La fixation d'un trimère de ligands active un trimère de

1. Il semble également exister des voies non dépendantes des caspases de l'apoptose [17] mais nous ne les présenterons pas ici .

récepteurs entraînant le recrutement de protéines adaptatrices permettant de former un complexe nommé DISC (*Death Inducing Signaling Complex*) [6]. Les protéines recrutées permettent alors l'activation de la procaspase 8. La caspase 8 peut alors activer la caspase 3 ou activer la voie mitochondriale de l'apoptose en interagissant avec la famille des protéines BH3-only [6].

Un schéma expliquant les différents mécanismes impliqués dans la mort cellulaire a été proposé par G. Kroemer et S. Martin [17]. Nous l'avons volontairement simplifié pour ne tenir compte que des mécanismes de mort cellulaire caspase-dépendants (voir figure 2.1).

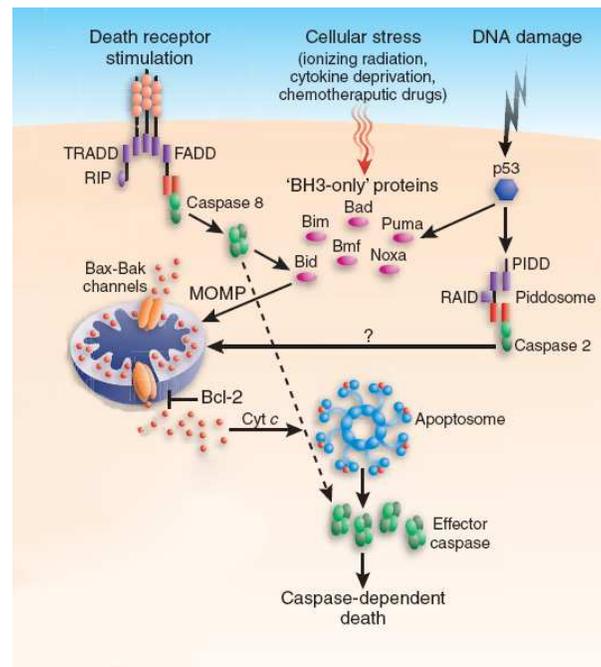


FIGURE 2.1 – Illustration des voies intrinsèque et extrinsèque de l'apoptose. La figure a été proposée par G. Kroemer et S. Martin [17] et a été modifiée pour ne tenir compte que des mécanismes de mort cellulaire dépendants des caspases.

2.2 L'apoptose, un processus bistable

Einssing et al. ont utilisé le concept de bistabilité pour caractériser l'apoptose cellulaire dans un modèle de la voie extrinsèque [1]. Cette caractérisation repose sur certaines propriétés du processus d'apoptose. Premièrement, l'apoptose peut être considérée comme un processus à deux états : la survie et la mort. L'état de survie doit être stable et résistant vis à vis de perturbation externes. De plus, si le signal pro-apoptotique déclencheur est au dessus d'un certain seuil, la cellule doit entrer de manière décisive et irréversible en apoptose [1], [18]. Nous retrouvons donc ici deux propriétés des systèmes bistables, la

présence de deux états et la présence d'une transition abrupte entre ces états.

La notion d'état de mort cellulaire doit néanmoins être discutée. Il est en effet intéressant de se demander de quelle manière l'état de mort cellulaire peut être défini.

L'activation efficace des caspases effectrices (C3 et C7 en particulier) est une marque significative de l'apoptose [19] et bien qu'il existe des formes de mort cellulaire proches de l'apoptose indépendantes des caspases [17], cette activation peut être utilisée pour caractériser l'état de mort cellulaire. L'activation des caspases effectrices déclenche de manière décisive le processus d'apoptose [19], de plus cette activation est soudaine et brusque [19]. Une activation efficace des caspases effectrices permet ainsi de faire la distinction entre vie et mort cellulaire.

Ces différents éléments sont en faveur d'un mécanisme de bistabilité dans le processus d'apoptose et certains modèles permettent de mettre en évidence cette bistabilité. Cependant, d'autres modèles reproduisent ces comportements sans faire appel à la bistabilité. La question selon laquelle l'apoptose renferme un mécanisme de bistabilité ou non reste donc ouverte et dépend du processus de modélisation ainsi que des hypothèses sur les mécanismes de signalisation au niveau cellulaire.

2.3 Caractéristiques dynamiques de l'apoptose

L'apoptose présente certaines caractéristiques dynamiques intéressantes. Dans la voie extrinsèque de l'apoptose, il existe un délai entre l'exposition de la cellule à un ligand de « death receptor » et l'activation « efficace » des caspases effectrices [20]. Durant cette période, seules les caspases initiatrices sont actives. Les caspases effectrices sont ensuite activées de manière brusque et rapide.

Ce délai et cette transition abrupte sont deux propriétés dont les modèles doivent pouvoir rendre compte.

2.4 Modélisation de l'apoptose

Plusieurs modèles de complexité différentes ont été proposés pour expliquer les mécanismes biochimiques impliqués lors de l'apoptose [12].

Nous allons concentrer notre étude sur un modèle proposé par Eissing et al. [1] (voir figure 2.2). Ce modèle a été proposé afin de décrire les mécanismes intervenant au coeur du processus d'apoptose. Le modèle fait intervenir un type de caspases initiatrices $C8$ sous forme latente ($C8$) ou sous forme activée ($C8^*$), un type de caspases effectrices $C3$ sous forme latente ($C3$) ou activée ($C3^*$) et des inhibiteurs de l'apoptose IAP et $CARP$. Le modèle consiste en une boucle de feed-back positif où la caspase 8 activée ($C8^*$) ac-

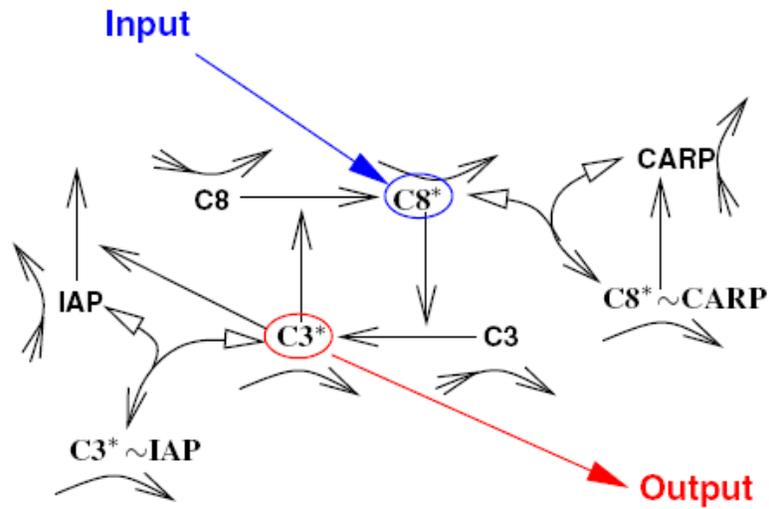
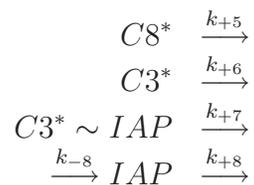
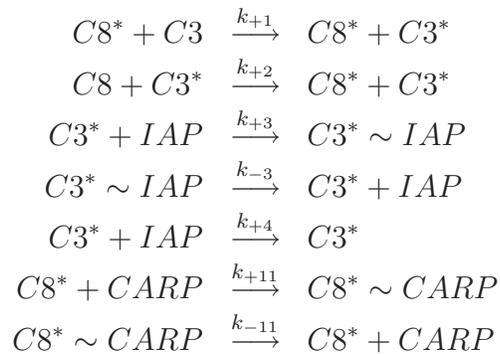
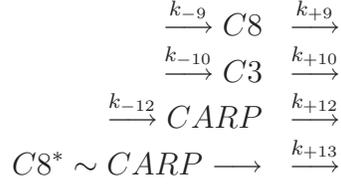


FIGURE 2.2 – Modèle de l'apoptose proposé par Eissing et al [1]. La figure est tirée de [21]

tive la caspase 3 ($C3$) et la caspase 3 activée ($C3^*$) active la caspase 8 ($C8$). La caspase $C3^*$ est inhibée par les protéines inhibitrices de l'apoptose (IAP) en formant un complexe ($C3^* \sim IAP$) et $C8^*$ est inhibée par $CARP$ en formant le complexe ($C8^* \sim CARP$). Le système possède une entrée et une sortie. L'entrée agit directement sur la quantité de $C8$ activée ($C8^*$). La sortie correspond à la quantité de caspase effectrice $C3$ activée ($C3^*$).

Ce système peut être représenté par les réactions suivantes :





$k_{+1} = 5.8e - 5$	$k_{+6} = 0.0058$	$k_{+11} = 0.0005$	$k_{-9} = 507$
$k_{+2} = 1.0e - 5$	$k_{+7} = 0.0173$	$k_{+12} = 0.001$	$k_{-10} = 81.9$
$k_{+3} = 0.0005$	$k_{+8} = 0.0116$	$k_{+13} = 0.0116$	$k_{-11} = 0.21$
$k_{+4} = 0.0003$	$k_{+9} = 0.0039$	$k_{-3} = 0.21$	$k_{-12} = 40$
$k_{+5} = 0.0058$	$k_{+10} = 0.0039$	$k_{-8} = 464$	

 TABLE 2.1 – Paramètres (en min^{-1})

En utilisant, la loi d'action des masses, il est possible d'écrire le système de réactions sous forme d'un système d'équations différentielles non linéaires.

$$\begin{aligned}
 \frac{d(C8^*)}{dt} &= k_{+2} * C8 * C3^* - k_{+5} * C8^* - k_{+11} * C8^* * CARP \\
 &\quad + k_{-11} * C8^* \sim CARP \\
 \frac{d(C3^*)}{dt} &= k_{+1} * C8^* * C3 - k_{+3} * C3^* * IAP + k_{-3} * C3^* \sim IAP - k_{+6} * C3^* \\
 \frac{d(C3^* \sim IAP)}{dt} &= k_{+3} * C3^* * IAP - (k_{-3} + k_{+7}) * C3^* \sim IAP \\
 \frac{d(IAP)}{dt} &= -k_{+3} * C3^* * IAP + k_{+3} * C3^* \sim IAP - k_{+4} * C3^* * IAP + k_{-8} \\
 &\quad - k_{+8} * IAP \\
 \frac{d(C8)}{dt} &= -k_{+2} * C8 * C3^* + k_{-9} - k_{+9} * C8 \\
 \frac{d(C3)}{dt} &= -k_{+1} * C8^* * C3 + k_{-10} - k_{+10} * C3 \\
 \frac{d(CARP)}{dt} &= -k_{+11} * C8^* * CARP + k_{-11} * C8^* \sim CARP + k_{-12} \\
 &\quad - k_{+12} * CARP \\
 \frac{d(C8^* \sim CARP)}{dt} &= k_{+11} * C8^* * CARP - k_{-11} * C8^* \sim CARP - k_{+13} * C8^* \sim CARP
 \end{aligned}$$

où $C8^*$, $C3^*$, $C3$, IAP , $C8$, $C3$, $CARP$, $C8^* \sim CARP$ représentent les concentrations des différentes protéines en nombre de molécules/cellule.²

2. Les deux dernières réactions ne correspondent pas à celles présentées dans l'article original. Il s'agit en réalité d'une erreur dans l'article et $C3^*$ doit être remplacée par $C8^*$ dans les deux dernières équations.

Ce modèle a été étudié par E. Bullinger [21]. Nous présentons certains résultats utiles pour notre analyse future. Le système possède 5 points d'équilibre dont 3 correspondent à des concentrations positives et sont donc acceptables. Les valeurs des concentrations correspondant à ces différents points d'équilibre sont présentés dans la table 2.2. Les valeurs propres correspondant à ces points d'équilibre ont également été calculées par E. Bullinger.

Afin de nous familiariser avec le modèle, nous l'avons implémenté et calculé les points d'équilibre et les valeurs propres du système. Nous obtenons les mêmes résultats que l'auteur pour les points d'équilibre. Cependant nous obtenons une modification par rapport aux valeurs propres associées au second point d'équilibre.³ Les valeurs propres ainsi que les composantes les plus importantes des vecteurs propres associés sont présentés dans les tables 2.3 (état de survie) et 2.4 (point de selle). Les valeurs propres associées à l'état de mort sont négatives mais ne sont pas présentées.

La stabilité des points d'équilibre dépend des valeurs propres du système en ces points. Le premier point d'équilibre est stable et correspond à l'état de survie. Le second point est un point de selle qui possède une valeur propre positive. Le troisième point est un point d'équilibre stable et correspond à un niveau élevé de caspases effectrices, nous appellerons cet état l'état de mort⁴.

variable	Pt Eq. 1	Pt Eq. 2	Pt Eq. 3
$C8^*$	0	0.49	74380.10
$C3^*$	0	0.39	5161.68
$C3^* \sim IAP$	0	34.24	2999.32
IAP	40000	39546.40	264.16
$C8$	130000	129869	9132.37
$C3$	21000	20847.5	18.97
$CARP$	40000	39491.7	20.54
$C8^* \sim CARP$	0	43.82	3446.51

TABLE 2.2 – Etats d'équilibre du système (en molécules/cellule). Les résultats ont été obtenus par E. Bullinger [21]

Le système a été simulé pour différentes impulsions de $C8^*$. Pour des impulsions faibles, le système est perturbé transitoirement puis retourne à l'état d'équilibre initial correspondant à la survie. L'état de survie est robuste vis à vis de faibles entrées de caspase $C8^*$. Lorsque l'impulsion d'entrée dépasse une certaine valeur seuil, la trajectoire du système converge vers l'état de mort. La transition entre les états est abrupte. Le modèle rend donc compte de l'activation rapide et abrupte des caspases effectrices. De plus, lors des

3. Après discussion avec l'auteur, il s'est avéré qu'il y avait une erreur dans l'article. Cette erreur est en fait une simple erreur de rédaction et ne change en rien les résultats obtenus par la suite.

4. Il peut être remarqué que l'activation efficace des caspases entraîne la dégradation de la cellule. Il est dès lors difficile de parler d'état stable pour ce point. Nous n'avons pas présenté les valeurs propres associées à l'état de mort car il n'est pas certain que le système atteigne réellement ce point.

Val. propre	exacte	approx.	Mode
1		-21.46	$\approx +C8^* - C3^* + C3^*-IAP - C8^*-CARP$
2		-18.97	$\approx -C8^* - C3^* + C3^*-IAP - C8^*-CARP$
3		-0.02699	$\approx + C3^*-IAP - C8^*-CARP$
4	$-k_{+8}$	- 0.0116	IAP
5	$- k_{+9}$	- 0.0039	C8
6	$- k_{+10}$	- 0.0039	C3
7	$-k_{+12}$	-0.001	CARP
8		-0.000115	$\approx + C3^*-IAP + C8^*-CARP$

TABLE 2.3 – Valeurs propres associées à l'état de survie et composantes principales des vecteurs propres associés. Les résultats ont été obtenus par E. Bullinger [21]

Val. propre	approx.	Mode
1	-21.22	\approx tous sauf C8 et C3
2	-18.74	\approx tous sauf C8 et C3
3	-0.0270	\approx IAP
4	-0.0117	IAP
5	-0.0039	C8
6	-0.0039	C3 + C8
7	-0.0011	\approx CARP
8	0.0001	\approx CARP + IAP

TABLE 2.4 – Valeurs propres associées au point de selle et composantes principales des vecteurs propres associés. Les résultats ont été recalculés.

simulations, le temps de transition entre états dépend du pulse d'entrée. Plus le pulse est important et plus la transition est rapide. Le modèle rend donc compte des propriétés dynamiques du processus d'apoptose.

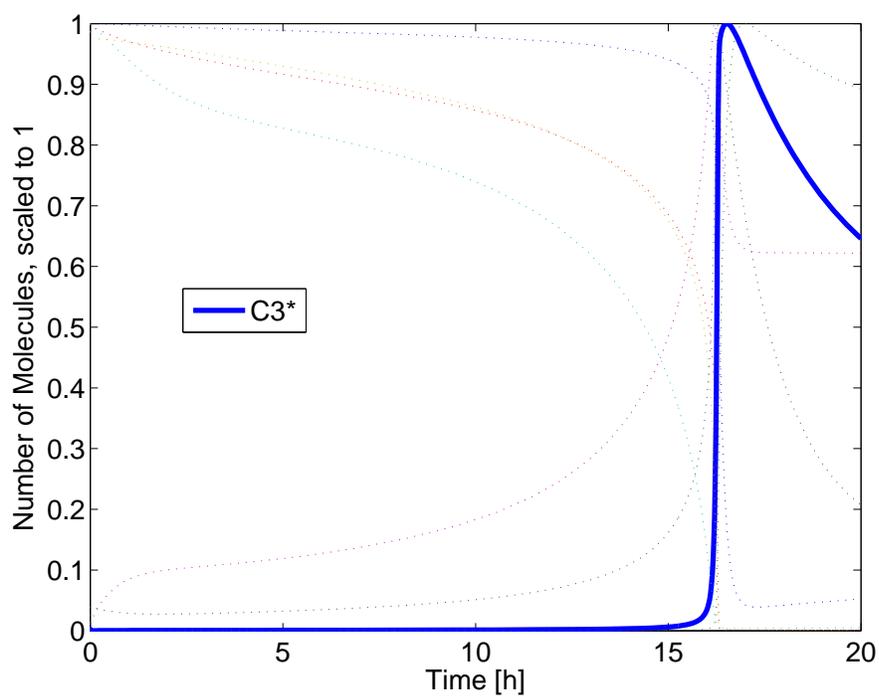


FIGURE 2.3 – Evolution temporelle de $C3^*$ pour une impulsion de $C8^*$ de 1000 molécules/cellule. La figure est tirée de [21]

Chapitre 3

Mesures de performance des systèmes bistables

Dans le premier chapitre, nous avons discuté des caractéristiques fondamentales des systèmes bistables en biologie. Nous allons maintenant tenter de définir des mesures de performance des systèmes bistables en biologie.

La performance d'un système est directement liée au comportement souhaité, à la fonction attendue du système.

Ainsi, dans la théorie du contrôle, la performance du système est souvent relatée à sa capacité à suivre un signal de référence. Spécifier un critère de performance demande dès lors, d'une part de préciser le type de signal de référence et d'autre part de quantifier la manière dont le signal de sortie s'éloigne de cette référence et donc du comportement souhaité. En général les systèmes de contrôle sont conçus pour réagir à différents types de signaux et la performance est donc évaluée vis à vis de divers signaux de références [22]. Ce type de mesures demande donc de concevoir le système comme un système entrée-sortie, où la performance caractérise la comportement de la sortie vis à vis d'un signal d'entrée.

Dans les systèmes biologiques, il est plus difficile de spécifier la performance. En effet, spécifier la performance du système c'est déjà émettre une hypothèse sur le comportement attendu du système et donc supposer à priori qu'il existe un « bon » comportement du système ou du moins un comportement spécifique. Or les systèmes biologiques sont des systèmes complexes interagissant entre eux et dont il n'est pas toujours facile d'identifier la fonction spécifique, en supposant qu'il existe bien une telle fonction. De plus, cette fonction n'est pas forcément unique et peut varier en fonction de différents facteurs externes.

Dans le cas des systèmes biologiques, la performance doit donc être définie en fonction du type de processus étudié et découler d'une étude des propriétés du processus biologique. Nous nous contentons ici d'étudier le cas particulier du phénomène de bistabilité dans les modèles de l'apoptose.

Dans un premier temps, nous allons tenter de spécifier la performance du mécanisme d'apoptose en se basant sur des considérations biologiques. Nous ferons ensuite un rappel d'une série de mesures de performance des systèmes linéaires SISO (Single Input -Single Output). En se basant sur une approche similaire aux systèmes SISO, nous définirons alors des mesures de performance pour le modèle de l'apoptose et verrons comment adapter ce type de mesures pour décrire la performance des systèmes bistables, en général.

3.1 Performance dans les modèles d'apoptose

La première question est de savoir comment caractériser la performance dans les modèles d'apoptose.

