

**Rapport de stage du Master BioInformatique  
Paris Saclay**

Spécialité

**AMI2B**

Laboratoire de Recherche en Informatique (LRI)

Présentée par

**Cécile MOULIN**

Sujet du stage :

**Analyse des voies métaboliques et modélisation cinétique dans le  
traitement du cancer : application au cycle cellulaire**

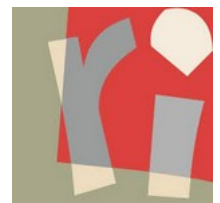
soutenue le 2 septembre 2016

devant le jury composé de :

Mme. Christine FROIDEVAUX	Responsable du Master
M. Olivier LESPINET	Responsable du Master
M. Michel LAURENT	Rapporteur
Mme. Sabine PERES	Responsable de stage



université  
PARIS-SACLAY



# Table des matières

<b>1</b>	<b>Introduction</b>	<b>3</b>
1.1	Présentation de l'équipe . . . . .	3
1.2	Présentation du stage . . . . .	6
<b>2</b>	<b>Modélisation du métabolisme central du carbone au cours du cycle cellulaire</b>	<b>9</b>
2.1	Modélisation dynamique du métabolisme . . . . .	9
2.2	Le métabolisme central du carbone . . . . .	11
2.3	L'électrochimie . . . . .	15
2.4	Géométrie . . . . .	18
<b>3</b>	<b>Résultats</b>	<b>21</b>
3.1	Couplage des modèles . . . . .	21
3.2	Le simulateur de modèle . . . . .	22
3.3	Les courbes . . . . .	22
3.4	efmdraw . . . . .	24
<b>4</b>	<b>Discussion</b>	<b>26</b>
4.1	Remarques sur le modèle actuel . . . . .	26
4.2	Avenir du modèle . . . . .	26
<b>5</b>	<b>Bilan personnel</b>	<b>28</b>
<b>A</b>	<b>Le modèle</b>	<b>30</b>
A.1	La géométrie . . . . .	30

# Introduction

## 1.1 Présentation de l'équipe

### Le LRI

Mon stage a été effectué au sein du LRI, le Laboratoire de Recherche en Informatique. Il s'agit d'une unité mixte de recherche de l'université de Paris-Sud et du CNRS. Créé il y a plus de 35 ans, le laboratoire se trouve sur le plateau du Moulon dans les bâtiments Ada Lovelace et Claude Shannon depuis respectivement juin 2011 et début 2013. Plus de 250 personnes dont environ 133 permanents et 90 doctorants répartis en 9 équipes de recherche, une équipe administrative et une technique, travaillent au LRI. Leur travail couvre un grand nombre de domaines informatiques comme l'algorithmique, le parallélisme ou la fouille de données.

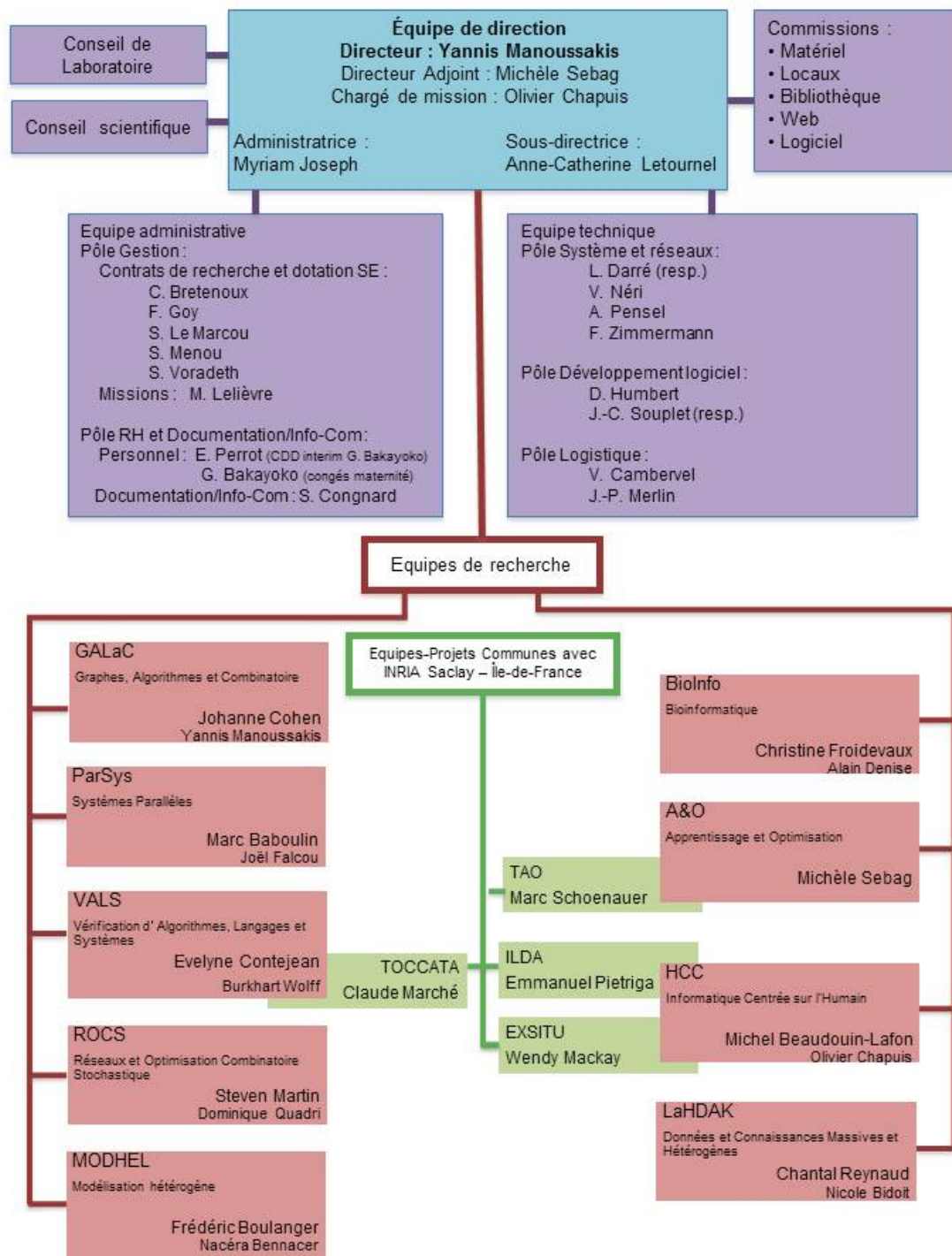
Le LRI est dirigé par Yannis Manoussakis, professeur classe exceptionnelle spécialisé en théorie des graphes. L'équipe de direction est aussi composée de Michèle Sebag, Olivier Chapuis, Myriam Joseph et Anne-Catherine Letournel. Voici l'organigramme du laboratoire pour plus de précisions : Figure 1.1.

### L'équipe BioInfo

Mon stage a été effectué plus spécifiquement dans l'équipe BioInfo (Figure 1.2). Cette équipe a pour responsables Alain Denise et Christine Froidevaux tous deux professeurs classe exceptionnelle. Elle est composée de 9 membres permanents, 7 non permanents, 1 visiteur, 7 associés et 6 stagiaires (Tableau 1.1).

J'ai été encadrée par Sabine Peres, maître de conférence en informatique. Sa spécialité est la modélisation des réseaux biologiques et plus particulièrement la modélisation des réseaux métaboliques par les modes élémentaires de flux. Elle collabore avec l'équipe de Laurent Schwartz (médecin oncologue de l'AP-HP, Labrouste) dans le but de mieux comprendre les mécanismes du cancer et des maladies du vieillissement et de promouvoir la découverte de traitements adaptés. Cette équipe est composée de personnes venant d'horizons différents (cancérologue, physicien, neurologue ...). Nous nous réunissions tous les mercredis matins au LIX pour discuter de nos travaux.

## Laboratoire de Recherche en Informatique – UMR 8623



Janvier 2016

FIGURE 1.1 – Organigramme du LRI  
<https://www.lri.fr/organigramme.php>

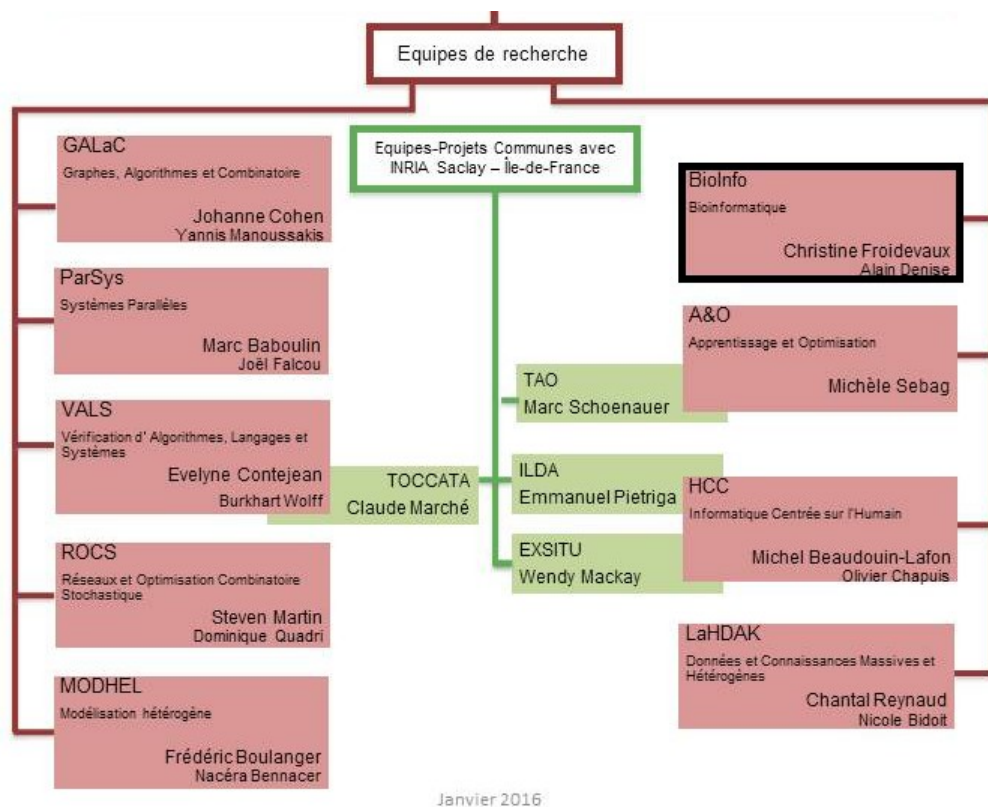


FIGURE 1.2 – Organigramme du LRI, l'équipe BioInfo  
<https://www.lri.fr/organigramme.php>

Nom	Prénom	Statut	Nom	Prénom	Statut
Amar	Patrick	Permanant	Labedan	Bernard	Permanant
Andrieu	Pierre	Stagiaire	Le Gallic	Vincent	Non Permanant
Aze	Jérôme	Associé	Lepinet	Olivier	Associé
Bernauer	Julie	Associée	Mandon	Hugues	Stagiaire
Boudard	Mélanie	Non Permanante	Paulevé	Loïc	Permanant
Bouffard	Marc	Non Permanant	Peres	Sabine	Permanante
Chevalier	Céline	Stagiaire	Pierrot	Adeline	Permanante
Cohen-Boulakia	Sarah	Permanante	Pommeret	Pauline	Stagiaire
Da Veiga Moreira	Jorgelindo	Non Permanant	Ponty	Yann	Associé
Denise	Alain	Permanant	Rajaonalison	Fanjamalala	Stagiaire
Froidevaux	Christine	Permanante	Regnier	Mireille	Associée
Greugny	Eléa	Stagiaire	Rougny	Adrien	Non Permanant
Haar	Stefan	Associé	Saule	Cédric	Visiteur
Iakovishina	Daria	Associée	Wang	Wei	Non Permanant
Jay	Flora	Permanante	Zaharia	Alexandra	Non Permanante

TABLE 1.1 – Liste des membres de l'équipe BioInfo  
 Site du LRI (<https://www.lri.fr/equipe.php?eq=4>) le 28/07/2016

## 1.2 Présentation du stage

### Etat de l'art

« Le cancer est une maladie caractérisée par la prolifération incontrôlée de cellules »<sup>1</sup>. Le cancer est l'une des maladies les plus mortelles du monde ; dans son rapport de 2014, l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) classe le cancer de la trachée, des bronches et des poumons comme la 14<sup>ème</sup> cause de décès prématuré mondiale en 2012<sup>2</sup>. En France, l'Insee classe les tumeurs comme première cause de décès en 2013<sup>3</sup> avec, chaque année plus de 350 000 nouveaux cas et près de 150 000 décès<sup>4</sup>.

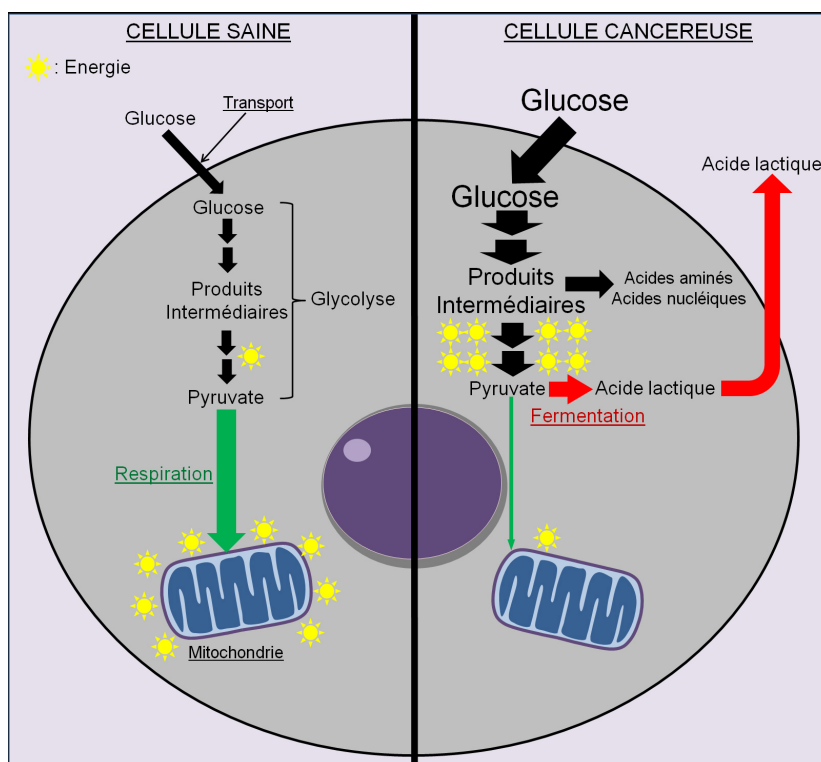


FIGURE 1.3 – Production d'énergie chez des cellules saines (*gauche*) et cancéreuses (*droite*)