J. Stelling, en discutant de la robustesse des systèmes biologiques, notion couplée à la performance, assimile la performance à un comportement caractéristique [23].

« In engineering and biology, the characteristic behavior can be interpreted as a *desired system characteristics* or *performance* , thereby directly connecting robustness and functionality. » [23]

Selon J. Shoemaker et F. Doyle [24], les seules mesures de performance dans les modèles d'apoptose sont la réjection du bruit et la maintenance du comportement bistable.

« . . .in the case of apoptotic signalling, the only necessary performance metric after noise rejection is maintenance of the bistable behavior » [24]

Au vu de ce qui précède, il est possible de lier la performance en biologie à la capacité du système à présenter un comportement caractéristique. Il convient dès lors de définir ce comportement caractéristique. Les considérations des premiers chapitres ont permis de définir la bistabilité en biologie et de mettre en évidence certaines propriétés du processus d'apoptose. Nous pouvons donc nous baser sur ces résultats pour définir la performance. Dans le cas des systèmes bistables, comme l'apoptose, le comportement caractéristique est typiquement la présence des deux états stables¹ et la transition nette entre ces deux états. De plus, dans le cas particulier de l'apoptose, les principales spécifications du système sont la résistance de la cellule vis à vis de perturbations externes empêchant ainsi la cellule d'entrer en apoptose quand cela n'est pas nécessaire et la transition de la cellule vers la mort cellulaire quand le signal pro-apoptotique atteint un seuil suffisant [?]. Nous ajouterons aux spécifications de Shoemaker et al. qu'il faut également que la cellule entre en apoptose dans un délai de temps suffisamment court, ce délai étant d'autant plus court que la force du stimulus pro-apoptotique est grande.

Ces spécifications nous amènent à proposer trois mesures de la performance du processus d'apoptose :

- La présence de deux états du système : vie et mort
- La valeur seuil du signal pro-apoptotique entraînant une transition d'état

1. Remarquons que dans le cas de l'apoptose, la stabilité de l'état de mort peut être discutée.

- La durée de transition de l'état de survie vers l'état de mort cellulaire

La première mesure est simplement la condition selon laquelle le système présente le comportement caractéristique attendu, à savoir la possibilité du système de se trouver dans deux états distincts, la survie ou la mort².

La seconde mesure quantifie la façon dont l'état de survie résiste aux perturbations externes et permet de déterminer vers quel état le système va évoluer.

La troisième mesure est une mesure dynamique qui permet de caractériser la transition d'état.

Ces mesures peuvent servir à caractériser un système bistable en général³

3.2 Performance des systèmes linéaires « SISO » (Single Input Single Output)

Les systèmes linéaires SISO admettent une représentation entrée-sortie et peuvent être caractérisés par les équations :

$$\begin{cases} \dot{x} &= Ax + Bu \\ y &= Cx + Du \end{cases}$$

où $x \in \mathbb{R}^n$ représente l'état du système et $u, y \in \mathbb{R}$ sont l'entrée et la sortie du système [25]. La forme générale de la solution est donnée par :

$$y(t) = Ce^{At}x(0) + \int_0^t Ce^{A(t-\tau)}Bu(\tau)d\tau + Du(t)$$

La solution est constituée de deux parties découplées : la réponse aux conditions initiales et la réponse au signal d'entrée.

La performance du système peut alors être caractérisée en fonction de sa réponse à différents types d'entrées : pulse, échelon, entrée sinusoïdale. Par exemple, pour une entrée de type échelon, les mesures de performance sont basées sur les caractéristiques suivantes du signal de sortie :

- **Valeur stationnaire finale** : valeur finale de l'entrée en faisant l'hypothèse que la solution converge.
- **Temps de montée** : temps nécessaire pour que le signal passe de 10% de sa valeur finale à 90% de sa valeur finale.
- **Dépassement** : plus grande valeur du signal au dessus de la valeur finale calculée en pourcentage de la valeur finale.

2. Notons que cette mesure est plus en soi une mesure d'existence de la bistabilité, qu'une mesure de performance.

3. En réalité, il faut deux états d'équilibre stable et un point de selle pour la première mesure.

- **Temps d'établissement** : temps requis pour que le système atteigne et reste dans une gamme de valeurs autour de sa valeur finale à 5 % près. Ces différentes mesures sont tirées de [25].

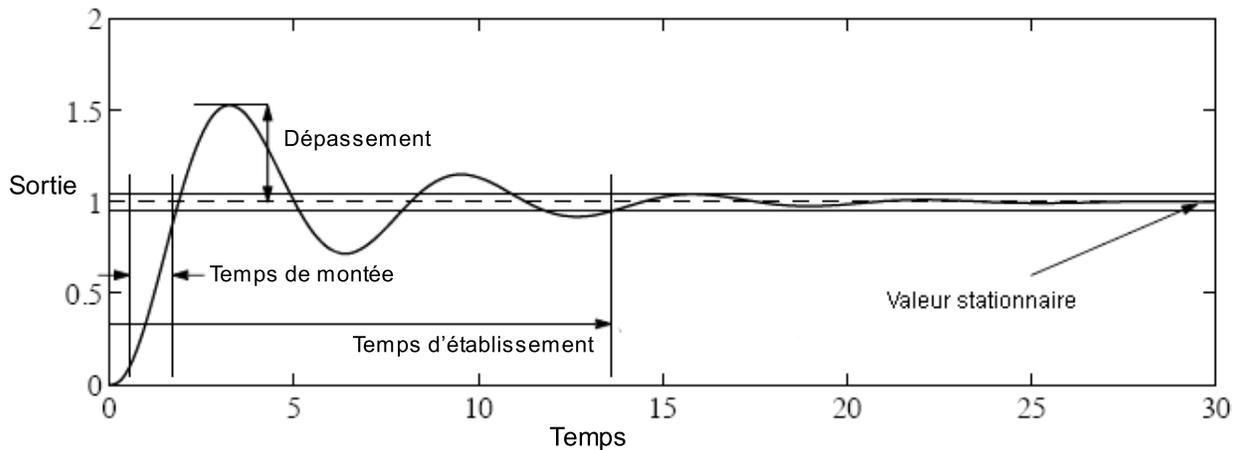


FIGURE 3.1 – Mesures de performance des systèmes linéaires SISO. La figure est tirée de [25].

3.3 Mesures de performance

Nous avons mis en évidence trois points sur lesquels baser nos mesures de performance des systèmes bistables (points d'équilibre, seuil et temps de transition). La définition de nos mesures va reposer sur une approche similaire à celle utilisée pour les systèmes linéaires SISO.

L'analogie avec les systèmes SISO demande de concevoir le système comme un système ouvert. Nous montrerons par la suite comment caractériser les systèmes biologiques non linéaires comme des systèmes entrée-sortie n se basant sur l'exemple du modèle de Griffith et un modèle de l'apoptose.

En supposant que le système admette une entrée et une sortie et par analogie aux systèmes linéaires SISO, nous allons caractériser la performance du système en considérant sa réponse à un signal d'entrée. Nous allons considérer la réponse du système à une entrée de type impulsion. L'impulsion représente une perturbation « ponctuelle » du système. Il serait également possible de considérer la réponse du système à une entrée de type échelon. Nous présenterons une brève analyse de ce type de réponse dans l'analyse de robustesse. L'étude de la réponse du système à une entrée impulsion nous apporte cependant suffisamment d'information pour étudier les propriétés de performance proposée précédemment.

Soit un système bistable de dimension n sur lequel agit l'entrée u :

$$\dot{\mathbf{x}} = \mathbf{f}(\mathbf{x}) + \mathbf{B}u$$

$$\mathbf{x} \in \mathbb{R}^n, \mathbf{B} \in \mathbb{R}^n, u \in \mathbb{R}$$

L'effet d'une impulsion est modélisé en posant $u = b * \delta(t)$ avec $\delta(t)$, l'impulsion de Dirac et où b détermine la force de l'impulsion. L'effet d'une impulsion est donc simplement de modifier la condition initiale du système. Dans le cas présenté ci-dessus, l'effet d'une impulsion pourra être modéliser en modifiant la valeur de $\mathbf{x}_0 = (x_{10}, x_{20})$.

Les systèmes bistables présentent deux points d'équilibre. Le système, lorsqu'il n'est pas soumis à une perturbation externe, se trouve donc dans un de ces états d'équilibre. Une perturbation de l'état du système entraînera une réponse transitoire du système puis le système retournera dans son état de départ ou évoluera vers l'autre état d'équilibre. Comme pour les systèmes linéaires présentant un état initial stable, le système présente une réponse transitoire puis une réponse stationnaire.

Mesure 1 : Points d'équilibre (ou valeurs stationnaires)

Définition Comme nous l'avons vu, un système bistable doit présenter deux points d'équilibre stable et un point de selle. L'impulsion ne modifie pas les équations du système mais uniquement la condition initiale du système. Les points d'équilibre ne dépendent donc pas de la valeur de l'impulsion. Par contre la valeur de l'impulsion détermine vers quel point d'équilibre l'état du système va converger. La valeur vers laquelle le système converge peut être comparée à la valeur stationnaire définie pour les systèmes linéaires SISO. La mesure consiste donc à calculer les points d'équilibre du système⁴. Cette mesure est une mesure statique.

Méthode de calcul Les points d'équilibre du système sont obtenus en résolvant le système analytiquement lorsque les équations sont simples où en faisant appel à des outils numériques lorsqu'il n'est pas possible de résoudre le système analytiquement.

Intérêt biologique Cette mesure permet de déterminer les concentrations d'équilibre.

Mesure 2 : seuil de transition

Définition La mesure consiste à déterminer la valeur de l'impulsion d'entrée nécessaire pour entraîner une transition d'état du système. Le système est initialement placé dans un de ses états d'équilibre, celui que nous dirons correspondre à l'état de repos. Il s'agit alors de déterminer la valeur d'impulsion nécessaire pour que le système passe dans l'autre état d'équilibre que nous appellerons l'état excité.

4. Cette mesure peut sembler triviale. Cependant, comme nous le verrons, les points d'équilibre du système sont parfois modifiés suite à des perturbations. Il est donc important de s'assurer que la bistabilité est préservée.

Méthode de calcul Afin de trouver l'impulsion qui entraîne la transition, nous avons implémenté un algorithme de bisection sous MATLAB. Cet algorithme consiste à simuler le modèle pour deux valeurs d'impulsions i_1, i_2 qui entraînent deux réponses stationnaires différentes correspondant aux deux états d'équilibre stable. Ces deux valeurs déterminent un intervalle $[i_1, i_2]$ dans lequel l'impulsion seuil doit se trouver. L'intervalle est alors réduit de moitié en conservant deux réponses stationnaires différentes. Le processus est répété de façon itérative jusqu'à obtenir la valeur de l'impulsion seuil i_s . La convergence de l'algorithme repose sur l'hypothèse que le système a convergé suffisamment près d'un point d'équilibre après le temps d'intégration.

Lien avec la théorie des systèmes dynamiques En dimension 2, nous pouvons remarquer que la valeur de l'impulsion seuil est déterminée par l'intersection de la variété stable du point de selle et de la droite $y = y_0$ où y est la sortie du système et y_0 la condition initiale sur la variable associée à y . En dimension deux cette variété peut être tracée en simulant le modèle en temps inverse en partant très près du point de selle. Cependant, lorsque le nombre de dimensions augmente il devient difficile de représenter la variété stable.

Intérêt biologique Cette mesure permet de quantifier la résistance de l'état de repos à un signal d'entrée, de quantifier la force du signal nécessaire pour entraîner une transition d'état.

Mesure 3 : temps de transition entre états

Définition La troisième mesure consiste à mesurer le temps de transition entre les deux états lorsque le système est soumis à une impulsion. Le temps de transition correspond au temps nécessaire pour que le système atteigne 90% de la valeur correspondant à l'état excité et reste au dessus de cette valeur. Cette mesure peut être comparée au temps d'établissement défini pour les systèmes linéaires SISO.

méthode de calcul La mesure est effectuée pour deux valeurs d'impulsion. La première valeur i_1 est une valeur légèrement supérieure à celle du seuil de transition i_s . Pour déterminer la valeur de i_1 , nous partons de la valeur i_s trouvée par bisection et nous l'arrondissons au troisième chiffre significatif.

La seconde impulsion correspond à une impulsion d'intensité égale à la valeur d'équilibre de la variable sur laquelle agit l'entrée x .

Le temps de transition est calculé en simulant le modèle pour ces deux valeurs d'impulsions.

Lien avec la théorie des systèmes dynamiques Le choix des valeurs d'impulsion se justifie par l'étude du plan de phase des systèmes de dimension 2. Lorsqu'une impulsion proche de la valeur de transition est appliquée en entrée, l'état du système est porté en

$t = 0$ près de la variété stable du point de selle. Or cette variété stable est attractive, la trajectoire aura donc tendance à suivre cette variété stable pendant un certain temps avant d'être repoussée vers un point d'équilibre stable grâce à la présence de la variété instable du point de selle. Plus l'impulsion déplace l'état initial du système proche du point de selle et plus la convergence est lente. Il faut donc s'attendre à ce que le temps de convergence soit lié à la distance entre l'état en $t=0$ du système et la variété stable du point de selle. La seconde impulsion est choisie comme valeur de comparaison. Les mesures pour ces deux impulsions donnent deux ordres de grandeur du temps de transition. La valeur associée à la première impulsion donne une idée des temps de transition longs, la deuxième des temps de transition courts.

Intérêt biologique Cette mesure permet de déterminer le temps qu'il faut pour que le système change d'état lorsqu'il est soumis à une perturbation externe. Dans le cas de l'apoptose par exemple, cette mesure permet de déterminer le temps que mettra la cellule pour entrer en apoptose en fonction de la valeur d'une impulsion de signal pro-apoptotique. Les deux mesures permettent d'avoir une idée des ordres de grandeur du temps de transition.

3.4 Application au modèle de Griffith

3.4.1 Représentation entrée-sortie du système

Soit le modèle de Griffith introduit au premier chapitre.

$$\begin{cases} \dot{x} &= -ax + y \\ \dot{y} &= \frac{x^2}{(1+x^2)} - by \end{cases}$$

où x est proportionnel à la concentration de protéine produite et y est proportionnel à la concentration d'ARN messenger à partir duquel la protéine est produite. Le modèle est un modèle sans dimensions.

Comme nous l'avons fait remarqué dans le premier chapitre, le système admet une représentation entrée-sortie. Nous pouvons considérer que la production d'ARN messenger est contrôlée par certains facteurs externes, via la régulation génétique par exemple. Nous pouvons dès lors imaginer qu'il existe une entrée au système qui agit sur la quantité de y présente dans la cellule. Nous pouvons décider de suivre les variations de protéines dans la cellule et ainsi définir la sortie du système comme la concentration x . Afin d'obtenir une représentation analogue à celle des systèmes linéaires SISO, remplaçons la variable x par x_1 , y par x_2 et appelons y la sortie du système. Le système peut alors être réécrit sous forme entrée-sortie

$$\begin{cases} \dot{x}_1 &= -ax_1 + x_2 \\ \dot{x}_2 &= \frac{x_1^2}{(1+x_1^2)} - bx_2 + u \\ y &= x_1 \end{cases}$$

où $u \in \mathfrak{R}$ représente l'entrée du système et y la sortie.

Dans la suite nous travaillerons dans le cas particulier $a = 2$ et $b = 0.2$ correspondant à un cas de bistabilité.

3.4.2 Mesure 1

Les points d'équilibre du système ont été calculés dans le chapitre 1.

$$\begin{aligned} x &= [0, 0] \\ x &= \left[\frac{1 + \sqrt{1 - 4 * a^2 * b^2}}{2 * a * b}, a * \frac{1 + \sqrt{1 - 4 * a^2 * b^2}}{2 * a * b} \right] \end{aligned}$$

Nous appellerons le premier point, état de repos et le deuxième état excité. Le système évolue vers ces deux états en fonction de l'impulsion appliquée.

Point de selle :

$$x = \left[\frac{1 - \sqrt{1 - 4 * a^2 * b^2}}{2 * a * b}, a * \frac{1 - \sqrt{1 - 4 * a^2 * b^2}}{2 * a * b} \right]$$

Pour $a=2$ et $b=0.2$:

Etat de repos	$x = [0, 0]$
Etat excité	$x = [2, 4]$
Point de selle	$x = [0.5, 1]$

3.4.3 Mesure 2

La valeur de i_s obtenue par bisection est approximativement égale à 1.14, soit 28,5 % de 4, la valeur de x_2 correspondant à l'état excité. Cela correspond bien à la valeur trouvée grâce à l'intersection de la variété stable du point de selle et de la droite d'équation $x_{10} = 0$ que nous avons représentés au chapitre 1.

3.4.4 Mesure 3

Temps de transition pour $i_1 = 1.14$ Nous obtenons :

$$T_t(1) \approx 70.1^5$$

Temps de transition pour $i_2 = 4$

$$T_t(1) \approx 1.8$$

La figure 3.2 illustre les temps de montée pour ces deux impulsions. Les courbes ont été normalisées de manière à ce que la sortie corresponde à y/y_m où y_m est la valeur stationnaire de la sortie associée à l'état excité.

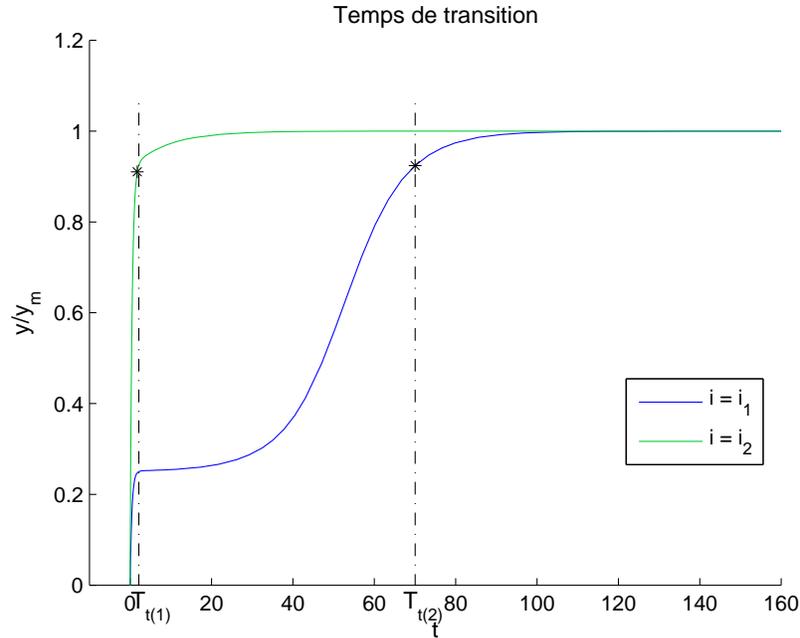


FIGURE 3.2 – Temps de transition. La courbe bleue est obtenue pour l'impulsion i_1 , c'est à dire une impulsion légèrement supérieure à l'impulsion seuil ($i_1 = 1.14$). La courbe verte est obtenue pour l'impulsion i_2 dont l'intensité correspond à la valeur d'équilibre de x_2 dans l'état excité ($i_2 = 4$).

Valeurs propres associées au point de selle :

$$[\lambda_1, \lambda_2] = [-2.3042, 0.1042]$$

Remarquons la différence d'ordre de grandeur entre ces deux valeurs propres.