Futura Science : <http://www.futura-sciences.com/magazines/sante/infos/dossiers/d/medecine-cancer-mecanismes-biologiques-1453/page/12/>

Le cancer semble aussi être caractérisé par un métabolisme différent de celui des cellules saines. Otto Heinrich Warburg, prix Nobel de médecine en 1931, formula le premier les hypothèses sur le détournement des mécanismes énergétiques de la cellule dans le cas du cancer. Dans les années 20, Otto Warburg a découvert que les cellules cancéreuses tiraient leur énergie, l'ATP, de la fermentation [1], [2]. La fermentation se produit généralement lorsqu'il n'y a pas d'oxygène, nécessaire aux réactions chimiques ayant lieu dans la mitochondrie. Le glucose est alors transformé en acide lactique au cours de différentes réactions (voir Figure 1.3). Il s'agit de la glycolyse anaérobie. Or les cellules cancéreuses ont

1. Source : *Ligue contre le cancer*, [https://www.ligue-cancer.net/article/278\\_qu-est-ce-que-le-cancer-](https://www.ligue-cancer.net/article/278_qu-est-ce-que-le-cancer-)
2. [http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/112816/1/WHO\\_HIS\\_HSI\\_14.1\\_fre.pdf?ua=1](http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/112816/1/WHO_HIS_HSI_14.1_fre.pdf?ua=1)
3. [http://www.insee.fr/fr/themes/tableau.asp?ref\\_id=natfps06205](http://www.insee.fr/fr/themes/tableau.asp?ref_id=natfps06205)
4. Source : *e-cancer*, <http://www.e-cancer.fr/Comprendre-prevenir-depister/Qu-est-ce-qu-un-cancer/Chiffres-cles>

la capacité de fermenter même en présence d'oxygène. On nomme cela l'effet Warburg.

Les cellules prolifératrices doivent doubler leur biomasse (protéines, lipides, acides nucléiques) durant le cycle cellulaire pour générer deux cellules filles. Pour cela elles utilisent le métabolisme central du carbone (CCM) (Figure 1.4) qui est composé de la glycolyse, la voie des pentose phosphate et le cycle de Krebs (ou cycle des acides tricarboxyliques). Les changements qui opèrent entre le catabolisme (production d'énergie) et l'anabolisme (synthèse de biomasse) sont contrôlés par des bio-oscillateurs jouant un rôle de co-enzyme. Ces bio-oscillateurs incluent les couples d'oxydoréduction (redox) comme le NAD(H), le NADP(H) l'ATP/ADP puis d'autres paramètres comme le pH et le potentiel transmembranaire (TMP).

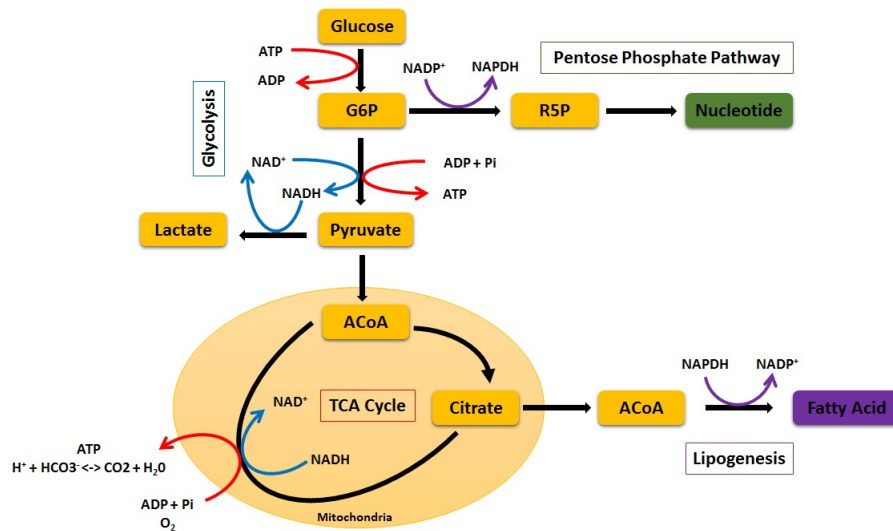


FIGURE 1.4 – Le métabolisme central du carbone

Le cycle cellulaire est le cycle de croissance de la cellule. Il est composé des phases G1, S, G2 et M (Figure 1.5). En phase G1 du cycle cellulaire, la transformation du pyruvate en lactate est conditionnée par le rapport  $\frac{NAD^+}{NADH}$  et favorise la voie glycolytique dans les cellules cancéreuses [3]. Ainsi l'effet Warburg induit un rapport  $\frac{NAD^+}{NADH}$  élevé. En phase S, le métabolisme favorise la voie des pentoses phosphates (VPP) [3], [4]. Un flux élevé fournit suffisamment de NADPH et permet ainsi de déclencher la synthèse des lipides en phase G2 [5]. De plus, l'activité mitochondriale joue un rôle central dans la division cellulaire ainsi que dans la variation du pH et de l'ATP.

Dans le but de mieux comprendre la prolifération des cellules, les biologistes de l'équipe de Laurent Schwartz ont mesuré les concentrations de différents oscillateurs intracellulaires (le pH, l'ATP, le NAD(H), le NADP(H)) dans des cellules saines et cancéreuses de colons humains au cours du cycle cellulaire [6]. Les résultats (Figure 1.6) sont cohérents avec le comportement métabolique connu des cellules cancéreuses : l'effet Warburg.

Le but de ce stage est de construire un modèle de cellule permettant d'expliquer les courbes de la figure 1.6. Pour créer ce modèle, trois aspects de la cellule ont été pris en compte : le métabolisme, l'électrochimie pour avoir un point de vue plus complet sur le pH et la géométrie de la cellule, Représentation du cycle cellulaire.



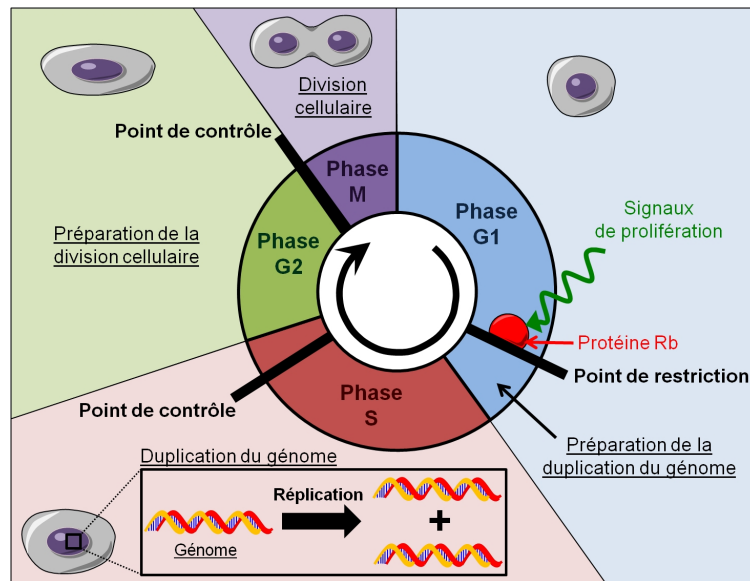


FIGURE 1.5 – Le cycle cellulaire  
<https://svtfeyder.wordpress.com/le-cycle-cellulaire/>

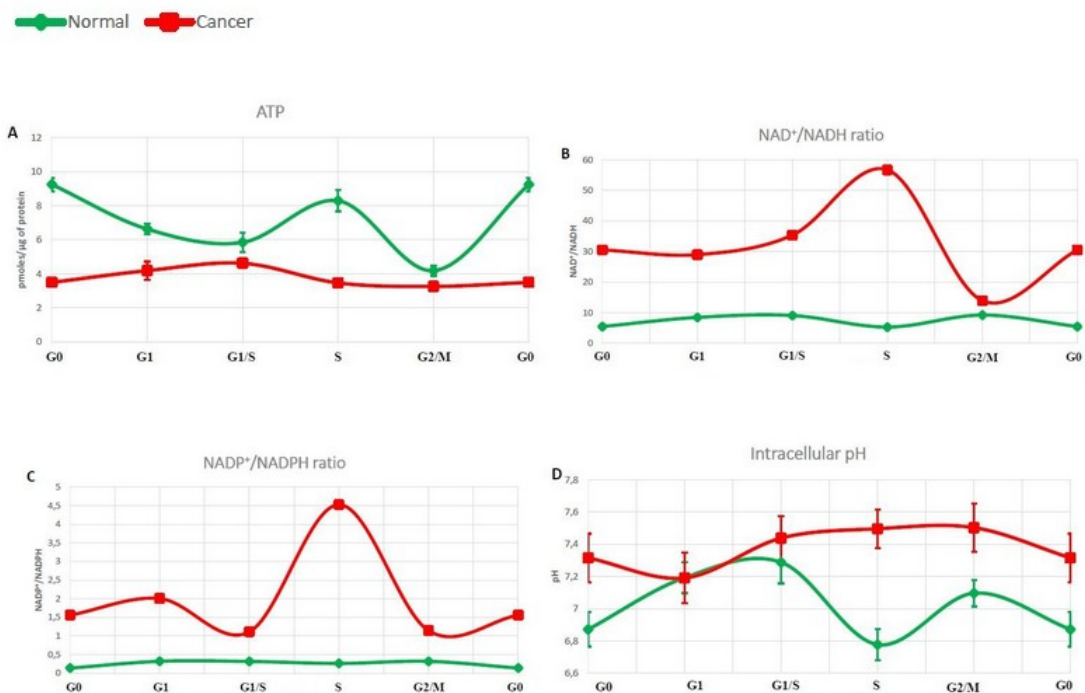


FIGURE 1.6 – Courbes de l'évolution au cours du cycle cellulaire : A- de la concentration en ATP B- du ratio NAD<sup>+</sup>/NADH C- du ratio NADP<sup>+</sup>/NADPH D- du pH chez des cellules saines (vert) et des cellules cancéreuses (rouge)



# Modélisation du métabolisme central du carbone au cours du cycle cellulaire

## 2.1 Modélisation dynamique du métabolisme

Le *métabolisme* est l'ensemble des transformations moléculaires et des transferts d'énergie qui se déroulent de manière ininterrompue dans la cellule ou l'organisme vivant. C'est un processus ordonné, qui fait intervenir des processus de dégradation, le *catabolisme*, et de synthèse organique, l'*anabolisme*. Cette distinction est en fait arbitraire car les mêmes séquences métaboliques sont souvent impliquées dans les deux types de processus.

Les transformations moléculaires qui se déroulent dans la cellule sont catalysées par des protéines, appelées **enzymes**. On parlera alors de **réactions enzymatiques** (définition 1).

**Définition 1** *Une réaction enzymatique est la fixation d'un enzyme sur un substrat (molécule sur laquelle l'enzyme agit) avec formation du complexe enzyme-substrat suivie de la formation d'un produit et relargage de l'enzyme libre.*

Les enzymes agissent à faible concentration et augmentent considérablement la vitesse des réactions dans lesquelles elles sont impliquées. Elles se retrouvent intactes en fin de réaction ; ce sont des **catalyseurs biologiques**.

**Définition 2** *Soit un réseau métabolique contenant  $m$  métabolites et  $r$  réactions, la matrice de stœchiométrie  $N = (n_{ij})_{1 \leq i \leq m, 1 \leq j \leq r}$  associée est définie tel que :  $\forall i \in \llbracket 1; m \rrbracket \forall j \in \llbracket 1; r \rrbracket$ ,*

$$n_{ij} = \begin{cases} a & \text{si la réaction } j \text{ produit } a \text{ molécules de } i \text{ et } a \in \mathbb{Q}^+. \\ -a & \text{si la réaction } j \text{ consomme } a \text{ molécules de } i \text{ et } a \in \mathbb{Q}^+. \\ 0 & \text{sinon.} \end{cases}$$

La matrice de stœchiométrie  $N$  est une représentation du réseau qui décrit sa topologie.

L'une des méthodes les plus anciennes et les plus répandues pour l'analyse des réseaux métaboliques est l'usage des équations différentielles. Cette méthode traite des variables continues et permet de modéliser l'évolution de la quantité (concentration) de différents

objets d'un système biologique en fonction du temps. L'**état** du système biochimique que nous voulons modéliser est déterminé par la présence de diverses quantités : métabolites (substrats ou produits), enzymes... Les quantités du système biochimique, dans notre cas les métabolites, sont distinguées en deux classes : les *variables internes* et les *paramètres externes*. Les *variables internes* sont les quantités qui peuvent changer au cours du temps alors que les *paramètres externes* sont les quantités de valeurs constantes. Une variable  $x_i(t)$  désigne la concentration d'un métabolite impliqué dans un système à un instant donné  $t$ . Un réseau métabolique est constitué de métabolites  $x_1, \dots, x_n$ . Le système à un instant  $t$  est constitué d'un ensemble fini de variables  $x_i(t)$  et l'état du système peut être représenté par le vecteur :

$$\vec{x}(t) = \begin{pmatrix} x_1(t) \\ x_2(t) \\ \dots \\ x_n(t) \end{pmatrix}$$

On considérera que l'évolution du système différentiel n'est fonction que de l'état du système à un instant donné. L'hypothèse fondamentale faite sur le système biochimique est que l'évolution des concentrations désignées par le vecteur  $\vec{x}(t)$  est représentable par un système différentielle du premier ordre :

$$\forall t, \frac{d\vec{x}(t)}{dt} = F(\vec{x}(t))$$

où  $F$  est un champ de vecteurs sur  $\mathbb{R}^n$ .

L'évolution de la valeur de chacune des variables du système n'est fonction que de la valeur des autres variables. Ainsi l'évolution de la variable  $x_i$  s'écrit :

$$\frac{dx_i(t)}{dt} = F_i(\vec{x}(t)) \text{ avec } F(\vec{x}(t)) = \begin{pmatrix} F_1(\vec{x}(t)) \\ F_2(\vec{x}(t)) \\ \dots \\ F_n(\vec{x}(t)) \end{pmatrix}$$

La variation de concentration d'un métabolite  $x_i$  du système est la différence de vitesse des réactions produisant ce métabolite et des réactions le consommant. Ainsi, nous avons :

$$F_i(\vec{x}(t)) = \sum (\text{vitesse de production de } x_i - \text{vitesse de consommation de } x_i)$$

Nous pouvons l'écrire en fonction de la matrice de stœchiométrie comme suit :

$$\frac{dX(t)}{dt} = N.V(X(t)) \text{ avec } \begin{cases} N : \text{matrice de stœchiométrie} \\ V(.) : \text{vecteurs vitesses des réactions} \\ X(t) : \text{vecteurs des concentrations de métabolites} \end{cases}$$

## 2.2 Le métabolisme central du carbone

Les métabolisme central du carbone contient les principales voies permettant la production d'énergie et la production de métabolites nécessaires à la division cellulaire : la glycolyse, la voie des pentoses phosphates, le cycle de Krebs (TCA cycle) et de la lipogenèse (figure 1.4). Pour construire notre modèle métabolique, nous avons adapté le métabolisme central du carbone du modèle de Robitaille *et al.* [7] (figure 2.1). Dans cet article ([7]), Robitaille *et al.* utilise un modèle adapté aux ovaires d'hamster chinois (CHO) qui a été validé par expérimentation ; modèle qui provient d'un modèle plus simple précédemment modélisé ([8]).