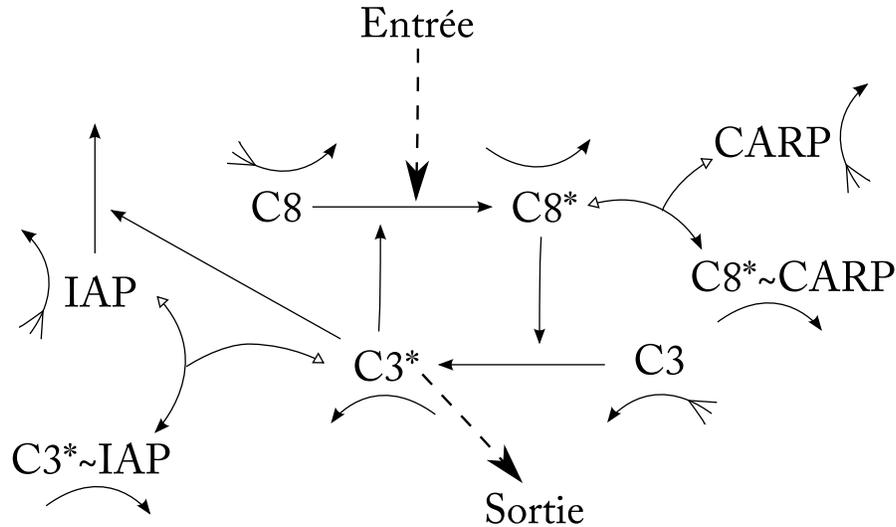


FIGURE 3.3 – Modèle de l’apoptose proposé par T. Eissing et al. L’image est inspirée de [1]. L’entrée agit sur la quantité de caspase 8 qui est activée ($C8 \rightarrow C8^*$). La sortie mesurée est la concentration de caspase 3 activée ($C3^*$).

3.5 Application au modèle de l’apoptose

3.5.1 Représentation entrée-sortie du système

La première étape est de caractériser le système comme un système entrée-sortie. E. Bullinger propose de considérer que l’entrée du système agit directement sur $C8^*$. Il semble en effet réaliste d’estimer que l’entrée agit sur la caspase $C8^*$ dans la mesure où celle-ci est une caspase initiatrice. Cependant, dans la modélisation proposée par E. Bullinger, l’entrée n’agit pas sur la quantité de caspase non activée $C8$. Dans notre modélisation, nous allons considérer que l’entrée agit non pas sur la quantité de $C8^*$ mais sur la quantité de $C8$ transformée en $C8^*$. L’entrée a donc pour effet d’entraîner la transition d’un certain nombre de caspases de l’état inactivé vers l’état activé. La sortie du système correspond à la concentration de $C3$ activée ($C3^*$). Cette caractérisation entrée-sortie semble avoir un sens biologiquement dans la mesure où comme nous l’avons vu, un signal pro-apoptotique augmente la concentration de caspases initiatrices activées et où une activité importante des caspases effectrices entraîne l’état de mort de la cellule. Suivre les caspases effectrices en sortie semble un bon indicateur de l’état d’apoptose de la cellule et donc une bonne sortie pour le système. La figure 3.3 montre notre représentation entrée-sortie du système.

5. Le modèle de Griffith est un modèle adimensionnalisé. Le temps ne présente donc pas de dimension. Le modèle de Griffith est utilisé comme un outil pour illustrer nos mesures en dimension 2.

variable	Pt Eq. 1	Pt Eq. 2	Pt Eq. 3
$C8^*$	0	0.49	74380.10
$C3^*$	0	0.39	5161.68
$C3^* \sim IAP$	0	34.24	2999.32
IAP	40000	39546.40	264.16
$C8$	130000	129869	9132.37
$C3$	21000	20847.5	18.97
$CARP$	40000	39491.7	20.54
$C8^* \sim CARP$	0	43.82	3446.51

TABLE 3.1 – Etats d'équilibre du système (en molécules/cellule)

En posant

$$\begin{aligned}
 \mathbf{x} &= [x_1 \ x_2 \ x_3 \ x_4 \ x_5 \ x_6 \ x_7 \ x_8]^T \\
 &= [C8^* \ C3^* \ C3^* \sim IAP \ IAP \ C8 \ C3 \ CARP \ C8^* \sim CARP]^T \\
 y &= x_2 \\
 &= C3^*
 \end{aligned}$$

et en considérant que l'entrée agit seulement sur la quantité de $C8$ passant dans l'état activé $C8^*$, nous pouvons écrire le système sous forme entrée sortie.

$$\begin{cases} \dot{\mathbf{x}} = f(\mathbf{x}) + Bu \\ y = x_2 \end{cases}$$

avec $\mathbf{x} \in \mathbb{R}^8, u \in \mathbb{R}$ et $B = [1 \ 0 \ 0 \ 0 \ -1 \ 0 \ 0 \ 0]^T$.

3.5.2 Mesure 1

La modification de l'entrée du système par rapport au modèle de base ne modifie pas les points d'équilibre lorsque l'entrée est une impulsion. En effet, l'impulsion ne modifie que la condition initiale du système et n'influence pas les équations du système. Le système possède donc 5 points d'équilibre dont trois correspondent à des valeurs de concentrations positives. La stabilité des points d'équilibre est inchangée. Les valeurs des concentrations d'équilibre sont présentées dans la table 3.1 pour rappel.⁶

3.5.3 Mesure 2

L'algorithme de bisection utilisé précédemment repose sur l'hypothèse que le système a convergé suffisamment proche d'un point d'équilibre après intégration. Or ici, les temps d'intégrations sont longs et d'autant plus longs que le système se trouve proche du point

6. Ces points d'équilibre ont été recalculés et correspondent aux valeurs trouvées par E. Bullinger.

de selle après l'impulsion. C'est pourquoi nous avons modifiés l'algorithme de bisection. Nous procédons comme suit, nous considérons deux impulsions qui mènent à deux réponses stationnaires différentes i_1 et i_2 et déterminent l'intervalle $[i_1, i_2]$. Nous divisons ensuite l'intervalle en deux et considérons $i_{mid} = \frac{i_1 + i_2}{2}$. Nous simulons ensuite le modèle pour une impulsion i_{mid} . Nous regardons après simulation si la valeur de $C3^*$ est très proche de 0 (valeur de $C3^*$ dans l'état de repos) ou plus grande que 100 (valeur que nous associons à l'état excité). Si c'est le cas, nous procédons par bisection comme précédemment. Si ce n'est pas le cas, nous considérons que le système est proche du point de selle et comparons alors la valeur de $C3^*$ obtenue après intégration à celle associée au point de selle. Si la valeur est supérieure à celle du point de selle, nous considérons que i_{mid} est supérieure à i_s et la borne supérieure de l'intervalle $[i_1, i_2]$ devient i_{mid} dans le cas contraire la borne inférieure devient i_{mid} . Cette méthode se base d'une part sur le fait qu'une concentration de $C3^*$ supérieure à 100 implique l'évolution du système vers l'état de mort et d'autre part sur le fait que lorsque la concentration de caspase est inférieure à 100, le système est proche du point de selle et y reste suffisamment longtemps. De plus l'analyse des trajectoires montre que près du point de selle une concentration de $C3^*$ légèrement supérieure à celle associée au point de selle entraîne le système vers l'état de mort tandis que pour une concentration légèrement inférieure, la cellule reste en vie.

La valeur de l'impulsion seuil correspond à ≈ 75 (74,608) molécules/cell.

3.5.4 Mesure 3

Temps de transition pour $i_1 = 74.7$ mol/cellule. Cette impulsion ne correspond pas à un nombre entier de molécules. Nous avons pourtant choisi cette valeur d'impulsion pour rester cohérent avec notre définition de la mesure et pour rester suffisamment proche du point de selle.

$$T_t(1) \approx 6.096 \cdot 10^4 \text{ minutes} \approx 1016 \text{ heures} \approx 42 \text{ jours}$$

Nous obtenons des résultats similaires à ceux trouvés par E. Bullinger⁷ [21]. E. Bullinger explique dans son analyse que le modèle n'est plus valide pour une période de temps si longue. En effet, la régulation génétique par exemple peut à cette échelle entrer en jeu et modifier les concentrations cellulaires. Nous pouvons donc supposer que soit la cellule évolue vers la mort cellulaire dans un délai de 2 jours soit l'apoptose n'a pas lieu.

La deuxième impulsion est une impulsion de 74380 molécules par cellule. Nous obtenons :

$$T_t(2) = 7.5317 \text{ minutes}$$

Cette analyse nous montre qu'il est essentiel de tenir compte de la dynamique du système. En effet, il ne suffit pas que l'impulsion dépasse l'impulsion seuil pour obtenir l'apoptose. Il faut que la valeur d'impulsion soit suffisante pour que la transition soit suffisamment rapide. Nous pouvons calculer la valeur du seuil nécessaire pour avoir une transition dans les deux jours, cette valeur est donc de ≈ 345 molécules/cellule. Ce résultat

7. E. Bullinger trouve une valeur de 45 jours

est également similaire à celui trouvé par E. Bullinger⁸.

Valeurs propres au point de selle : Le point de selle présente 7 valeurs propres négatives et une valeur propre positive.

Soit λ_1 , la valeur propre négative de plus grande valeur absolue et λ_2 , la valeur propre associées au point de selle, nous avons :

$$[\lambda_1, \lambda_2] = [-21.21, 0.0001]$$

L'ordre de grandeur de la valeur propre négative et celui de la valeur propre positive sont donc très différents. La valeur propre positive associée au point de selle est en réalité plus petite que toutes les valeurs propres négatives du point de selle. Pour les deux modèles bistables étudiés, les valeurs propres positives présentent donc des ordres de grandeur plus petits que ceux associés aux valeurs propres négatives⁹.

Remarquons que nos résultats sont similaires à ceux obtenus par E. Bullinger. La modification de l'entrée n'influence donc que faiblement les mesures de performance.

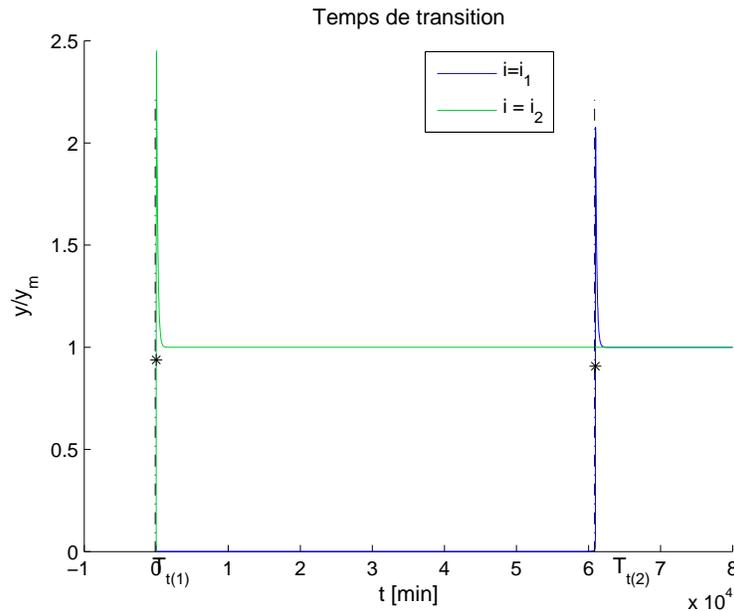


FIGURE 3.4 – Temps de transition. La courbe bleue est obtenue pour l'impulsion i_1 , c'est à dire une impulsion légèrement supérieure à l'impulsion seuil ($i_1 = 74.7$). La courbe verte est obtenue pour l'impulsion i_2 dont l'intensité correspond à la valeur d'équilibre de x_2 dans l'état excité ($i_2 = 4$).

8. E. Bullinger trouve 343 molécules/cellules

9. Il existe probablement un lien entre temps de transition et valeurs propres au point de selle. Nous reviendrons sur ce point dans la suite

Chapitre 4

Robustesse

La robustesse en biologie a été discutée par J. Stelling et al. [23].

« In general, robustness means the persistence of system's characteristic behavior under perturbations or conditions of uncertainty. [23] »

De manière générale, la robustesse d'un système est liée à sa capacité à suivre un comportement caractéristique lorsqu'il est soumis à des perturbations ou des incertitudes. J. Stelling et al insistent cependant sur la complexité même de la notion de robustesse.

« We argue the assessment of robustness requires the one be precise about the behavior that is robust and on the nature of uncertainty ; robustness properties can, drastically change by altered specifications [23]. »

La performance et la robustesse sont intimement liées. Spécifier la robustesse demande de préciser le comportement caractéristique du système ou encore sa performance. De plus la robustesse doit être étudiée vis à vis d'un type de perturbation spécifique. Définir une mesure de robustesse demande donc de spécifier d'une part, les caractéristiques du système à tester et d'autre part le type d'incertitude. Nous allons considérer que les caractéristiques à tester sont les mesures de performance définies précédemment. Le type d'incertitude peut être de différentes natures.

« Cells face uncertainties in the form of externally induced perturbations owing to variable environments (modified inputs) and of internal perturbations such as mutations that affect or entirely removed components and interactions (changed system parameters)...Another source of uncertainties are stochastic fluctuations resulting from the random character of biochemical reactions and low copy numbers of chemical species involved. »

Il existe donc trois types de perturbations à prendre en compte :

- modifications de l'entrée du système
- modifications paramétriques
- Fluctuations stochastiques

Nous allons étudier la robustesse des mesures de performance à ces perturbations. Notre analyse étudie principalement l'effet de modifications paramétriques ou de l'entrée du système.

4.1 Robustesse paramétrique

La robustesse peut être évaluée vis à vis d'une perturbation de paramètres.

4.1.1 Définition des mesures

Robustesse des points d'équilibre

La première mesure consiste à tester l'effet de perturbations sur les états d'équilibre du système, ainsi que sur la capacité du système à conserver son comportement de bistabilité. La robustesse des états d'équilibre est étudiée via une analyse de sensibilité. Ce type d'analyse a été utilisée pour étudier différents systèmes biologiques [26].

Analyse locale de sensibilité

L'analyse locale de sensibilité permet de visualiser l'effet d'une faible variation d'un paramètre du modèle sur les concentrations d'équilibre. Cette analyse est locale dans la mesure où elle ne reste valide que si les valeurs des paramètres restent proches de leur valeur initiale et que l'état du système reste ainsi proche d'un état d'équilibre. Elle permet d'obtenir un premier aperçu de la robustesse des différents points d'équilibre. Plus le point d'équilibre est insensible à un grand nombre de paramètres et plus il peut être considéré comme robuste vis à vis d'une variation de paramètres. De même, plus la sensibilité à un paramètre est faible et plus le point d'équilibre peut être considéré comme robuste vis à vis d'une variation de ce paramètre.

Cette analyse met également en évidence les réactions jouant un rôle important aux différents points d'équilibre. En effet, si un point d'équilibre est fort sensible à un des paramètres, c'est que la réaction gouvernée par ce paramètre peut influencer ce point d'équilibre et joue donc un rôle à ce niveau.

Les rappels théoriques qui suivent sont tirés [26].

Soit un système décrit par un ensemble d'équations différentielles :

$$\frac{ds(t)}{dt} = \mathbf{f}(s(t), p)$$

avec $\mathbf{s} \in \mathbb{R}^n$, l'état du système, p un paramètre du modèle. A l'équilibre :

$$0 = \mathbf{f}(s(p), p)$$

En différenciant par rapport à p :

$$\mathbf{0} = \frac{\partial \mathbf{f}}{\partial \mathbf{s}} \frac{ds}{dp} + \frac{\partial \mathbf{f}}{\partial p}$$

Ce qui permet d'obtenir la **sensibilité absolue** :

$$\frac{ds}{dp} = -\left[\frac{\partial \mathbf{f}}{\partial \mathbf{s}}\right]^{-1} \frac{\partial \mathbf{f}}{\partial p}$$

Afin de comparer les sensibilités à différents paramètres, celles-ci peuvent être normalisées.

$$\frac{ds^{ss}/s^{ss}}{dp/p} = \frac{p}{s^{ss}} \frac{ds^{ss}}{dp}$$

où s^{ss} est une concentration d'équilibre du système.

L'analyse locale de sensibilité est facilement implémentable. Il suffit de calculer la matrice jacobienne $\frac{\partial \mathbf{f}}{\partial \mathbf{s}}$ ainsi que la matrice $\frac{\partial \mathbf{f}}{\partial p}$. La sensibilité s'obtient alors par simple calcul matriciel.

Analyse globale de sensibilité

Bien que l'analyse locale de sensibilité permette de donner une première estimation de la robustesse des états d'équilibre vis à vis d'une perturbation, cette analyse reste locale et n'est donc plus valide lorsque la variation de paramètre devient trop importante. Il est alors utile de faire une analyse globale de sensibilité. Une méthode d'analyse globale de sensibilité repose sur l'étude de diagrammes de bifurcation. Ces diagrammes représentent l'évolution des points d'équilibre en fonction de la variation d'un paramètre, les autres paramètres étant fixés à leur valeur initiale. Cette analyse permet de déterminer les bornes de variations des paramètres pour lesquelles le système conserve la propriété de bistabilité mais ne permet cependant pas d'évaluer la sensibilité à plusieurs paramètres en même temps. Une technique similaire a été utilisée par L. Ma et P. A. Iglesias pour quantifier la robustesse de systèmes biologiques présentant un cycle limite stable [27].

La mesure consiste donc à évaluer les valeurs p_{\min} et p_{\max} , c'est à dire les bornes délimitant, pour un paramètre, l'intervalle à l'intérieur duquel le système conserve sa bistabilité. Les paramètres doivent rester positifs ou nuls. Il est alors possible de calculer un degré de robustesse pour chaque paramètre. La mesure proposée est inspirée de la mesure de L. Ma et P. A. Iglesias utilisée pour quantifier la robustesse des systèmes biochimiques présentant des oscillations [27]. Le degré de robustesse (DOR, « degree of robustness ») associé au paramètre i , p_i , est donné par :

$$\text{DOR}_i = 1 - \max \left\{ \frac{p_{\min}}{p_i}, \frac{p_i}{p_{\max}} \right\}$$

La valeur d'un degré est comprise entre 0 et 1. Un degré proche de 0 signifie une grande sensibilité du système à une variation du paramètre tandis qu'un degré proche de 1 montre que le système est robuste à la variation paramétrique.

Robustesse du seuil de transition

La seconde mesure consiste à évaluer la robustesse du seuil de transition. Pour ce faire, nous effectuons deux mesures. La première mesure consiste à déterminer le seuil de transition pour une modification de $\pm 1\%$ d'un paramètre du modèle et à calculer la variation relative de seuil, c'est à dire :

$$\text{Var. rel.} = \frac{i'_s - i_s}{i_s}$$

où i_s est l'impulsion seuil pour le modèle de base et i'_s est le seuil obtenu pour le modèle ayant subi une perturbation d'un pourcent d'un de ses paramètres. Nous divisons ensuite cette variation relative par la variation relative de paramètre, $\frac{\text{Var. rel.}}{0.01}$.

Cette mesure permet d'évaluer l'effet d'une petite perturbation sur le seuil de transition. Elle permet également de quantifier localement l'importance des différents paramètres dans la détermination du seuil de transition.

La seconde mesure consiste dans un premier temps à évaluer le seuil de transition pour les perturbations suivantes : chaque paramètre p , est modifié selon :

$$\begin{aligned} p_{inf} &= p - \frac{\Delta_{max}(\text{inf.})}{2} \\ p_{sup} &= p + \frac{\Delta_{max}(\text{sup.})}{2} \end{aligned}$$

avec

$$\begin{aligned} \Delta_{max}(\text{inf.}) &= p - p_{\min} \\ \Delta_{max}(\text{sup.}) &= p_{\max} - p \end{aligned}$$

où p_{\min} et p_{\max} sont les bornes de bistabilité déterminée grâce à l'analyse des points d'équilibre. Pour chaque paramètre, cette perturbation correspond à 50 % de la variation maximale du paramètre.

Le seuil de transition (i'_s) est alors calculé pour p_{inf} et p_{sup} . La sensibilité relative est calculée pour chaque paramètre selon :

$$\text{Sensib. rel.} = \frac{\frac{\Delta i_s}{i_s}}{\frac{\Delta p}{p}}$$

avec

$$\begin{aligned} \Delta i_s &= i'_s - i_s \\ \Delta p &= \text{abs} (p - p') \end{aligned}$$

où i'_s est le nouveau seuil de transition et $\text{abs} (p - p')$ est la valeur absolue de la différence entre la valeur du paramètre p et $p' \in \{p_{inf}, p_{sup}\}$.

Le degré de robustesse du seuil pour le paramètre i , ($\text{DOR}_{\text{seuil } i}$) est défini comme :

$$\text{DOR}_{\text{seuil } i} = \text{abs} \left(\min. \left\{ \frac{1}{\text{Sensib. rel.}(\text{inf.})_i}, \frac{1}{\text{Sensib. rel.}(\text{sup.})_i} \right\} \right)$$

où Sensib. rel. (inf.) est la sensibilité relative calculée pour p_{inf} et Sensib. rel. (sup.), la sensibilité relative calculée pour p_{sup} . Ce degré varie entre 0 et $+\infty$ ¹. Plus le Δi_s est grand pour un Δp faible et plus le degré est proche de 0. Un système dont l'impulsion seuil présente une forte sensibilité en un paramètre a donc un degré de robustesse faible. Au contraire, si le Δi_s est faible pour un grand Δp le degré tend vers des hautes valeurs et le seuil de transition est considéré comme robuste.

Robustesse du temps de transition

Afin de tester la robustesse du temps de transition, nous avons calculé la variation relative du temps de transition pour les valeurs de p_{inf} et p_{max} définies précédemment²

4.1.2 Application au modèle de Griffith

Robustesse des points d'équilibre

Analyse locale

La figure 4.1 illustre la sensibilité de la variable sur laquelle agit l'entrée x_2 et sur la variable de sortie x_1 , à une variation de paramètre. La sensibilité est étudiée vis à vis d'une perturbation des paramètres a et b.

L'état correspondant à des concentrations de x_1 et x_2 nulles, c'est à dire l'état de repos est insensible à une variation paramétrique. Cet état correspond à un état où il n'y a pas de réactifs et où aucune réaction n'a donc lieu. Or, les paramètres a et b contrôlent les vitesses de dégradation des deux constituants du système. Comme la concentration de ceux-ci est nulle, la variation paramétrique n'a pas d'effet. Le point de selle est sensible aux deux paramètres. L'effet de la variation paramétrique a pour effet de déplacer le point de selle vers des concentrations plus élevées en x_1 et x_2 . Le point correspondant à l'état excité est également perturbé par une variation de paramètres. Augmenter les vitesses de dégradation de x_1 ou x_2 déplace le point d'équilibre vers des concentrations d'équilibre de x_1 plus faibles dans l'état excité, ce qui semble à priori logique. La simulation des trajectoires pour une variation de 5 % des paramètres a et b montre en effet, un déplacement du point d'équilibre vers des concentrations plus faibles (voir figure 4.2). La simulation montre également que la sensibilité de la sortie du système (variable x_1) aux paramètres a et b dans l'état excité est la même.

Analyse globale

1. Le degré n'est pas défini pour $(\Delta p, \Delta S) = (0, 0)$. Remarquons que ce cas correspond au cas trivial où le système ne subit aucune variation paramétrique et il n'est donc pas nécessaire d'en tenir compte.

2. D'autres mesures du temps de transition pourraient être envisagées. Nous pourrions, par exemple, fixer une impulsion et estimer la variation du temps de transition pour cette impulsion. Il faut cependant remarquer qu'une impulsion entraînant une transition d'état dans le modèle de base, n'entraînera pas forcément la transition dans le modèle perturbé.

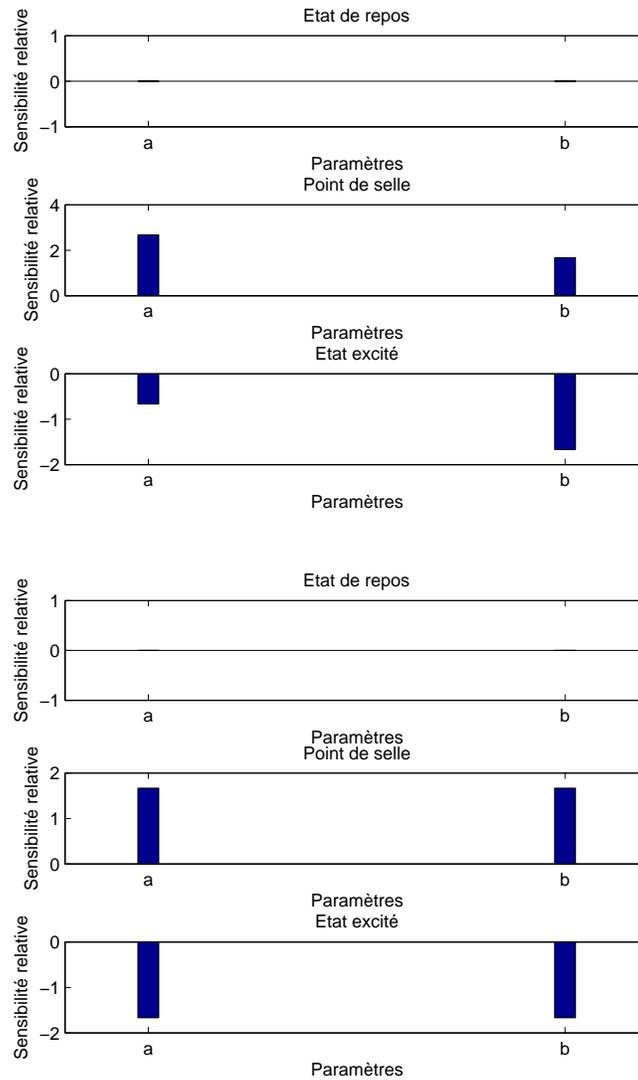


FIGURE 4.1 – Sensibilité relative de l’entrée du système (graphe du dessus) et de la sortie du système (graphe du dessous) à une variation paramétrique pour le modèle de Griffith.

Les diagrammes de bifurcation ont été tracés pour une variation des paramètres a et b (voir figure 4.3). Ces diagrammes permettent de déterminer les bornes de variations des paramètres pour lesquelles le système reste bistable (voir table 4.1). L’expression > 0 dans la table signifie que le modèle est bistable pour toute valeur proche de 0 et plus grande que 0, les cas limites $a = 0$ et $b = 0$ étant exclus. Pour ces cas limites, le système possède un seul point d’équilibre stable. Il est alors possible de calculer les degrés de robustesse pour les deux paramètres. Les résultats sont présentés sur la figure 4.4. Les degrés sont égaux à 0.2 pour les deux paramètres, ce qui montre que le système présente une certaine sensibilité paramétrique puisque les degrés sont assez éloignés de 1. Le système présente une robustesse équivalente aux deux paramètres.

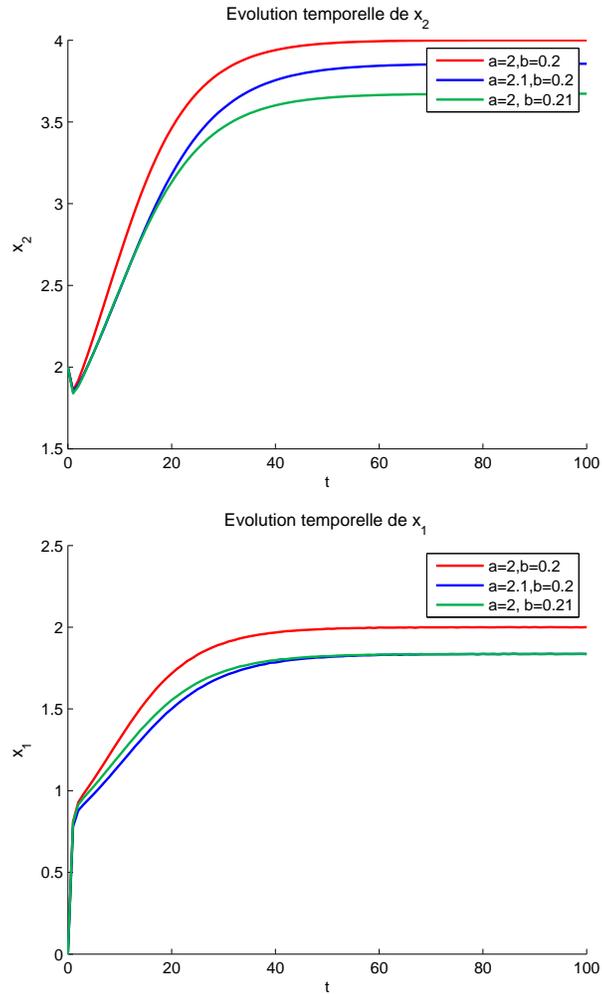


FIGURE 4.2 – Modification de la trajectoire de la sortie du système à une variation de paramètre. La première figure représente l'évolution de la variable x_2 (entrée) et la seconde figure l'évolution de la variable x_1 (sortie). Les courbes rouges sont obtenues en simulant le modèle pour $(x_{10}, x_{20}) = (0, 2)$, $a = 2, b = 0.2$. Les courbes vertes représentent une modification paramétrique de 5% du paramètre b et les courbes bleues, une modification de 5% du paramètre a .

Paramètres	valeur	valeur min.	valeur max.
a	2	> 0	2.5
b	0.2	> 0	0.25

TABLE 4.1 – Bornes de variation des paramètres du modèle de Griffith.

Robustesse du seuil de transition

Les figures 4.5 et 4.6 illustrent la sensibilité du seuil de transition. Le premier graphe illustre la sensibilité du seuil à une variation d'1 % des paramètres. La seconde illustre la sensibilité du seuil à une variation de paramètres correspondant à 50% de la variation

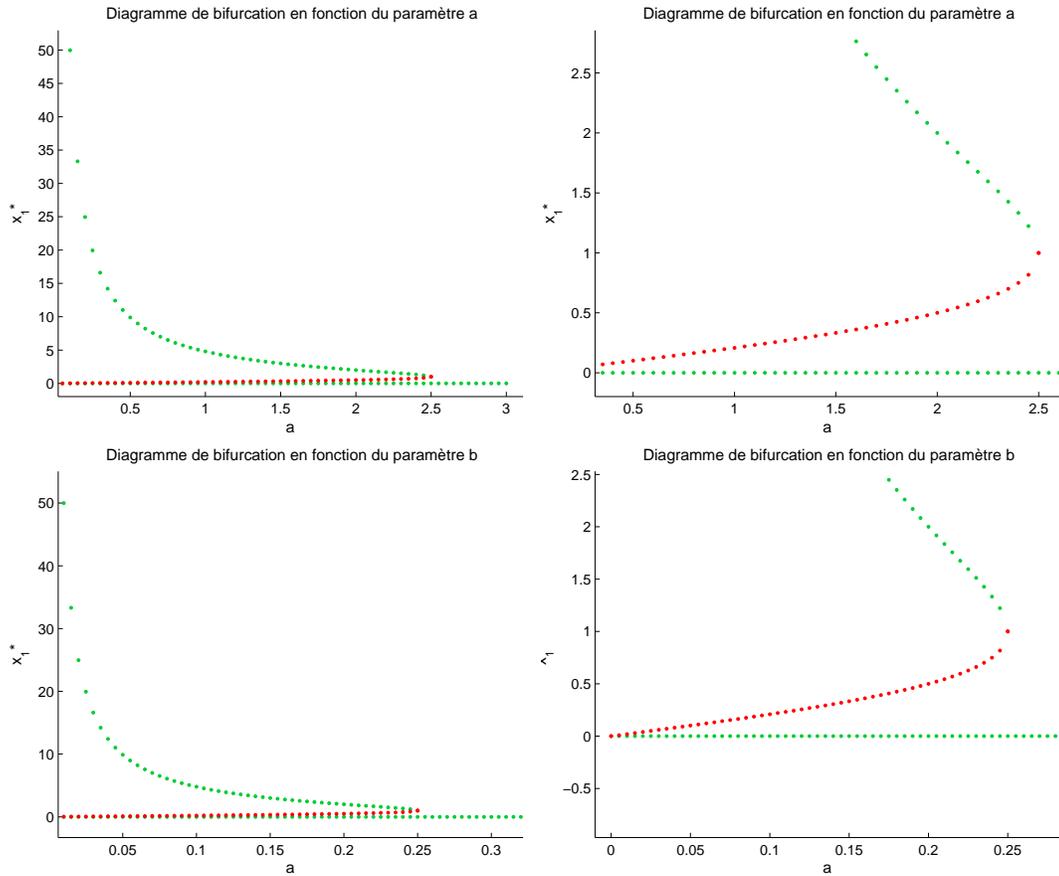


FIGURE 4.3 – Diagrammes de bifurcation du modèle de Griffith. La première colonne illustre les diagrammes en fonction des paramètres a et b . La seconde colonne est un zoom sur les zones de bifurcation correspondantes.

maximale associée à chaque paramètre. Les résultats montrent que le seuil est plus sensible à une variation du paramètre a . Il est intéressant de noter que le graphe de sensibilité du seuil à une variation d'1% correspond au graphe de la sensibilité de la variable d'entrée au point de selle. La figure 4.7 illustre les degrés de robustesse du seuil.

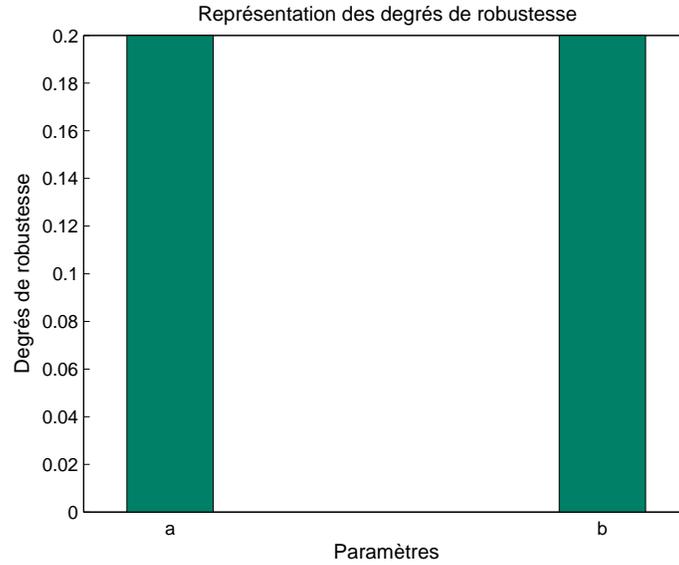


FIGURE 4.4 – Représentation des degrés de robustesse. Les degrés sont compris entre 0 et 1. Un degré proche de 1 signifie une insensibilité du système à la variation paramétrique tandis qu’un degré proche de 0 signifie une grande sensibilité.

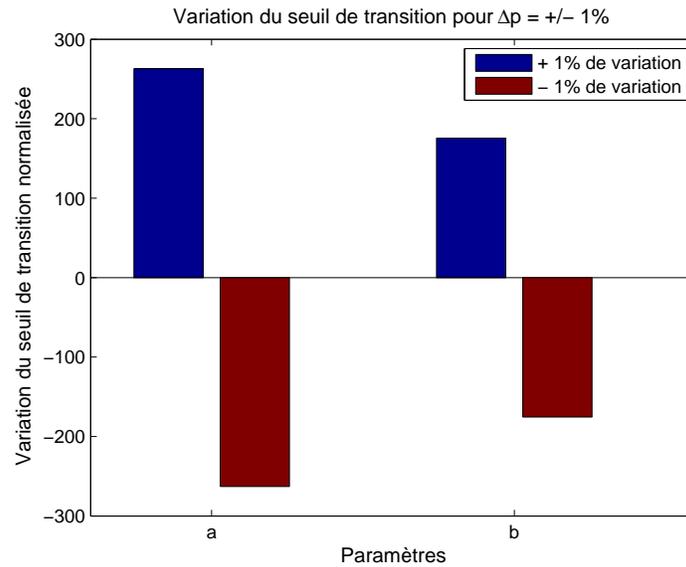


FIGURE 4.5 – Sensibilité du seuil de transition du modèle de Griffith pour une variation d’1 pourcent des paramètres. Les bâtonnets bleus sont associés à une variation positive de paramètres, les rouges à une variation négative.

Robustesse du temps de transition

La figure 4.8 illustre la sensibilité du temps de transition pour une variation des paramètres correspondant à p_{inf} et p_{sup} . Pour chaque paramètre, le temps de transition a

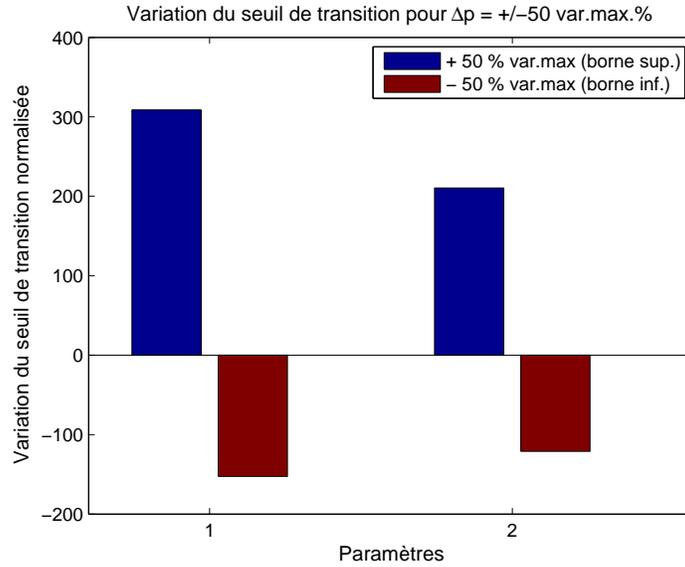


FIGURE 4.6 – Sensibilité du seuil de transition à une variation paramétrique pour le modèle de Griffith. Les bâtonnets bleus représentent la variation relative du seuil pour $p = p_{sup}$ tandis que les rouges la variation pour $p = p_{inf}$

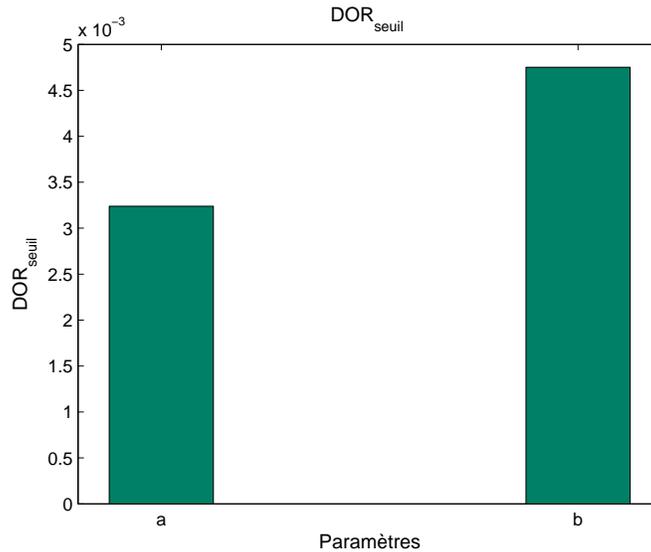


FIGURE 4.7 – Degrés de robustesse du seuil de transition pour le modèle de Griffith.

été calculé pour l'impulsion seuil calculée suite à la modification paramétrique (voir point précédent). Le temps de transition semble peu sensible aux variations paramétriques par rapport à la sensibilité du seuil de transition. Nous avons également calculés les valeurs propres positives associés aux points de selle pour les modèles soumis aux différentes variations paramétriques (résultats non présentés). Il semblerait que la valeur propre positive associée au point de selle soit inversement proportionnelle au temps de transition. Cette

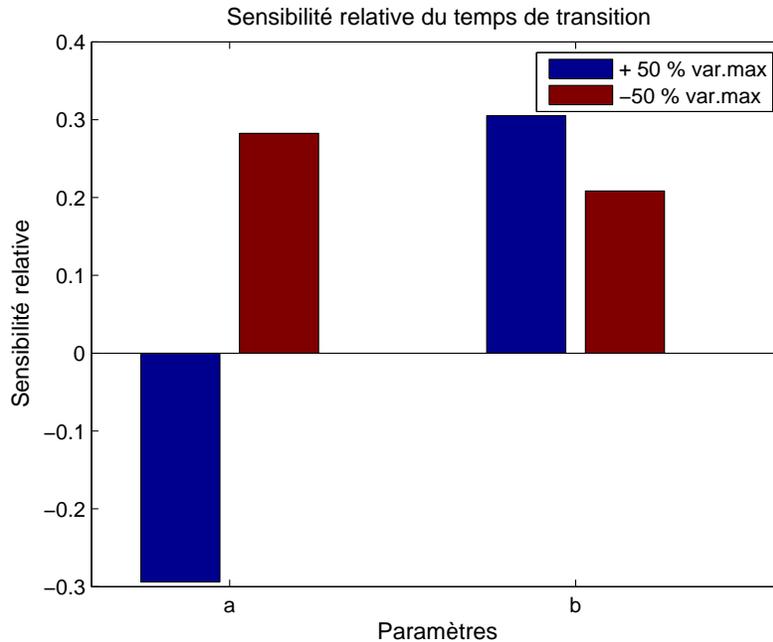


FIGURE 4.8 – Sensibilité du temps de transition pour le modèle de Griffith. Les bâtonnets bleus représente la sensibilité relative du seuil à une variation positive de paramètre, les rouges à une variation négative.

valeur propre jouerait le rôle de constante de temps dans la transition. Il faudrait cependant mener d'autres investigations pour pouvoir conclure à cette relation.