### Les variables

Les variables principales de ce modèle sont des concentrations de métabolites externes ou internes à la cellule. Les concentrations externes ont pour unité le millimolaire (mM) ( $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ ) et les concentrations internes sont en  $\text{mmol}\cdot 10^{-6}\text{cells}$ . Une variable supplémentaire a été ajoutée pour représenter la production de biomasse. Elle se nomme X et a pour unité  $10^6\text{cells}\cdot\text{mL}^{-1}$  (biomasse par unité de volume). Une autre variable a été ajoutée : mAb, qui représente la concentration d'anticorps monoclonal dont la production est la cible du modèle original. Cette variable a été supprimée de notre modèle car la réaction la produisant ne fait pas partie du métabolisme central du carbone.

### Les réactions

Le modèle d'origine est composé de 34 réactions. La dernière, concernant la production d'anticorps monoclonal a été supprimée car elle ne fait pas partie du métabolisme central du carbone.

Les coefficients stoechiométriques de la réaction de production de biomasse, appelée  $V_{\text{growth}}$  ont été modifiés. En effet, les coefficients présents dans le tableau (Annexe ??, réaction 33) ne prennent pas en compte le fait que lorsqu'elle produit de la biomasse, la cellule finit par se diviser. Les nouveaux coefficients stoechiométriques (Annexe tableau ??) prennent non seulement en compte la production de biomasse, mais aussi la division cellulaire, en intégrant au coefficient la consommation des métabolites pour produire le matériel génétique des cellules filles. Le coefficient du métabolite S est  $V_{\text{growth\_S}}$ .

### Les cinétiques

La cinétique de chaque réaction est décrite par l'équation de Michaelis-Menten-Henri à multiples substrats (MMH). Par exemple, l'équation de Michaelis-Menten-Henri pour une réaction r :  $\sum_{i=1}^n S_i \rightarrow \sum_{j=1}^m P_j$  sera défini par :

$$V_r = V_{\text{max\_r}} \cdot \prod_{i=1}^n \frac{[S_i]}{k_{m\_i} + [S_i]}$$

Certaines réactions sont régulées et leurs cinétiques sont alors modifiées :

- Une réaction peut être inhibée par un métabolite. Ce mécanisme est modélisé par la formule mathématique d'inhibition non-compétitive ; la vitesse de la demi-réaction (partie directe ou indirecte) est multipliée par  $\frac{k_{iA}}{k_{iA} + [A]}$  où A est le métabolite inhibiteur et  $k_{iA}$  la constante d'inhibition de A.



(ces paramètres dépendent de la réaction "activée") (voir l'exemple figure 2.2 ).

Certaines réactions ont dans leurs substrats et produits des nucléotides énergétiques (ATP, NADH, ...). Dans certains cas, ils ne sont pas considérés comme de simples substrats/produits mais comme des couples. Pour calculer la vitesse de ces réactions, les concentrations ne sont plus prises en compte et sont remplacées par les ratios de concentration selon les couples de cofacteurs : AMP-ATP, ATP-ADP, NADH-NAD, NADP-NADPH. (Voir l'exemple figure 2.3).

## Exemples

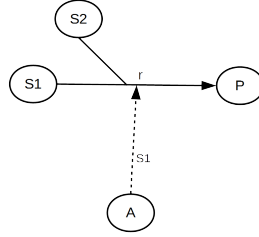


FIGURE 2.2 – Le métabolite A active la réaction r en ciblant le substrat S1

Dans cette réaction (figure 2.2) le métabolite A active la réaction r en ciblant le substrat S1. La vitesse de cette réaction est  $V_{\max\_r} \cdot \frac{[S1] \left(1 + \frac{\beta_A [A]}{\alpha_A k_{a_A}}\right)}{k_{m_{S1}} \left(1 + \frac{[A]}{k_{a_A}}\right) + [S1] \left(1 + \frac{[A]}{\alpha_A k_{a_A}}\right)} \cdot \frac{[S2]}{k_{m_{S2}} + [S2]}$

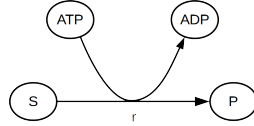


FIGURE 2.3 – Réaction où ATP et ADP sont des cofacteurs.

Dans cette réaction (figure 2.3), ATP et ADP sont considérés comme des cofacteurs. La vitesse de cette réaction est alors  $V_{\max\_r} \cdot \frac{[S]}{k_{m_S} + [S]} \cdot \frac{\frac{[ATP]}{[ADP]}}{k_{m_{\frac{ATP}{ADP}}} + \frac{[ATP]}{[ADP]}}$

## Les paramètres

Les principaux paramètres sont ceux des cinétiques MMH :  $k_m$  et  $V_{\max}$ .  $V_{\max}$  est la vitesse maximale de la réaction et  $k_m$  la constante de Michaelis, la valeur de la concentration du substrat pour que la vitesse de la réaction soit la moitié de la vitesse maximale. Chaque réaction a un  $V_{\max}$  et chaque couple (réaction, substrat) a un  $k_m$ . Pour simplifier le modèle, chaque substrat a au plus deux valeurs différentes de  $k_m$  : une valeur pour la réaction de formation de biomasse ( $V_{\text{growth}}$ ) et une pour le reste des réactions.

L'unité de  $k_m$  dépend de son métabolite (ou ratio). Ainsi les  $k_m$  des métabolites externes sont en mM, ceux des métabolites internes sont en  $\text{mmol} \cdot 10^{-6} \text{cells}$  et ceux des ratios n'ont pas d'unité. Les  $V_{\max}$  ont pour unité  $\text{mmol} \cdot 10^{-6} \text{cells} \cdot \text{h}^{-1}$  à part  $V_{\max\_growth}$ , la vitesse maximale de la production de biomasse qui est en  $\text{h}^{-1}$ .

## Le système d'équations

Les équations du système sont obtenues en ajoutant au système  $\frac{dY}{dt} = N * \nu$  où  $Y$  est le vecteur des variables,  $N$  la matrice stoechiométrique et  $\nu$  le vecteur des cinétiques l'effet de la dilution et de la conversion d'unité.

Pour ajouter la dilution dans le modèle, on ajoute à chaque équation de métabolite interne le terme  $-\nu_{\text{growth}} \cdot [S]$  où  $S$  est le métabolite interne. En effet,  $\nu_{\text{growth}}$ , le taux de croissance est assimilé à  $\mu = \frac{1}{V} \cdot \frac{dV}{dt}$  le taux d'augmentation de volume.

Il faut de plus noter que toutes les vitesses sont en  $\text{mmol} \cdot 10^{-6} \text{cells} \cdot h^{-1}$  alors que certaines variations de concentration sont en  $\text{mM} \cdot h^{-1}$ . Ces vitesses sont celles des métabolites externes. Pour convertir ces équations, on multiplie par  $1000 \cdot X$ .

Enfin,  $X$  n'étant pas un métabolite classique, son équation ne correspond pas à  $\frac{dY}{dt} = N * \nu$ . A la place, nous avons

$$\frac{dX}{dt} = \nu_{\text{growth}} \cdot X \quad (2.1)$$

En effet, si on prend l'équation de bilan

Accumulation = Alimentation - Sortie + Génération - Consommation - Stockage - Utilisation

et qu'on l'applique à la biomasse nous avons :

$$\begin{aligned} \text{Accumulation} &= \frac{d(XV_{\text{extracellulaire}})}{dt} \\ \text{Alimentation} &= 0 \\ \text{Sortie} &= 0 \\ \text{Génération} &= \nu_{\text{growth}} \cdot X \cdot V_{\text{extracellulaire}} \\ \text{Consommation} &= \text{mortalité} \\ \text{Stockage} &= 0 \\ \text{Utilisation} &= 0 \end{aligned}$$

Remarquons que nous travaillons avec la biomasse totale et non avec  $X$ , la biomasse par unité de volume. Si nous supposons le volume extracellulaire constant et la mortalité nulle, nous avons alors l'équation suivante :

$$V_{\text{extracellulaire}} \cdot \frac{dX}{dt} = \nu_{\text{growth}} \cdot X \cdot V_{\text{extracellulaire}}$$

ce qui nous donne l'équation 2.1.

Nous pouvons résumer le système d'équations de ce modèle par

$$\begin{cases} \frac{dS}{dt} = (1000 \cdot X \cdot \mathbb{1}_{S \text{ est externe}} + \mathbb{1}_{S \text{ est interne}}) \cdot (N \cdot \nu - \mu \cdot [S] \cdot \mathbb{1}_{S \text{ est interne}}) \\ \frac{dX}{dt} = \nu_{\text{growth}} \cdot X \end{cases}$$

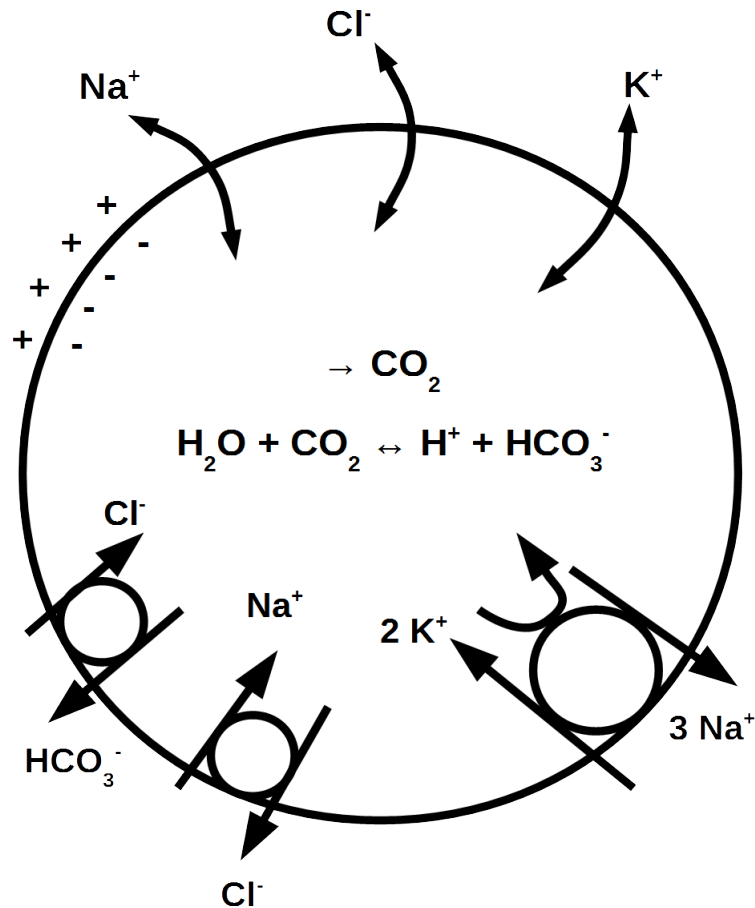


FIGURE 2.4 – Le schéma du modèle électrochimique

## 2.3 L'électrochimie

Le modèle métabolique néglige les réactions ioniques pouvant malgré tout influencer le pH de la cellule. Nous lui ajoutons donc le modèle électrochimique (figure 2.4). Le modèle électrochimique se base sur un modèle créé au sein de l'équipe de travail de Laurent SCHWARTZ et sur des cinétiques présentées par Yann Bouret *et al.* ([9]). Les réactions ont été choisies pour leur influence sur le pH.

### Les variables

Les variables de ce modèle sont les concentrations des ions  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{H}^+$ ,  $\text{HCO}_3^-$ , la concentration du  $\text{CO}_2$  et le potentiel transmembranaire. Chacune de ces variables a une influence sur le pH, soit directement comme  $\text{HCO}_3^-$ , qui partage une réaction avec  $\text{H}^+$ , soit indirectement comme  $\text{Cl}^-$  qui partage une réaction avec  $\text{HCO}_3^-$ . Le potentiel transmembranaire, quant à lui, influence la diffusion passive des ions à travers la membrane.

### Les réactions et leur cinétique

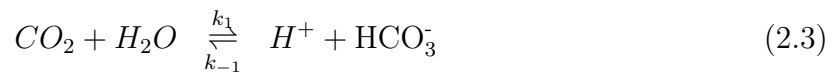
Les réactions de ce modèle sont classées selon leur type. Certains réactions représentent le métabolisme de la cellule, métabolisme limité à la respiration par la production de  $\text{CO}_2$



et à sa dissociation dans l'eau. Ces réactions sont dites volumiques puisqu'elles ont lieu au sein de la cellule et que leur cinétique est donc exprimée par unité de volume. Les autres réactions sont dites surfaciques puisqu'elles ont lieu au niveau de la membrane, représentant un mécanisme de traversée de la membrane (voir les réactions, les paramètres, les cinétiques : Annexe tableaux ??, ??, ??).

### Les réactions volumiques

Les deux réactions représentant le métabolisme sont :



La production de  $CO_2$  est considérée constante. La réaction 2.2 a donc pour vitesse la constante  $V_{\text{prod}CO_2}$  qui est exprimée en  $\text{mM}\cdot\text{s}^{-1}$ . La cinétique utilisée pour la réaction de dissociation, la réaction 2.3 est l'action de masse. Sa vitesse est donc

$$V = k_1 * [CO_2] - k_{-1} * [H^+] * [HCO_3^-]$$

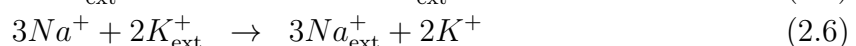
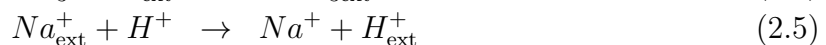
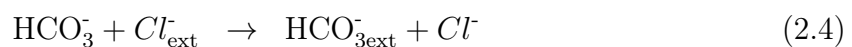
$k_1$  et  $k_{-1}$  sont les constantes (ou coefficients) de vitesse de la réaction. Ces deux valeurs sont liées par la constante d'équilibre de la réaction :  $K = \frac{k_1}{k_{-1}}$ .  $k_1$  a pour unité  $\text{s}^{-1}$  et  $k_{-1}$  est en  $(\text{mM}\cdot\text{s})^{-1}$ .

### Les réactions surfaciques

Même si ces réactions sont surfaciques, leur vitesse est exprimée par unité de volume et non de surface car les paramètres ont été mesurés comme s'il s'agissait de réactions volumiques. (Cela ne pose pas de problème dans le modèle électrochimique et la méthode de conversion est expliquée dans la section 3.1.)