4.1.3 Application au modèle d'apoptose

Robustesse des points d'équilibre

Analyse locale

La figure 4.9 illustre la sensibilité de la variable de sortie ($C3^*$) aux différents points d'équilibre vis à vis d'une variation paramétrique.

L'état de survie est insensible à une variation de paramètres. Ce résultat est intuitif. En effet, dans l'état de survie, les concentrations de $C8^*$ et $C3^*$ sont nulles. La boucle de feed-back n'est pas activée et les inhibiteurs ne peuvent pas se lier. $C3$ et $C8$ ainsi que les inhibiteurs ne subissent pas de réaction. Or l'effet d'une variation paramétrique est de modifier une des vitesses de réaction : comme les différents constituants ne subissent pas de réaction, la variation de paramètre n'a pas d'effet.

Le point de selle est sensible à tous les paramètres, mais les sensibilités aux paramètres k_{+4} , k_{+5} et k_{+6} sont très faibles. Les paramètres k_{+5} et k_{+6} contrôlent les taux de dégradation des caspases activées $C3^*$ et $C8^*$. Le paramètre k_{+4} contrôle la dégradation

active de IAP par $C3^*$. La valeur d'équilibre de $C3^*$ au point de selle semble donc robuste vis à vis d'une variation du taux de dégradation de caspases $C8^*$ et $C3^*$. Ce résultat est intéressant car il montre que localement, la concentration de $C3^*$ ne dépend pas de son taux de dégradation ni de celle de la caspase initiateur $C8^*$. Remarquons également que la sensibilité aux autres paramètres est dans le même ordre de grandeur.

L'état de mort semble particulièrement sensible au paramètre k_{-10} . L'étude de la sensibilité de ce point est moins importante dans la mesure où il n'est pas certain que la cellule converge vers ce point d'équilibre étant donné que la cellule commence à être dégradée lorsque le nombre de caspases devient important.

D'une manière générale, l'analyse de sensibilité montre que le point de selle est le point le moins robuste vis à vis d'une perturbation de paramètres.

Analyse globale

La table 4.2 représentent les bornes de variations k_{min} et k_{max} pour lesquelles le système reste bistable. Ces bornes ont été calculées en traçant les diagrammes de bifurcation correspondant aux différents paramètres. La table 4.3 reprend les degrés de robustesse associés aux paramètres. Les valeurs de $k_{max} > 1000$ ont été égalées à 1000, pour le calcul des degrés. L'analyse des degrés de robustesse (voir figure 4.10) montre que le système est robuste vis à vis de la variation de trois paramètres. Ces paramètres sont les paramètres k_{+4} , k_{+5} et k_{+6} . Ces paramètres correspondent aux paramètres auxquels le point de selle est insensible selon l'analyse locale. Les autres paramètres présentent des degrés de robustesse équivalents. Ces degrés sont proches de 0 ce qui illustre la sensibilité du système à une variation paramétrique.

Robustesse du seuil de transition

La figure 4.12 illustre la sensibilité du seuil de transition à une variation d'un pourcent des paramètres. L'étude du graphe supérieur semble montrer qu'il existe une similitude entre la sensibilité du seuil à une variation paramétrique et le graphe de la sensibilité de la variable d'entrée au point de selle (voir figure 4.11)³.

La figure 4.13 illustre la sensibilité du seuil pour une variation paramétrique correspondant à $k = k_{inf}$ (rouge) et $k = k_{sup}$ où k_{inf} , k_{sup} correspondent aux valeurs p_{inf} , p_{sup} des différents paramètres.

La figure 4.14 montre les degrés de robustesse associés au seuil. L'insensibilité aux paramètres 4,5 et 6 se retrouve dans l'ensemble de ces résultats.

Robustesse du temps de transition

La figure 4.15 illustre la sensibilité du temps de transition. Nous avons calculé le temps de transition pour les impulsions seuils déterminées lors de l'analyse de sensibilité du seuil à une variation paramétrique. Chaque temps de transition consiste donc au temps obtenu

3. Les graphes de la sensibilité de la sortie et de l'entrée du système au point de selle présentent la même forme.

Paramètres	k	k_{min}	k_{max}
k_{+1}	$5.8 \cdot 10^{-5}$	$1.52 \cdot 10^{-7}$	$5.892 \cdot 10^{-5}$
k_{+2}	$1.0 \cdot 10^{-5}$	$8.7 \cdot 10^{-8}$	$1.015 \cdot 10^{-5}$
k_{+3}	0.0005	4.910^{-4}	0.0016
k_{+4}	0.0003	0	> 1000
k_{+5}	0.0058	≈ 0	1.98
k_{+6}	0.0058	0	1.39
k_{+7}	0.0173	0.0171	0.0668
k_{+8}	0.0116	≈ 0	0.01178
k_{+9}	0.0039	$3.84 \cdot 10^{-3}$	0.448
k_{+10}	0.0039	$3.84 \cdot 10^{-3}$	1.4
k_{+11}	0.0005	$4.92 \cdot 10^{-4}$	> 1000
k_{+12}	0.001	≈ 0	$1.015 \cdot 10^{-3}$
k_{+13}	0.0116	0.01141	> 1000
k_{-3}	0.21	0.0544	0.2136
k_{-8}	464	457	1307
k_{-9}	507	42.36	515.1
k_{-10}	81.9	29.21	83.2
k_{-11}	0.21	0	0.2136
k_{-12}	40	39.39	496.8

TABLE 4.2 – Bornes de variation des paramètres. Le système est bistable pour autant que $k_i \in [k_{min}, k_{max}]$ où k_i est un des paramètres du modèle. Les autres paramètres sont fixés à leur valeur de base.

en simulant le modèle pour la valeur d'impulsion seuil associée à la variation paramétrique. Les résultats montrent que la variation relative du temps de transition est comprise entre 0 et 100% pour tous les paramètres, excepté k_{-9} . La sensibilité au paramètre k_{-9} est légèrement supérieure pour une variation positive du paramètre. Il peut être remarqué que les variations relatives de seuil positives correspondent à des variations relatives du temps de transition négatives et inversement. Une impulsion plus faible entraîne donc un temps de transition plus long et réciproquement une impulsion seuil plus grande, un temps de transition plus faible. Le temps de transition semble moins sensible à une variation négative des paramètres k_{+4}, k_{+5} et k_{+6} . De manière générale, le temps de transition semble peu sensible par rapport à la sensibilité du seuil de transition.

4.1.4 Analyse de sensibilité le long de trajectoires du système

Il est également possible de calculer la sensibilité paramétrique le long d'une trajectoire du système. Nous avons simulé les trajectoires du système pour deux impulsions de caspases $C8^*$ différentes. La première correspond à une impulsion légèrement supérieure à l'impulsion seuil (75 molécules/cellule) et la seconde à une impulsion de 1000 molécules/cellule (voir figures 4.16). La sensibilité à chaque paramètre a été calculée pour chaque point des deux trajectoires (voir figures 4.17, 4.18, 4.19). Les résultats montrent que le système est surtout sensible aux différents paramètres lors de la transition d'état. Nous

Paramètres	DOR
k_{+1}	0.0156
k_{+2}	0.0148
k_{+3}	0.0157
k_{+4}	1.0000
k_{+5}	0.9971
k_{+6}	0.9958
k_{+7}	0.0116
k_{+8}	0.0153
k_{+9}	0.0156
k_{+10}	0.0154
k_{+11}	0.0156
k_{+12}	0.0148
k_{+13}	0.0164
k_{-3}	0.0169
k_{-8}	0.0151
k_{-9}	0.0156
k_{-10}	0.0156
k_{-11}	0.0169
k_{-12}	0.0152

TABLE 4.3 – Calcul des degrés de robustesse.

pouvons également remarquer que les sensibilités aux paramètres k_{+4} , k_{+5} et k_{+6} restent faibles tout au long de la trajectoire. La sensibilité aux paramètres k_{+10} , k_{-10} et k_{+12} , k_{-12} semble assez importante. Ces différents paramètres contrôlent les réactions impliquant *CARP*. Il semble donc que cet inhibiteur joue un rôle important lors de la transition. Remarquons que la sensibilité du seuil de sensibilité à ces paramètres ne semblait pas supérieure à celles des autres paramètres. Le rôle de *CARP* intervient donc probablement à un autre niveau qu’au niveau du seuil de transition. D’autres investigations pourraient être menées de manière à préciser ces résultats (au niveau du temps de transition notamment). Nous nous limiterons cependant à cette analyse.

4.2 Robustesse vis à vis d’une modification de l’entrée

4.2.1 Réponse du système à une entrée de type échelon

Nos mesures de performance ont été définies pour une entrée de type impulsion. Il peut être intéressant d’envisager un autre type d’entrée. Nous allons considérer l’effet d’une entrée de type échelon sur les points d’équilibre du système. Ce type d’entrée permet de modéliser une entrée constante. Nous rappelons qu’un signal échelon est un signal du type :

$$1(t) = \begin{cases} 0 & \forall t < 0 \\ 1 & \forall t \geq 0 \end{cases}$$

4.2.2 Application au modèle de Griffith

L'effet d'une entrée échelon est ici facile à se représenter. En effet, les isoclines du système sont les courbes d'équation

$$\begin{aligned} f_1(x_1, x_2) &= -ax_1 + x_2 = 0 \\ f_2(x_1, x_2) &= \frac{x_1^2}{1+x_1^2} - b * x_2 + u = 0 \end{aligned}$$

ou encore :

$$\begin{aligned} x_2 &= ax_1 \\ x_2 &= \frac{1}{b} \left(\frac{x_1^2}{1+x_1^2} + u \right) \end{aligned}$$

L'effet de u est donc de déplacer vers le haut une des isoclines du système. Lorsque la valeur de u est faible, les isoclines conservent trois points d'intersection et le système garde donc trois points d'équilibre. L'effet de l'entrée modifie alors simplement l'état de repos. Lorsque l'entrée est importante, les isoclines ne s'intersectent plus qu'en deux ou un seul point(s). Le système perd alors sa bistabilité et passe dans le seul état qui subsiste, l'état excité où il demeure aussi longtemps que l'échelon est appliqué.

Il est possible de tracer un diagramme de bifurcation présentant l'évolution des points d'équilibre du système en fonction de la valeur de l'échelon (voir figure 4.20).

Il est alors possible de déterminer la valeur de l'échelon pour lequel le système perd sa bistabilité. Dans le modèle de Griffith, cette valeur correspond à 0.05.

4.2.3 Application au modèle d'apoptose

L'effet d'une entrée échelon est ici plus difficile à se représenter étant donnée la dimension élevée du système. Il est cependant également possible de tracer un diagramme de bifurcation de la sortie du système en fonction de l'échelon d'entrée (voir figure 4.21). L'étude du diagramme montre que la bistabilité est conservée pour de faibles valeurs d'entrée. Lorsque l'échelon dépasse la valeur de $2 * 10^{-3}$, le système perd sa bistabilité, seul l'état excité subsiste.

Pour les deux modèles, la zone de bistabilité est donc fort sensible à une entrée de type échelon. La zone de bistabilité est donc peu robuste à une variation de ce type d'entrée. Nous remarquons également que l'entrée seuil nécessaire pour entraîner une transition d'état est nettement plus faible dans le cas d'une entrée continue que dans le cas d'une entrée de type impulsion.

4.3 Effet du bruit interne

Le modèle étudié utilise des équations différentielles ordinaires. L'utilisation des équations différentielles repose sur l'hypothèse que les effets stochastiques peuvent être négligés. Or

dans le modèle étudié, le nombre de molécules de caspases activées reste très proche de 0 et la nature stochastique des réactions peut donc jouer un rôle important. T. Eissing et al ont étudié l'effet de cette nature stochastique des réactions encore appelée bruit interne, sur le comportement du modèle de l'apoptose [28]. Ils ont ainsi montré qu'il n'existait pas de seuil de transition net entre les concentrations de $C8^*$ induisant l'apoptose et celles n'induisant pas l'apoptose dans les simulations stochastiques. Les temps de transition observés pour de faibles concentrations de $C8^*$ correspondent cependant à ceux observés pour des impulsions proches du seuil dans le modèle déterministe, c'est à dire à des temps de plusieurs jours ou même semaines. Les distributions du temps entre l'application du stimulus et l'apoptose sont similaires dans les deux cas.

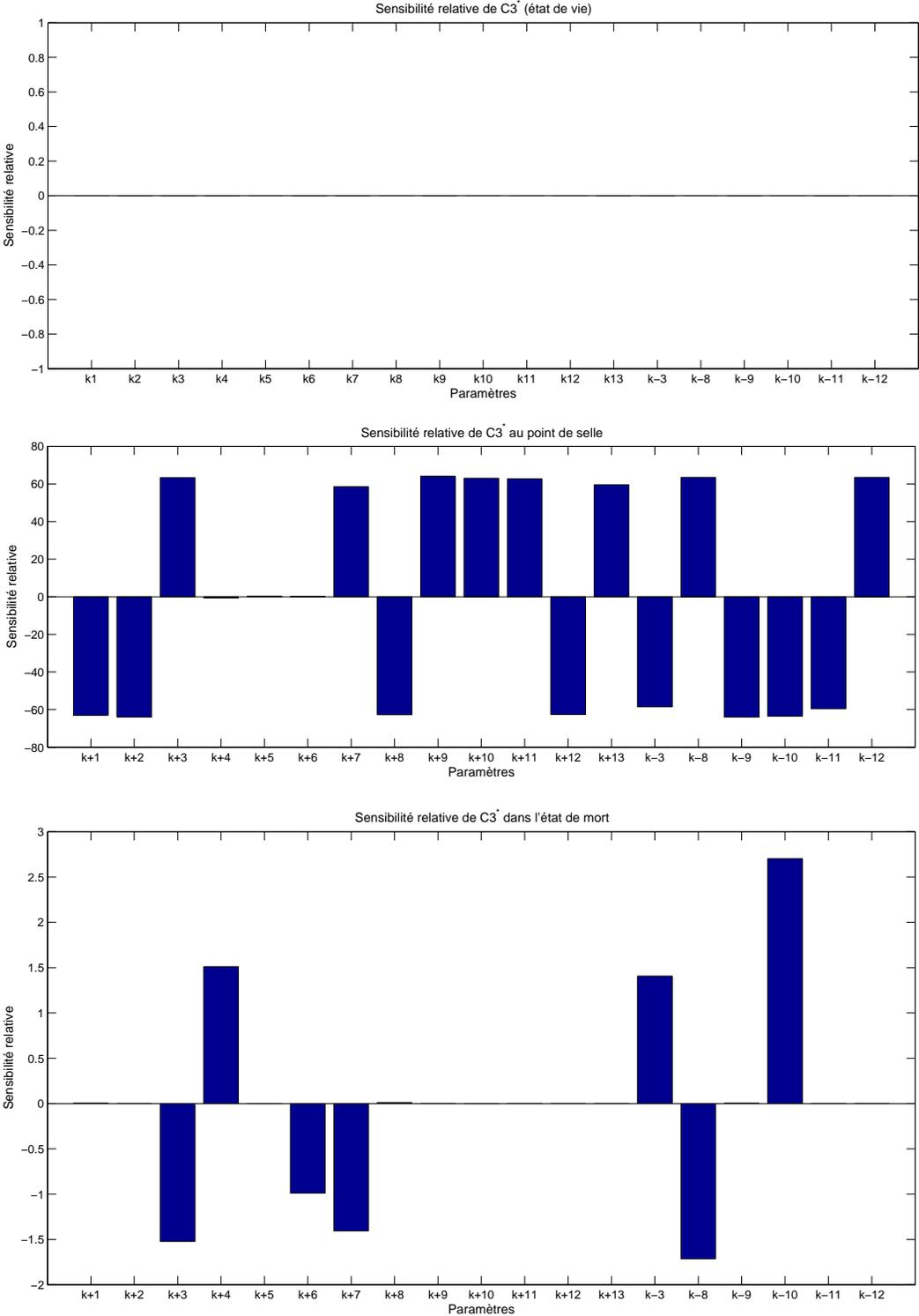


FIGURE 4.9 – Analyse de sensibilité locale des points d’équilibre du système vis à vis d’une variation paramétrique pour le modèle d’apoptose. La sensibilité de la variable de sortie $C3^*$ est représentée. La première figure illustre la sensibilité de l’état de survie, la seconde celle du point de selle et la troisième, celle de l’état de mort.

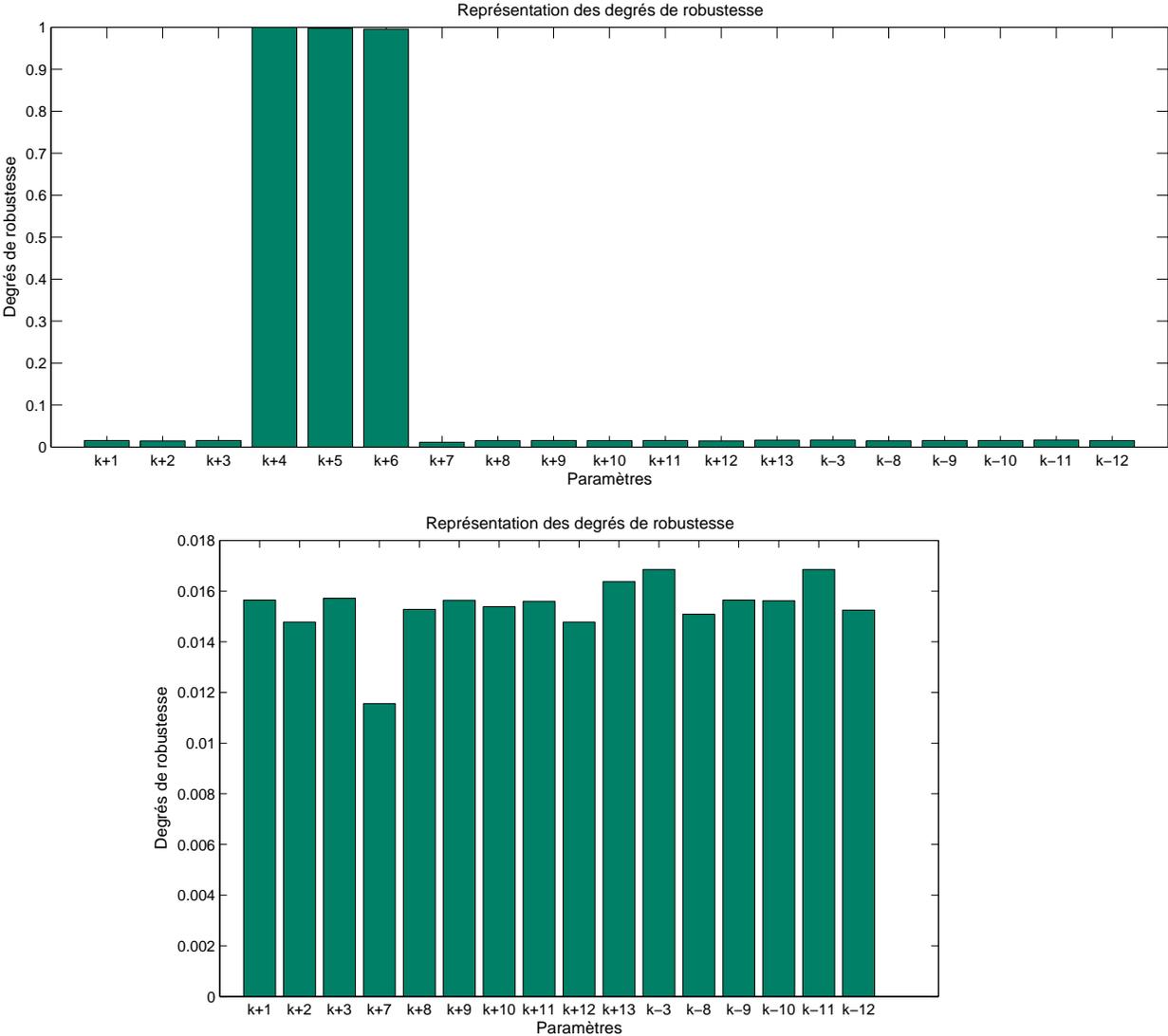


FIGURE 4.10 – Représentation des degrés de robustesse. Les degrés sont compris entre 0 et 1. Un degré proche de 1 signifie une insensibilité du système à la variation paramétrique tandis qu’un degré proche de 0 signifie une grande sensibilité.