Les réactions surfaciques sont des réactions de transports d'ions entre l'extérieur à l'intérieur de la cellule. Les ions passent la membrane soit par diffusion passive (pour les ions  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{K}^+$  et  $\text{Na}^+$ ) soit à l'aide d'échangeurs : les transporteurs (ou cotransporteurs) AE et NHE et la pompe NaK. La diffusion passive se fait par simple perméabilité de la membrane ; les ions voyagent selon leur gradient de concentration et/ou électrochimique. Il s'agit d'un transport passif, ne consommant pas d'énergie. Les transporteurs n'utilisent pas d'énergie non plus. La traversée de la membrane par les transporteurs est aussi appelée diffusion facilitée puisque les ions passent à travers des pores sélectifs. Il y a deux types de transporteurs : les symports où les ions voyagent dans le même sens et les antiports où un ion sort quand l'autre rentre. Les transporteurs choisis sont tous deux des antiports. AE fait entrer des ions  $\text{Cl}^-$  contre des ions  $\text{HCO}_3^-$  et NHE, des ions  $\text{Na}^+$  contre des ions  $\text{H}^+$ . Contrairement aux cotransporteurs, les pompes vont contre le gradient de concentration et/ou électrochimique. Pour cela, elles consomment de l'énergie (transformant l'ATP en ADP et Pi). La pompe choisie, NaK, fait entrer 2  $\text{K}^+$  et sortir 3  $\text{Na}^+$ .

Voici les réactions utilisant un échangeur :



La réaction 2.4 est celle impliquant le cotransporteur AE. Sa cinétique est définie par l'équation de Michaelis-Menten-Henri. Sa vitesse est donc :

$$\nu_{\max\_ae} \cdot \frac{[HCO_3]}{k_{m\_ae} + [HCO_3]}$$

La cinétique de la réaction 2.5, celle du transporteur NHE, est définie par l'équation

$$\nu_{\max\_nhe} \cdot \sigma_{nhe}([H]/K_r)$$

avec  $\sigma_{nhe}(x) = \frac{x(1+x)+L_0Cx(1+Cx)}{L_0(1+Cx)^2+(1+x)^2}$  où  $C = \frac{K_r}{K_t}$ .

La réaction 2.6 est l'échange dû à la pompe NaK. Sa vitesse est la suivante, une équation de Michaelis-Menten-Henri limitée au substrat  $Na^+$  et pondérée par une fonction du potentiel électrique réduit,  $\zeta_m = \frac{F \cdot TMP}{RT}$  où F est la constante de Faraday (96 485,3329 sAmol<sup>-1</sup>), TMP le potentiel transmembranaire (V), T la température (K) et R la constante des gaz parfaits (8.3 Jmol<sup>-1</sup>K<sup>-1</sup>) :

$$\nu_{\max\_nak} \cdot \frac{[Na]}{k_{m\_nak} + [Na]} \cdot \frac{1 + \tanh(0.39 \cdot \zeta_m + 1.28)}{2}$$

Les réactions de diffusion passive sont liées au potentiel transmembranaire et nécessitent différentes notions pour être définies :

— *Le potentiel d'équilibre (Volt) :*

Le potentiel d'équilibre est défini pour chaque ion à partir de l'équation d'équilibre de Nernst. Pour un ion S, son potentiel d'équilibre est  $E_S = \frac{RT}{Fz_S} \cdot \ln\left(\frac{[S_{ext}]}{[S]}\right)$  où R, T et F sont respectivement la constante des gaz parfaits, la température et la constante de Faraday et où  $z_S$  et  $[S_{ext}]$  sont la valence et la concentration externe de S.

— *La conductance de la membrane (par unité de surface) ( $AV^{-1}m^{-2}$ ) :*

La conductance de la membrane est la perméabilité électrique de la membrane. Pour un ion S, sa conductance associée est  $g_S = P_S \cdot z_S^2 \cdot \frac{F^2}{2RT} \sqrt{[S_{ext}][S]}$  où  $P_S$  est la perméabilité de la membrane à S (par unité de surface) (ms<sup>-1</sup>). La perméabilité est dépendante du potentiel de la membrane mais dans ce modèle on la considère constante.

— *Le courant ionique (par unité de surface) ( $Am^{-2}$ ) :*

Le courant ionique sortant est le produit de la conductance de la membrane et du gradient de potentiel. Pour chaque ion S, son courant ionique  $I_S$  est égal à  $g_S \cdot (TMP - E_S)$ .

— *Le flux entrant de la diffusion passive ( $mMs^{-1}$ ) :*

La valeur du flux entrant de S dû à la diffusion passive est  $-I_S \cdot \frac{A}{z_S F V}$  où A et V sont la surface et le volume de la cellule (m<sup>2</sup> et m<sup>3</sup>) considérés constants dans le modèle électrochimique.

$-I_S \cdot A$  est le courant total entrant dans la cellule.  $-I_S \cdot \frac{A}{z_S F}$  est alors la quantité d'ions S entrant dans la cellule par unité de temps.  $-I_S \cdot \frac{A}{z_S F V}$  devient alors la variation de concentration de S par unité de temps.

— *Le potentiel transmembranaire (Volt) :*

Le potentiel transmembranaire a pour variation par unité de temps  $\frac{-(F \cdot \frac{V}{A} \cdot \nu_{nak} + \sum_S I_S)}{C_m}$  où  $C_m$  est la capacitance de la membrane par unité de surface (0.07 Fm<sup>-2</sup>). Cette formule provient de la loi de Kirchhoff. La vitesse de la réaction NaK est ajoutée à cause de la différence de charge. Cette vitesse est multipliée par  $\frac{FV}{A}$ , la constante de Faraday pour avoir la bonne unité.

## Le système d'équations

Dans ce modèle, les concentrations externes sont considérées constantes. Il en va de même pour le volume, il n'y a donc pas de dilution (voir les équations du modèle : Annexe tableau ??). On peut alors résumer le système d'équations par

$$\left\{ \begin{array}{l} \frac{dS}{dt} = N \cdot \nu \cdot \mathbb{1}_{S \text{ est interne}} \end{array} \right.$$

## 2.4 Géométrie

(Voir les détails du modèle : Annexe ??)

Afin de prendre le cycle cellulaire en compte dans le modèle, nous considérons la variation de géométrie de la cellule. Au cours du cycle cellulaire, la cellule produit de la biomasse, du matériel génétique etc, afin de pouvoir se diviser en deux cellules filles à la fin du cycle. Ces cellules filles doivent être identiques à la cellule mère du début de cycle. La cellule mère doit donc doubler son contenu. Sa forme, sa taille changent alors au cours du cycle et plus particulièrement sa surface et son volume.

Les variables de ce modèle sont donc  $S$  et  $V$ , respectivement la surface et le volume de la cellule (exprimés en  $m^2$  et  $m^3$ ). Cependant ces variables ne sont pas utilisées telles quelles. En effet, nous nous intéressons au rapport  $\rho = \frac{S}{V}$  et à  $\mu = \frac{1}{V} \cdot \frac{dV}{dt}$ .

$\rho$  a pour rôle de redimensionner les réactions dites surfaciques, impliquant des espèces chimiques internes et externes à la cellule. Les vitesses de ces réactions étant exprimées par unité de surface, il nous faut les convertir pour pouvoir les intégrer au reste des réactions. Mais surtout  $\rho$  permet de modéliser l'efficacité du transport membranaire. Par exemple, à surface fixe, l'efficacité des transporteurs est plus importante à volume  $V_1$  qu'à volume  $V_2$  si  $V_1 < V_2$ .