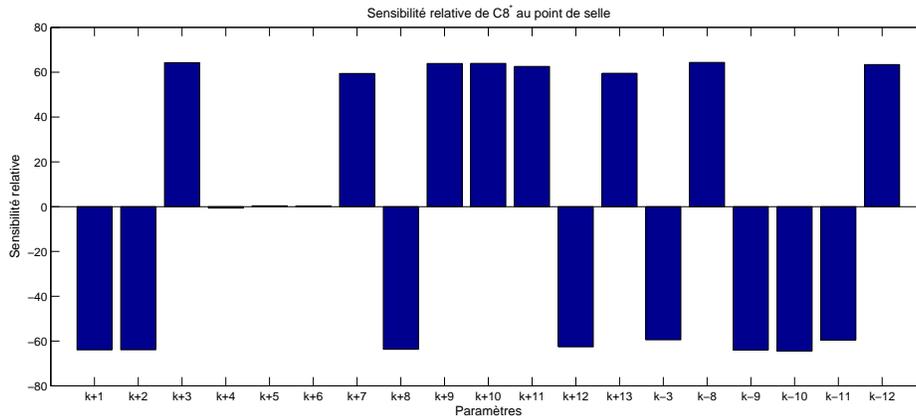


FIGURE 4.11 – Sensibilité de la variable d’entrée ($C8^*$) au point de selle pour le modèle d’apoptose.

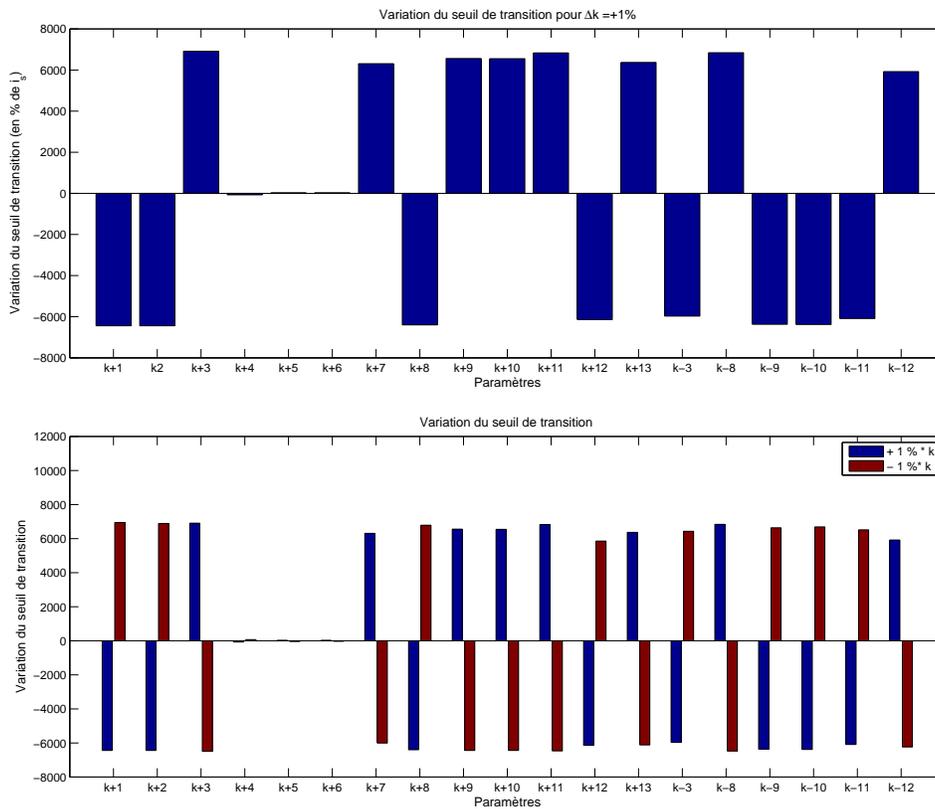


FIGURE 4.12 – Sensibilité du seuil de transition pour une variation d’ 1 % de chaque paramètre. Le graphe du dessus illustre la sensibilité du seuil à une variation positive d’ 1 %. Le graphe du dessous illustre la sensibilité pour une variation positive (en bleu) et négative (en rouge) d’1 % sur les paramètres.

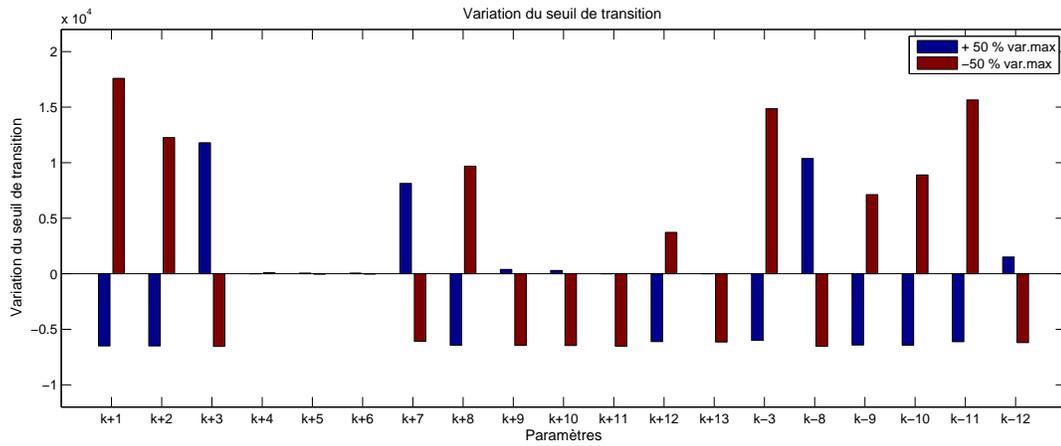


FIGURE 4.13 – Sensibilité du seuil de transition dans le modèle d’apoptose (2). La variation relative du seuil pour $k = k_{sup}$ est présentée en bleu. La variation relative du seuil pour $k = k_{inf}$ est présentée en rouge.

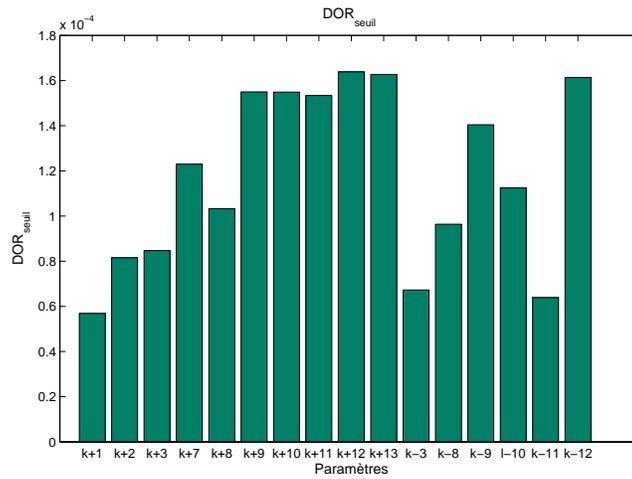
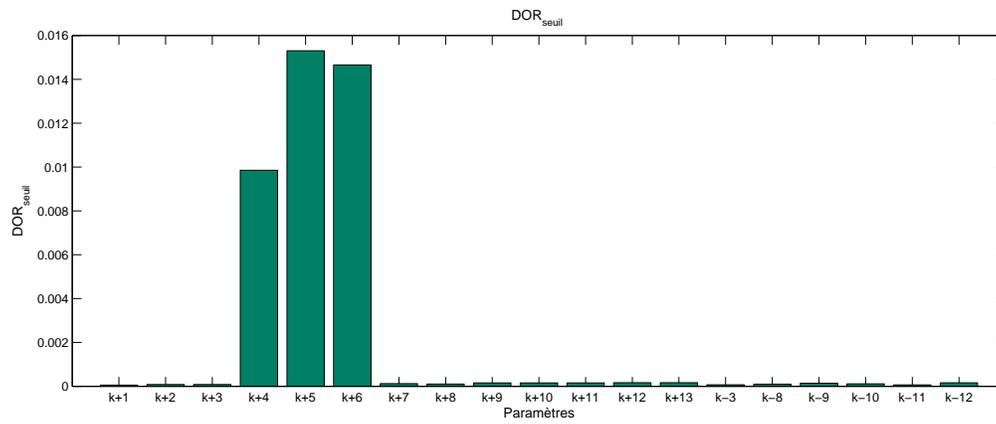


FIGURE 4.14 – Degrés de robustesse du seuil de transition pour le modèle d’apoptose.

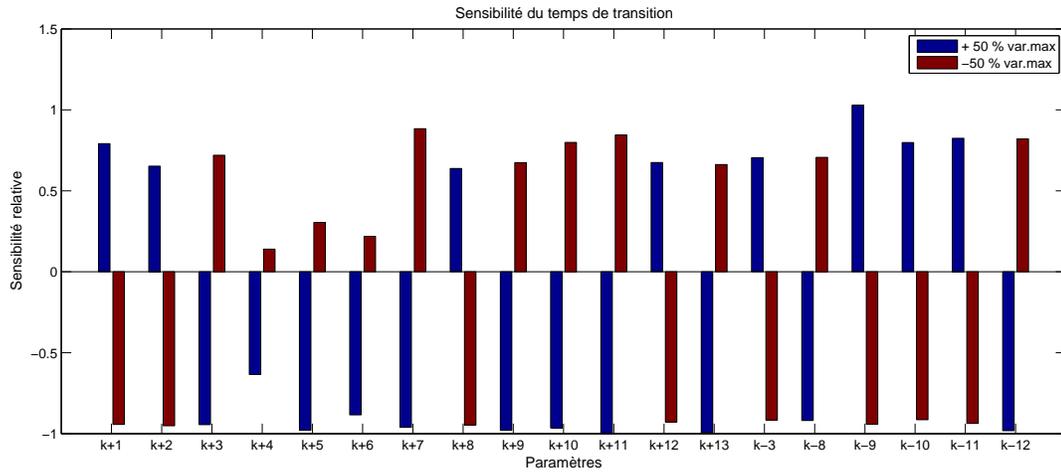


FIGURE 4.15 – Sensibilité du temps de transition dans le modèle d’apoptose. Les bâtonnets bleus sont associés à une variation positive de paramètre et les rouges à une variation négative.

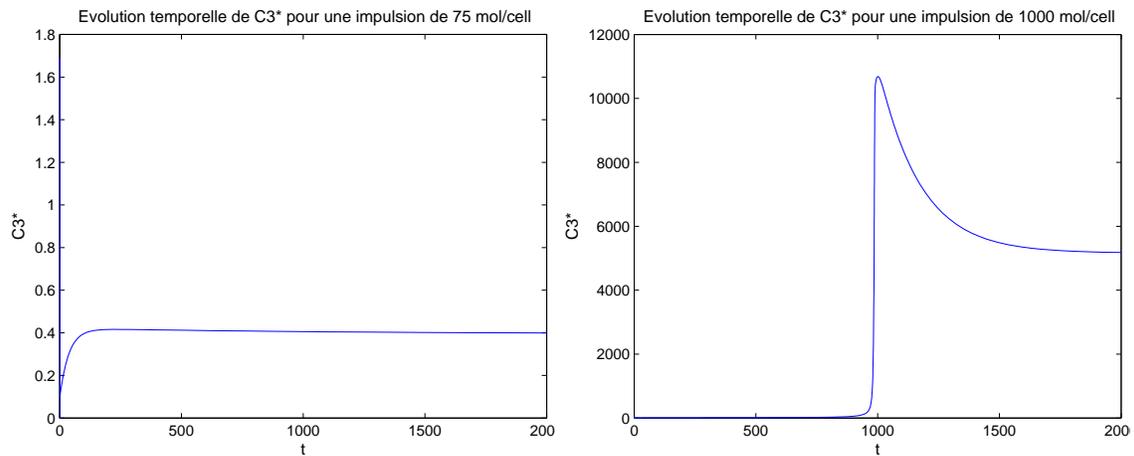


FIGURE 4.16 – Evolution temporelle de la concentration en C3* (molécules/cellule) en fonction de l’impulsion d’entrée. La figure de droite est obtenue pour une impulsion de 75 molécules/cellule et celle de gauche pour une impulsion de 1000 molécules/cellule.

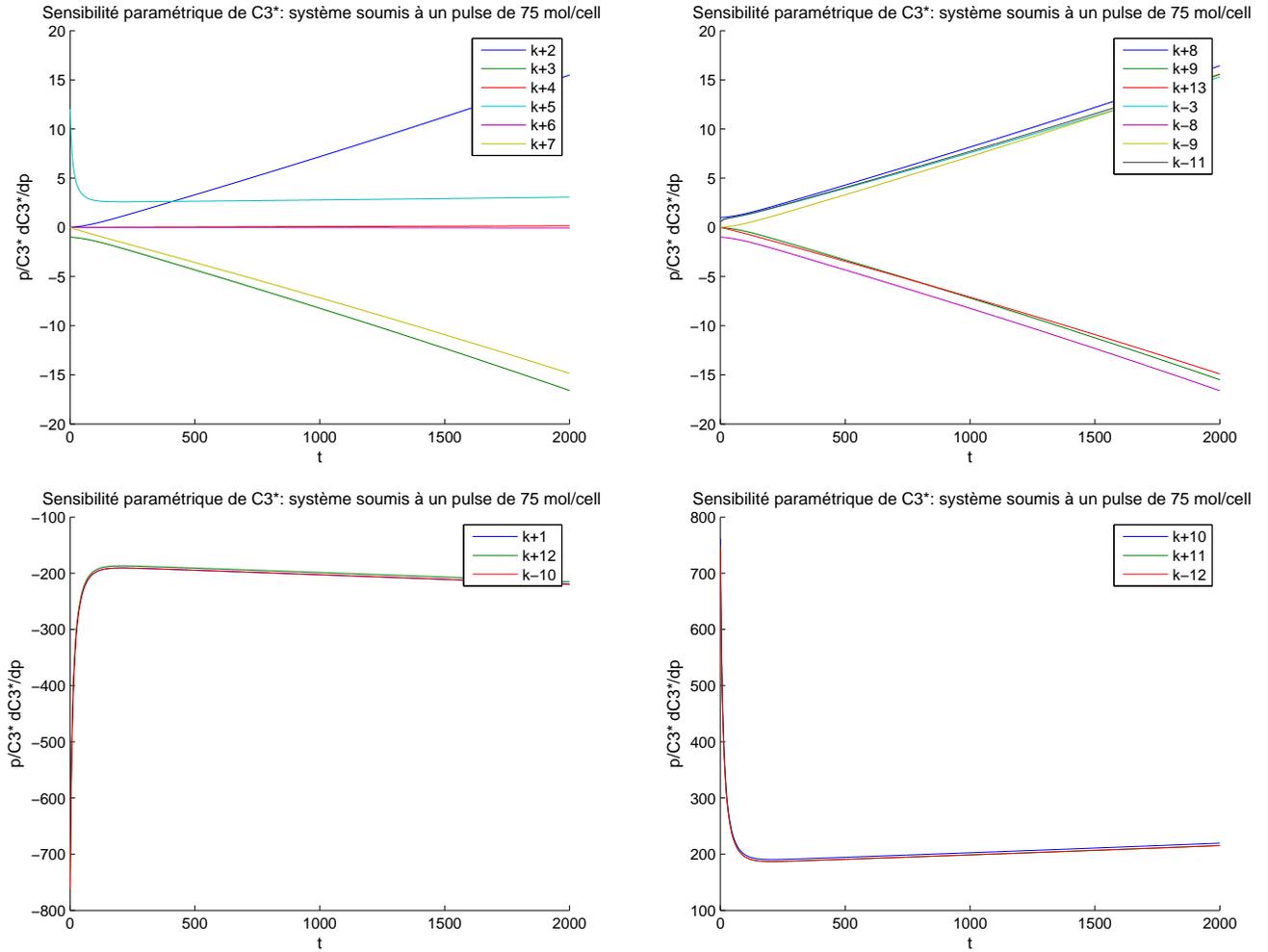


FIGURE 4.17 – Sensibilités le long d’une trajectoire pour une impulsion de 75 molécules/cellule

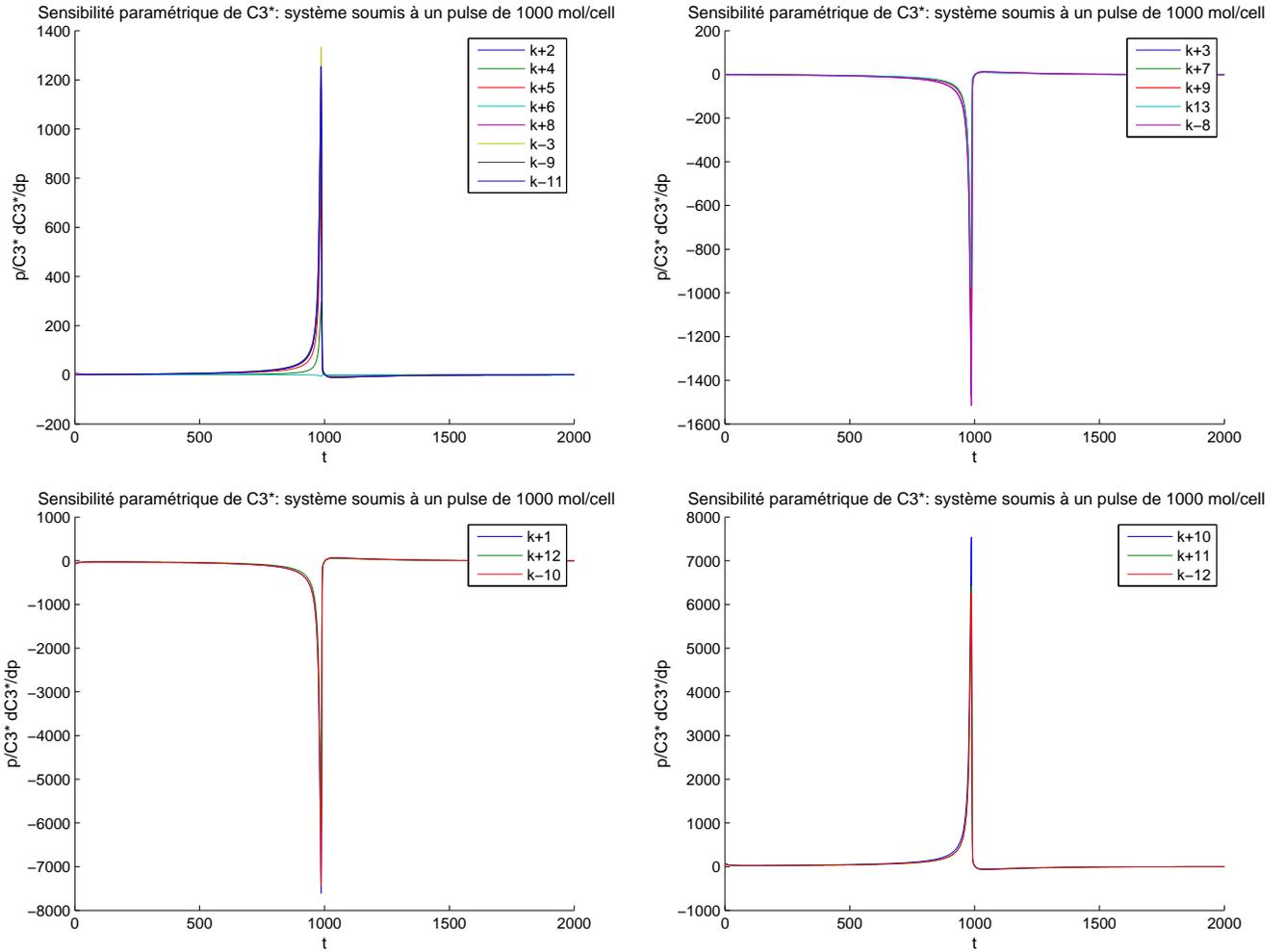


FIGURE 4.18 – Sensibilités le long d’une trajectoire pour une impulsion de 1000 molécules/cellule.

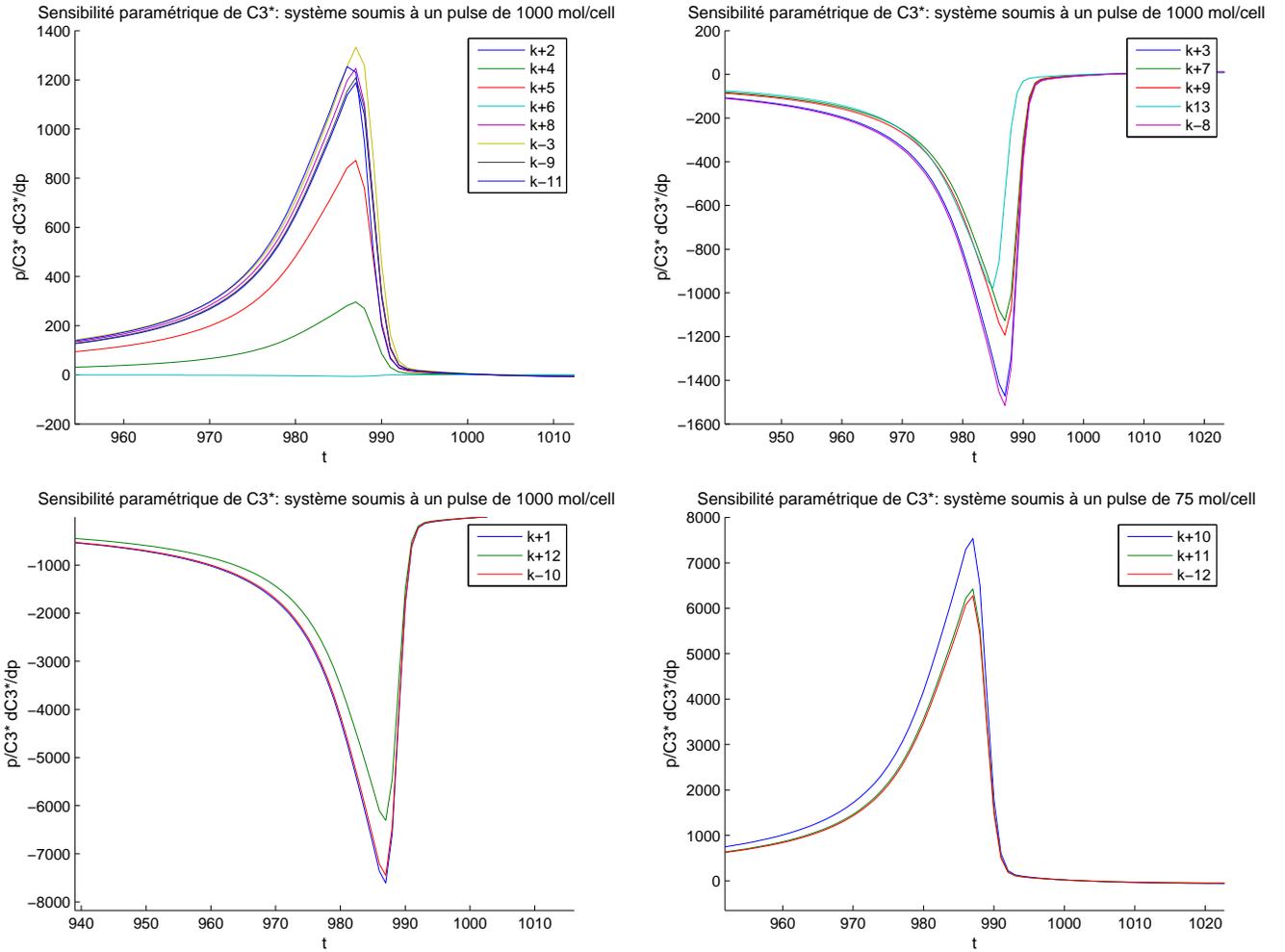


FIGURE 4.19 – Sensibilités le long d’une trajectoire pour une impulsion de 1000 molécules/cellule : la figure correspond à un zoom sur la zone de transition.

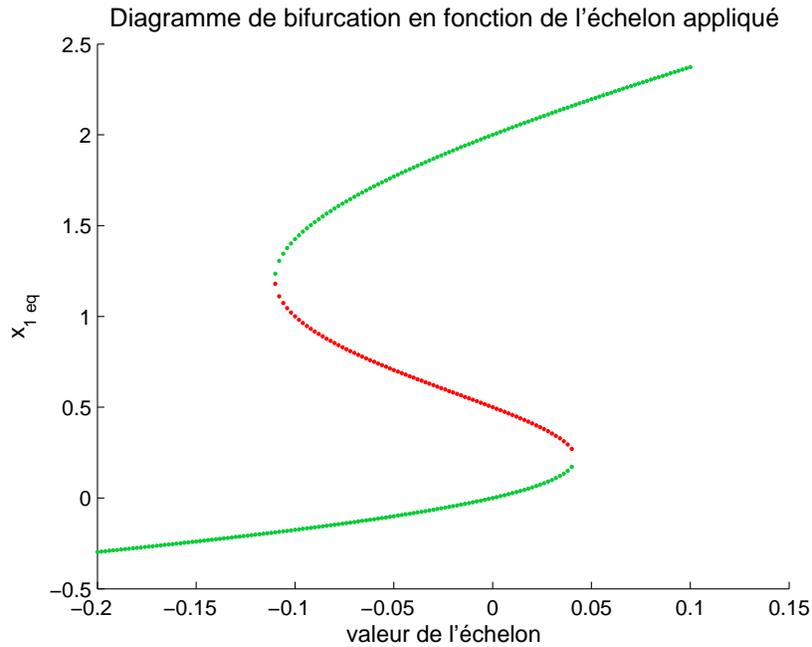


FIGURE 4.20 – Robustesse à une entrée de type échelon : diagramme de bifurcation de la variable de sortie (x_1) en fonction de la valeur de l'échelon appliqué pour le modèle de Griffith .

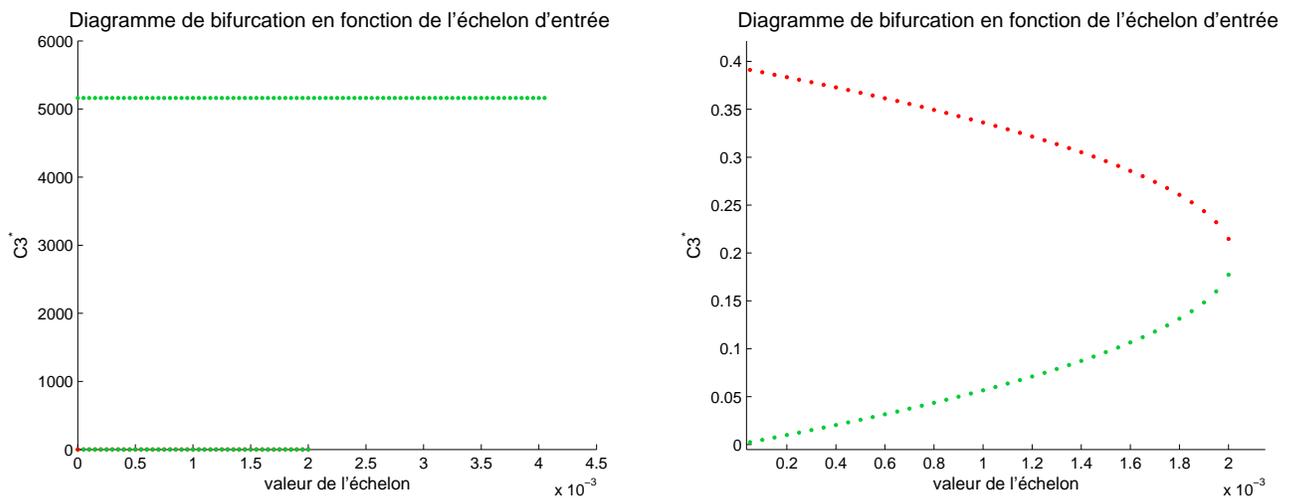


FIGURE 4.21 – Robustesse à une entrée de type échelon : diagramme de bifurcation de la variable de sortie en fonction de la valeur de l'échelon appliqué pour le modèle d'apoptose. La figure de droite est un zoom sur celle de gauche qui met en évidence la zone de bifurcation.

Chapitre 5

Analyse des résultats

L'analyse des mesures de performance et robustesse nous apporte de l'information sur le processus biologique étudié d'une part et sur le mécanisme de bistabilité en général d'autre part.

5.1 Interprétation des résultats pour le modèle de l'apoptose.

L'analyse des degrés de robustesse du système montre que la bistabilité du système est relativement insensible à une variation des paramètres k_{+5} et k_{+6} . Ces paramètres contrôlent les vitesses de dégradation des caspases activées $C8^*$ et $C3^*$. La bistabilité du système est donc peu sensible aux taux de dégradation des caspases activées. De plus, l'analyse de robustesse du seuil de transition montre que celui-ci est également insensible à une variation de ces paramètres. Ce résultat est intéressant car il met en évidence le fait que l'activation efficace des caspases est indépendante de leur vitesse de dégradation. Il montre également, qu'à priori, ces réactions ne jouent pas un rôle clé dans le mécanisme de « switch ». Le système est par contre fort sensible aux paramètres contrôlant les réactions impliquant les inhibiteurs. Ces résultats rejoignent ceux obtenus par Eissing et al. [28] dans le cas de l'analyse stochastique du modèle et corrobore leur hypothèse qui consiste à considérer que les molécules de caspases activées sont pratiquement toutes liées à leur inhibiteur durant la phase d'initiation. Cette hypothèse présente les inhibiteurs comme un mécanisme « tampon » permettant de filtrer le bruit intracellulaire : lorsque le nombre de molécules de caspases activées est faible, celles-ci se lient directement aux inhibiteurs permettant de conserver un nombre de caspases activées libres faible. Mais lorsque le nombre de molécules liées augmente, l'équilibre de la réaction entre formation et dégradation du complexe est déplacé vers la dégradation du complexe entraînant une augmentation du nombre de caspases activées libres et une activation de la boucle de feed-back. Nos résultats montrent également une insensibilité au paramètre k_{+4} qui contrôle la dégradation active de IAP par $C3^*$. Ce résultat peut également être expliqué par le fait que le nombre de caspases activées $C3^*$ libres est faible durant la phase d'initiation. En effet, s'il y a peu de caspases activées libres durant cette phase, alors elles ne peuvent pas avoir d'effet si-

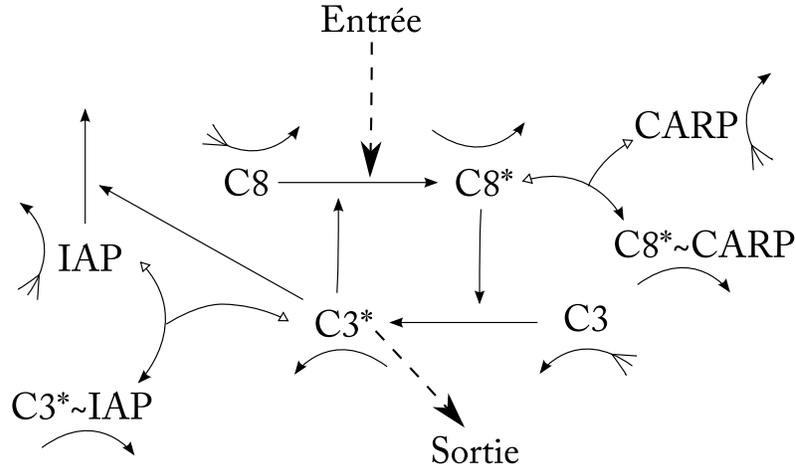


FIGURE 5.1 – Modèle de l'apoptose proposé par T. Eissing et al. L'image est inspirée de [1]. L'entrée agit sur la quantité de caspase 8 qui est activée ($C8 \rightarrow C8^*$). La sortie mesurée est la concentration de caspase 3 activée ($C3^*$).

gnificatif sur la dégradation de IAP^1 .

Les robustesses des autres paramètres (voir analyse des degrés de robustesse) semblent équivalentes. Il devient dès lors difficile de pouvoir discerner des différences entre ces paramètres, la distinction étant d'autant plus difficile que les degrés de robustesse dépendent des bornes de variations des paramètres dont la valeur reste une valeur approximative. Le fait que la robustesse du comportement bistable soit sensible dans une même mesure à ces différents paramètres montre toutefois que ces diverses réactions ont une importance relative équivalente dans le mécanisme de bistabilité.

Les sensibilités relatives du seuil pour une variation d'1 % des paramètres sont équivalentes pour tous les paramètres, exceptés k_{+4} , k_{+5} et k_{+6} . Par contre, les sensibilités du seuil pour une variation correspondant à 50 % de la variation maximale des paramètres ne sont plus équivalentes. La sensibilité du seuil n'est donc pas une fonction linéaire de la variation paramétrique. Il convient dès lors de rester prudent quand à l'analyse de nos résultats, nos mesures restant des mesures locales. Il peut cependant être remarqué que la variation relative du seuil est une fonction monotone de la variation paramétrique ce qui permet à la mesure pour une variation de 50% d'apporter un peu plus d'information qu'une simple information locale². Le seuil semble assez sensible vis à vis d'une variation de k_{+1} , k_{-3} et k_{-11} . k_{+1} contrôle l'activation de caspase 3 ($C3 \rightarrow C3^*$). Il semble assez évident que le seuil de transition dépende fortement de ce paramètre. En effet, diminuer la vitesse d'activation aura tendance à rendre plus difficile l'activation de la boucle de feed-back et augmenter donc la valeur du seuil de transition. Les paramètres k_{-3} et k_{-11} contrôlent la

1. Restons conscients que l'analyse n'étudie pas le possible couplage entre effets associés à la modification simultanée de différents paramètres.

2. Nous avons en effet vérifié que la variation relative de seuil était une fonction monotone de la variation paramétrique.

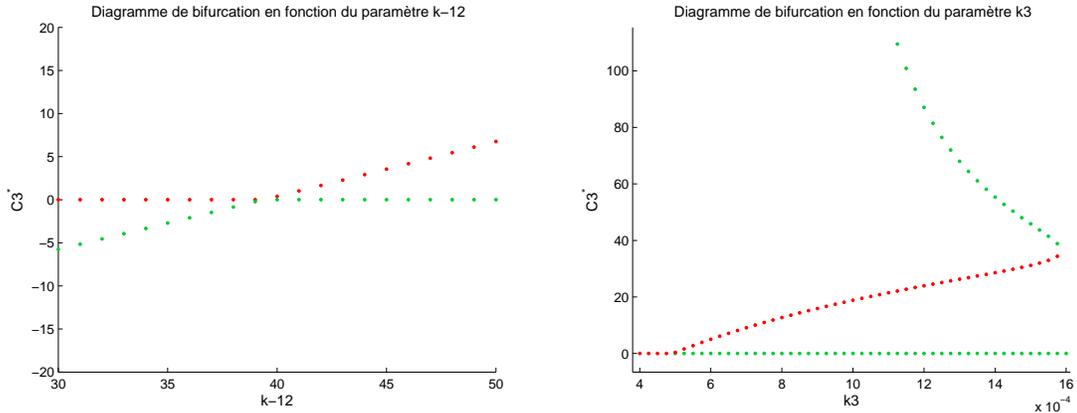


FIGURE 5.2 – Bifurcations dans le modèle d’apoptose. La figure de gauche illustre une bifurcation trans-critique. La figure de droite montre une bifurcation col-noeud.

dégradation des complexes inhibiteurs-caspases activées. Diminuer ces paramètres, c’est défavoriser la dégradation des complexes et donc la présence de molécules de caspases libres, ce qui a pour effet d’augmenter le seuil de transition. Nous retrouvons donc ici l’effet des inhibiteurs.

5.2 Lien entre les résultats et la théorie des systèmes dynamiques.

L’étude de la robustesse du système montre une insensibilité aux paramètres k_{+4} , k_{+5} et k_{+6} .

La zone de bistabilité peut être calculée au moyen de diagrammes de bifurcation. Ces diagrammes présentent l’évolution des points d’équilibre en fonction d’une variation paramétrique. Les bornes de bistabilité sont soit déterminées par des bifurcations, soit par le fait que les concentrations d’équilibre deviennent négatives pour certaines valeurs de paramètres. Pour le modèle de l’apoptose, les zones de bistabilité sont limitées par des bifurcations trans-critiques ou des bifurcations col-noeud (voir figure 1.7). Lorsque la bifurcation est une bifurcation col-noeud le point de selle fusionne avec le point d’équilibre stable. Après la bifurcation, il n’existe plus qu’un seul point d’équilibre et la bistabilité disparaît. Les bifurcations trans-critiques ont lieu entre le point d’équilibre stable correspondant à l’état de survie et le point de selle si bien que le point de selle devient stable pour des concentrations négatives, ce point n’est donc plus physiquement acceptable. Comme l’état de survie devient instable, le système perd sa bistabilité. Dans le cas du modèle de l’apoptose, il semble que l’analyse locale du point de selle donne une bonne estimation des degrés de robustesse. En effet, l’analyse de sensibilité du point de selle permet d’identifier l’insensibilité aux paramètres k_{+4} , k_{+5} et k_{+6} . Ce lien s’explique probablement par le fait que les bornes de bistabilité sont délimitées par des bifurcations et par l’insensibilité du point d’équilibre correspondant à l’état de survie à une variation paramétrique.

L’étude du plan de phase du modèle de Griffith met en évidence l’importance du point

de selle et plus particulièrement de la variété stable de celui-ci dans la détermination du seuil de transition. En effet, la variété stable joue le rôle de séparatrice séparant le plan de phase en les deux bassins d'attraction des points d'équilibre. Ce lien entre point de selle et seuil de transition se retrouve dans l'analyse de sensibilité du seuil de transition : le graphe de l'analyse de sensibilité du point de selle sur la variable d'entrée et le graphe de la sensibilité du seuil de transition à une variation d'un pourcent des paramètres présentent une similitude de forme. Dans le modèle de Griffith, cette similitude se retrouve également pour la variation de 50 pourcents. Ce résultat s'explique facilement au moyen de la figure 5.3. Cette figure montre que le point de selle se déplace dans le plan de phase suite à une modification d'un des paramètres. La variété stable du point de selle se déplace alors également parallèlement à elle dans le même sens que le point de selle. L'intersection de la variété stable du point de selle et de la droite $x_1 = 0$ déterminant le seuil de transition se trouve donc modifié de la même manière. Il est intéressant de remarquer que ce lien entre sensibilité du point de selle et sensibilité du seuil de transition se retrouve également dans le modèle de l'apoptose. Le modèle de l'apoptose est un modèle de dimension 8 où le point de selle présente 7 valeurs propres à partie réelle négative. La variété stable du point de selle correspond donc ici à une hypersurface de dimension 7. Bien que le modèle soit un modèle de dimension 8, les graphes de la sensibilité du point de selle (de la variable d'entrée) et de la sensibilité du seuil à une variation des paramètres présentent des formes similaires. Il semble donc exister localement un phénomène semblable à celui observé en dimensions 2.

Il est intéressant de noter que ce lien entre variété stable et seuil de transition se retrouve également dans le modèle de Lorenz. Le modèle de Lorenz est un modèle à trois variables proposé pour étudier la convection d'amplitude finie [29]. Ce modèle a permis de mettre en évidence l'existence de comportements chaotiques. Le modèle est décrit par trois équations différentielles non linéaires :

$$\begin{cases} \dot{X} &= \sigma(Y - X) \\ \dot{Y} &= rX - Y - xZ \\ \dot{Z} &= XY - bZ \end{cases}$$

où X, Y, Z sont les variables du système et σ, r des paramètres.

L'objet de notre recherche n'est pas l'étude du modèle de Lorenz. Il est toutefois intéressant de noter qu'il existe des valeurs de r pour lesquelles le système présente un comportement bistable. Pour ces valeurs, nous retrouvons le lien entre variété stable du point de selle et seuil de transition.

Les figures 5.4 et 5.5 illustrent les trajectoires du système proposé par Lorenz, pour différentes conditions initiales. Le système possède deux points d'équilibre stable et un point de selle (en bleu). Pour chaque point d'équilibre, les vecteurs propres associés aux valeurs propres à partie réelle négative sont représentés en vert clair tandis que le vecteur propre associé à la valeur propre positive du point de selle est en rouge. Localement, la variété stable du point de selle est déterminée par les vecteurs propres associés aux

valeurs propres à partie réelle négative du point de selle. Il s'agit donc ici d'une surface de dimension 2. La simulation des trajectoires pour des conditions initiales proches du point de selle montre que localement, il existe une sorte de séparatrice déterminant les conditions initiales qui convergent vers l'un ou l'autre des points d'équilibre. Cette séparatrice semble être déterminée localement par le plan déterminé par les vecteurs propres du point de selle et donc l'approximation locale de la variété stable de celui-ci. Pour des conditions initiales plus éloignées du point de selle, les trajectoires sont plus complexes, pourtant nous retrouvons le rôle de la séparatrice localement. L'exemple du modèle de Lorenz et du modèle d'apoptose semblent montrer que la variété stable du point de selle peut jouer le rôle de séparatrice dans des modèles de dimension supérieure à 2. Le modèle de Lorenz mais cependant en évidence que cette variété peut dans certains cas présenter une forme complexe.

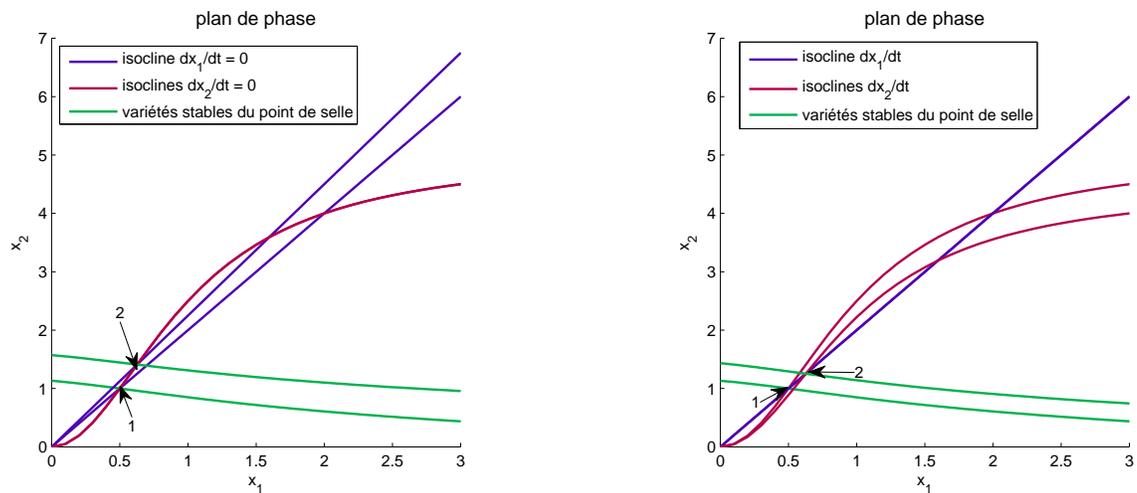


FIGURE 5.3 – Rôle du point de selle et de sa variété stable dans le modèle de Griffith. La figure représente le plan de phase pour une variation paramétrique. La figure de gauche illustre la modification du plan de phase suite à une augmentation du paramètre a et celle de droite la modification suite à une augmentation du paramètre b . Le point de selle est pointé par la flèche 1 avant modification et par la flèche 2 après modification.

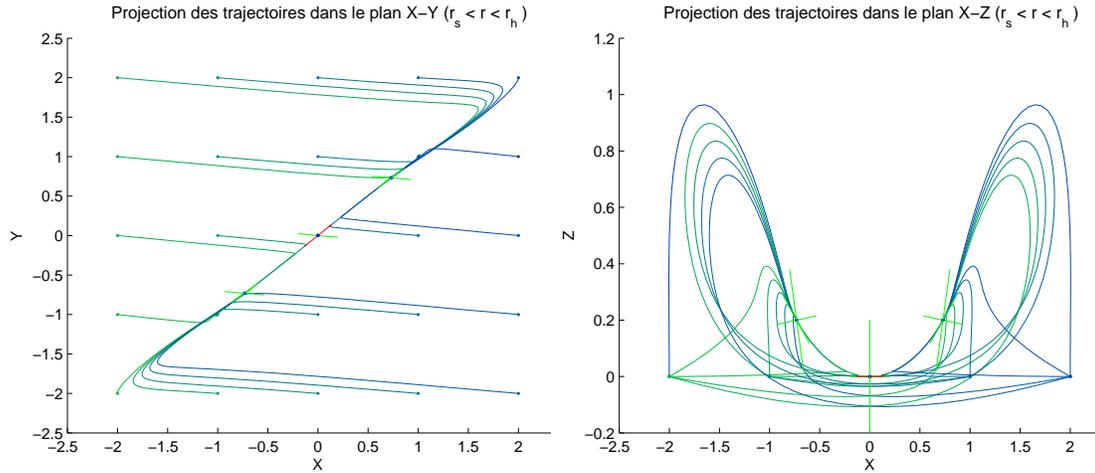


FIGURE 5.4 – Rôle du point de selle et de sa variété stable dans le modèle de Lorenz (1). La figure représente les projections des trajectoires du système dans les plans X-Y et X-Z ($r = 1.2$). Les trajectoires ont été simulées à partir de points dans le plan $Z=0$. Les segments de droite vert clair représentent les vecteurs propres associés aux valeurs propres négatives et le segment rouge celui associé à la valeur propre positive.

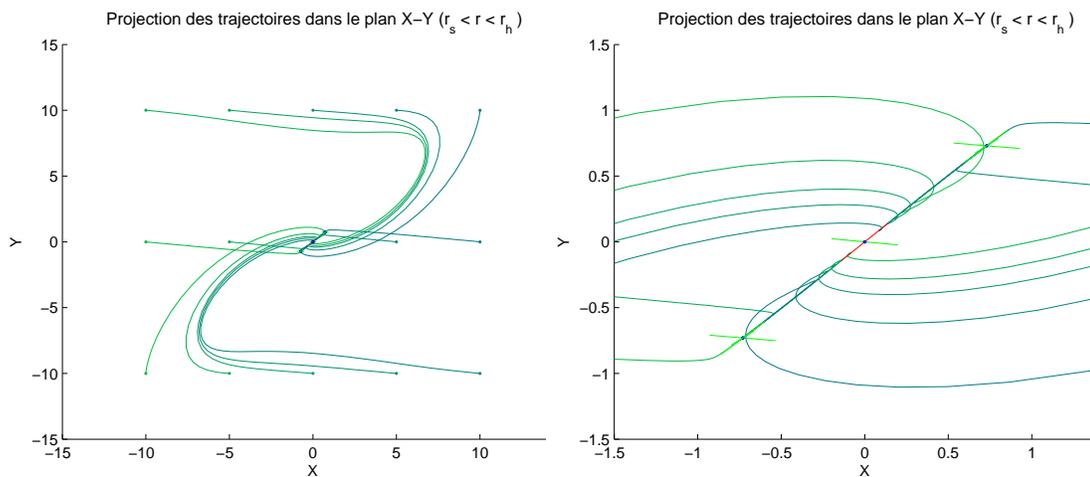


FIGURE 5.5 – Rôle du point de selle et de sa variété stable : modèle de Lorenz (2). La figure illustre les projections des trajectoires dans les plans X-Y ($r = 1.2$) pour $X_0 \in [-10, 10]$, $Y_0 \in [-10, 10]$. Les trajectoires ont été simulées à partir de points dans le plan $Z=0$. Les segments de droite vert clair représentent les vecteurs propres associés aux valeurs propres négatives et le segment rouge celui associé à la valeur propre positive. La figure de droite est un zoom de la figure de gauche.

Conclusion

L'objet de l'étude consistait en l'étude de la performance et de la robustesse des systèmes bistables en biologie.

Dans un premier temps, nous avons tenté de mettre en évidence les caractéristiques des systèmes bistables en biologie en se basant sur une recherche bibliographique

Nous avons identifié une série de caractéristiques permettant d'identifier un système comme un système bistable en biologie et permettant ainsi de définir le concept de bistabilité en biologie. Un système bistable est un système pouvant présenter deux états ou deux comportements distincts et capable d'effectuer une transition entre ces deux états. La transition entre interphase et mitose dans le cycle cellulaire ou entre état de survie et de mort cellulaire dans l'apoptose sont deux exemples de processus biologiques pouvant être décrits en terme de bistabilité. La présence de ces deux états et de la transition entre eux n'est cependant pas suffisante. Il est nécessaire que la transition entre les états soit abrupte, discontinue. Le système ne doit pas présenter une série de réponses stationnaires intermédiaires entre ces états : la réponse du système fonctionne en tout ou rien. Enfin la présence d'un comportement d'hystérèse semble être une caractéristique essentielle pour identifier un système bistable et pouvoir faire la différence entre un comportement de simple ultrasensibilité et de bistabilité. Pour un même ensemble de conditions expérimentales, le système peut donc se trouver dans deux états distincts, l'état du système dépendant de son histoire. Les systèmes bistables possèdent donc une capacité de mémoire.

Après avoir identifié les composantes essentielles des systèmes bistables en biologie, nous avons tenté de faire le lien entre ces composantes et une caractérisation mathématique des systèmes bistables. La caractérisation repose sur l'étude des propriétés des systèmes dynamiques représentés par un système d'équations différentielles non linéaires. En dimension 2, les systèmes exciteur-exciteur ou inhibiteur-inhibiteur décrits par Hopfield sont des exemples de systèmes bistables. Grâce à l'étude de ces modèles et du modèle de Griffith, nous avons montré comment relier les propriétés des systèmes bistables en biologie à une caractérisation mathématique : états d'équilibre du système reliés à l'étude des points d'équilibre du système d'équations et de leur stabilité, transition entre états déterminée par le changement de bassin d'attraction de l'état du système dans le plan de phase suite à une perturbation et comportement d'hystérèse apparaissant suite à une modification du signal d'entrée ou une variation paramétrique.

L'étape suivante consistait à spécifier la performance des systèmes bistables. La performance d'un système est généralement décrite en comparaison avec un comportement attendu ou souhaité du système. En biologie, il est difficile de dire si un comportement est ou n'est pas souhaitable. Nous avons donc relié la performance non pas à une réponse souhaitée du système mais plutôt à la présence d'un comportement caractéristique, ce comportement ayant été mis en évidence dans les chapitres précédents. Afin de décrire la performance des systèmes bistables, nous avons décidé d'utiliser une approche similaire à celle utilisée pour caractériser la performance des systèmes linéaires SISO en théorie du contrôle. Nous caractérisons le système biologique comme un système entrée-sortie et étudions sa performance en fonction du signal de sortie obtenu pour un type d'entrée particulière.

Nous avons montré que cette approche pour définir la performance avait un sens biologiquement en se basant sur le processus d'apoptose. Ce système a été décrit sous forme entrée-sortie en modifiant légèrement la représentation entrée-sortie proposée par E. Bullinger [21]. Dans le processus d'apoptose, les principales spécifications de performance identifiées sont la robustesse de l'état de survie vis à vis de petites perturbations, l'entrée en apoptose pour un stimulus pro-apoptotique suffisant et la transition suffisamment rapide entre vie et mort, le temps de transition dépendant de la force du signal pro-apoptotique. Ces diverses spécifications peuvent être évaluées en considérant la réponse du système décrit sous forme entrée-sortie à une entrée de type impulsion. L'étude du mécanisme d'apoptose nous a donc amenés à proposer trois mesures de performance des systèmes bistables : la présence deux états stables du système (pouvant être également considérée comme une condition d'existence d'un système bistable), l'impulsion d'entrée seuil déterminant la transition entre états, et le temps de transition entre états en fonction de l'impulsion d'entrée. Ces mesures ont été appliquées au modèle de Griffith et au modèle d'apoptose.

La robustesse du système a alors été évaluée sur base de la robustesse des mesures de performance. La robustesse a principalement été étudiée vis à vis de variations paramétriques et d'une variation du signal d'entrée. La robustesse des points d'équilibre a été étudiée via une analyse locale et globale de sensibilité. Un degré de robustesse lié aux états d'équilibre (et donc à la première mesure de performance) a été défini en adaptant une mesure proposée par L. Ma et P. A. Iglesias [27] dans l'étude des modèles caractérisant des oscillations biochimiques. Ce degré de robustesse est lié à la capacité du système à pouvoir présenter un comportement de bistabilité pour une gamme plus ou moins large de variations paramétriques. La robustesse du seuil et du temps de transition ont également été évaluées vis à vis de variations paramétriques et un degré de robustesse a été défini pour le seuil de transition.

L'analyse des mesure de performance et de robustesse dans le modèle d'apoptose a permis de mettre en évidence l'insensibilité relative du mécanisme de transition dans ce processus à certains paramètres du modèle. Ces paramètres contrôlent la dégradation des

caspases activées et la dégradation active de *IAP*, inhibiteur d'apoptose, par la caspase activée *C3**. De plus le système présente une forte sensibilité aux paramètres contrôlant les réactions d'inhibition. Les inhibiteurs semblent avoir une influence importante sur le mécanisme de transition. Les résultats obtenus permettent donc de corroborer l'hypothèse de Eissing et al qui présentent les réactions d'inhibition comme des sortes de tampons régulant le mécanisme de transition et filtrant la présence de bruit intracellulaire.

Au delà des résultats biologiques, notre analyse met en évidence le rôle du point de selle dans le mécanisme de bistabilité. L'analyse de robustesse des modèles couplée à une analyse de plan de phase semble montrer qu'il existe un lien entre le point de selle et les mesures de performance des systèmes bistables. Notre analyse souligne donc également que l'étude d'un état qui ne peut être observé expérimentalement, vu son caractère instable, peut apporter des informations sur le comportement du système.

De manière plus générale, les mesures de performance et de robustesse définies dans l'étude pourraient être utilisées pour discriminer différents modèles. L'étude de la première mesure de robustesse (comparaison des degrés de robustesse pour différents modèles) permet de montrer quels modèles présentent une plus grande zone de bistabilité. En se basant sur l'hypothèse que les mécanismes biologiques doivent être des mécanismes robustes étant donné les fluctuations du milieu auxquelles ils sont soumis, cela pourrait permettre de distinguer les modèles les plus plausibles biologiquement. De même la comparaison des seuils de transition déterminés par les modèles et de leur sensibilité avec des expériences sur les caspases pourraient permettre la discrimination entre différents modèles.

Bibliographie

- [1] T. Eissing, H. Conzelmann, E. D. Gilles, F. Allgöwer, E. Bullinger, et P. Scheurich. Bistability analyses of a caspase activation model for receptor-induced apoptosis. *The Journal of Biological Chemistry*, 2004.
- [2] B. M. Slepchenko et M. Terasaki. Cyclin aggregation and robustness of bio-switching. *Molecular Biology of the Cell*, 2003.
- [3] N. Kellershohn et M. Laurent. Prion diseases : dynamics of the infection and properties of the bistable transition. *Biophysical Journal*, 2001.
- [4] W. Sha, J. Moore, K. Chen, A. D. Lessaletta, C. Yi, J. J. Tyson, et J. C. Sible. Hysteresis drives cell-cycle transitions in *Xenopus laevis* egg extracts. *PNAS*, 2003.
- [5] M. J. Solomon, M. Glotzer, T. H. Lee, M. Philippe, et M. W. Kirschner. Cyclin activation of p34cdc2. *Cell*, 1990.
- [6] P. Robe. Notes de cours : Physiologie moléculaire et cellulaire. *Université de Liège*, 2006.
- [7] J. J. Tyson, , K. C. Chen, et B. Novak. Sniffers, buzzers, toggles and blinkers : dynamics of regulatory and signaling pathways in the cell. *Current Opinion in Cell Biology*, 2003.
- [8] C.D. Thron. Bistable biochemical switching and the control of the events of the cell cycle. *Oncogene*, 1997.
- [9] M. Laurent et N. Kellershohn. Multistability : a major mean of differentiation and evolution in biological systems. *Trends in Biochemical Sciences*, 1999.
- [10] J. E. Ferrel. Tripping the switch fantastic : how a protein kinase cascade can convert graded inputs into switch-like outputs. *Trends in Biochemical Sciences*, 1996.
- [11] J. E. Ferrell. How regulated protein translocation can produce switch-like responses. *Trends in Biochemical Sciences*, 1998.
- [12] H. Huber, E. Bullinger, et M. Rehm. Systems biology approaches to the study of apoptosis. In Xiao-Ming Yin et Zheng Dong, editors, *Essentials of Apoptosis*. Humana Press, second edition, 2009. in press.
- [13] J. Kenner et J. Sneyd. *Mathematical Physiology*. Springer Verlag, 1998.
- [14] S. H. Strogatz. *Nonlinear Dynamics and Chaos*. Perseus Books, 1994.
- [15] M. O. Hengartner. The biochemistry of apoptosis. *Nature*, 2000.
- [16] S. Elmore. Apoptosis : a review of programmed cell death. *Toxicologic Pathology*, 2007.

-
- [17] G. Kroemer et S. J. Martin. Caspase-independent cell death. *Nature Medicine*, 2005.
- [18] M. Bentele, I. Lavrik, M. Ulrich, S. Stöber, D.W. Heermann, H. Kalthoff, P.H. Krammer, et R. Eils. Mathematical modeling reveals threshold mechanism in CD95-induced apoptosis. *The Journal of Cell Biology*, 2004.
- [19] J. G. Albeck, J. M. Burke, M. Zhang, D. A. Lauffenburger, et P. K. Sorger. Modeling snap-action and variable delay in a switch controlling extrinsic cell death. *Plos Biology*, 2008.
- [20] C. Scaffidi, S. Fulda, A. Srinivasan, C. Friesen, F. Li, K.J. Tomaselli, KM. Debatin, P.H. Krammer, et M.E. Peter. Two CD95 (APO-1/Fas) signaling pathways. *The EMBO Journal*, 1998.
- [21] E. Bullinger. System analysis of a programmed cell death model. *44th IEEE conference on decision and control*, 2005.
- [22] J. Doyle, B. Francis, et A.Tannenbaum. *Feedback control theory*. Macmillan Publishing Co., 1990.
- [23] J. Stelling, U. Sauer, Z. Szallasi, F. Doyle, et J.Doyle. Robustness of cellular functions. *Cell*, 2004.
- [24] J. Shoemaker et F. Doyle. Identifying fragilities in biochemical networks : Robust performance analysis of fas signaling-induced apoptosis. *Biophysical Journal*, 2008.
- [25] K. Astrom et R. Murray. *Feedback Systems : An Introduction for Scientists and Engineers*. Princeton University Press, 2006.
- [26] B. Ingalls. Sensitivity analysis : from model parameters to system behaviour. *Essays in Biochemistry*, 2008.
- [27] L. Ma et P. Iglesias. Quantifying robustness of biochemical network models. *BMC Bioinformatics*, 2002.
- [28] T. Eissing, F. Allgöwer, et E. Bullinger. Robustness properties of apoptosis models with respect to parameter variations and intrinsic noise. *System Biology*, 2005.
- [29] E. Lorenz. Deterministic nonperiodic flow. *Journal of atmospheric sciences*, 1963.