$\mu$ , quant à lui, est le facteur de dilution, utilisé pour prendre en compte la variation de volume de la cellule. ( $\mu$  facteur de dilution Annexe A.1)

Nous avons utilisé deux méthodes pour calculer ces valeurs : la géométrie imposée et la géométrie déduite.

### La géométrie imposée

Pour la première méthode, nous avons imposé une géométrie à la cellule.  $S$  et  $V$  sont ici fonctions du temps.

On suppose que la cellule est une sphère. Le cycle cellulaire a été simplifié en deux phases. Lors de la première phase, la cellule conserve sa forme de sphère et double de volume. Lors de la deuxième phase, le volume de la cellule est constant et la cellule finit de produire la surface nécessaire à sa division. La figure 2.5 représente l'évolution de la cellule au cours du cycle cellulaire.

Posons  $T1$  la durée de la première phase, et  $TF$  la durée d'un cycle, ainsi que  $r_0$  et  $V_0$  le rayon et le volume initiaux de la cellule. A  $t=T1$ , la cellule aura pour rayon  $r_0 \cdot 2^{\frac{1}{3}}$ . On propose donc pour la première phase, la formule suivante

$$r(t) = r_0 \cdot 2^{\frac{t}{3 \cdot T1}} \text{ pour } t \in [0, T1]$$

Pour la deuxième phase, on propose que la surface varie linéairement entre  $S(T1)$  et  $S(TF)=2S(0)$ .

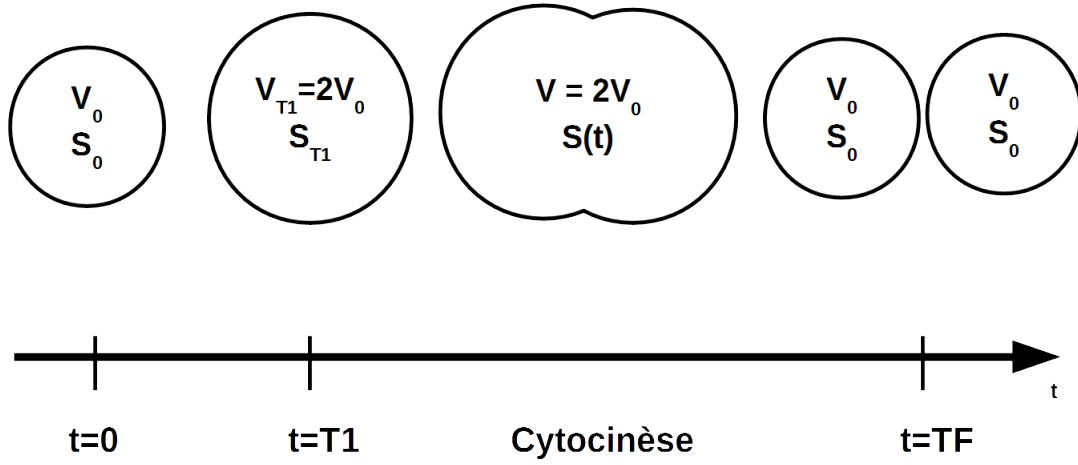


FIGURE 2.5 – La cellule au cours du cycle cellulaire.

Les valeurs de  $\rho$  et  $\mu$  sont donc :

$$\rho(t) = \frac{3}{r_0} 2^{\frac{-t}{3T_1}} \cdot \mathbb{1}_{t \leq T_1} + \frac{3}{r_0} \cdot (2^{\frac{-1}{3}} + (1 - 2^{\frac{-1}{3}}) \left( \frac{t - T_1}{T_F - T_1} \right)) \cdot \mathbb{1}_{t > T_1}$$

$$\mu(t) = \frac{\ln(2)}{T_1} \cdot \mathbb{1}_{t \leq T_1}$$

(Pour plus de détails Annexe A.1).

### La géométrie déduite

Pour la deuxième méthode, la valeur de  $S$  et  $V$  a été déduite du fonctionnement du métabolisme. En effet, la membrane et la biomasse sont produites par la cellule, en particulier par son métabolisme. Deux métabolites ont été choisis pour représenter la surface et le volume de la cellule. La variable  $X$  du modèle métabolique représente le volume. Pour la membrane, un métabolite a été ajouté au modèle : le palmitate. Il est produit à partir d'ACCOA et est ensuite utilisé pour produire de la membrane. Les réactions de production de palmitate et d'incorporation à la membrane ont aussi été ajoutées au modèle :



La cinétique de la production de palmitate suit le même raisonnement que le reste des réactions métaboliques : une équation de Michaelis-Menten-Henri. L'incorporation du

palmitate dans la membrane a par contre une cinétique d'action de masse ; sa vitesse est  $k_{\text{PALM}}[PALM]$ ,  $k_{\text{PALM}}$  étant la constante de vitesse de la réaction ( $\text{h}^{-1}$ ).

Comme expliqué dans le modèle métabolique, nous avons

$$\mu = \nu_{\text{growth}} \quad (2.7)$$

Pour calculer  $\rho$ , nous avons besoin de  $S$  et  $V$ . Comme nous connaissons les valeurs initiales de ces variables (données expérimentales), il suffit de connaître leur variation par unité de temps pour les intégrer au système d'équations. L'équation 2.7 nous permet d'avoir l'équation pour le volume :

$$\frac{dV}{dt} = \nu_{\text{growth}} * V$$

Pour  $S$  nous avons

$$\frac{dS}{dt} = \frac{K_S}{N_{\text{me}}} \cdot [PALM] \cdot S$$

où  $K_S$  est la constante de synthèse de la membrane ( $\text{m s}^{-1}$ ),  $N_{\text{me}}$ , le nombre de molécule par unité de surface ( $\text{mol m}^{-2}$ ) et  $[PALM]$  la concentration du métabolite PALM en mM. Il faut donc convertir la concentration de PALM provenant du modèle métabolique ( $\text{mmol} \cdot 10^{-6} \text{cells}$ ). On le fait en multipliant cette concentration par 1000 X.

## 3

# Résultats

### 3.1 Couplage des modèles

Pour construire le modèle général, j'ai dû adapter les modèles décrits dans la section précédente. Le modèle est détaillé en Annexe (A)

#### Le modèle géométrique

Le modèle géométrique se branche sur les deux autres modèles par la dilution et la conversion des vitesses des réactions surfaciques.

Dans le modèle métabolique,  $\nu$  remplace  $\nu_{\text{growth}}$  au niveau des dilutions ainsi que dans l'équation de  $\frac{dX}{dt}$ . En effet, soit on déduit la géométrie et alors ça ne change rien, soit on impose la géométrie et  $\nu_{\text{growth}}$  s'efface au profit de la valeur imposée. Dans le modèle électrochimique, le volume était considéré constant. On doit donc ajouter le terme  $-\mu \cdot [S]$  à chaque équation  $\frac{dS}{dt}$  où S est un métabolite interne.

Dans les deux modèles, métabolique et électrochimique, les réactions surfaciques sont déjà exprimées par unité de volume, mais sans prendre en compte la variation du rapport  $\frac{S}{V}$ . Il faut donc dans un premier temps convertir les vitesses volumiques en vitesses surfaciques. Pour cela on les multiplie par  $\frac{V_{\text{fixe}}}{S_{\text{fixe}}}$ .  $V_{\text{fixe}}$  et  $S_{\text{fixe}}$  (respectivement en  $\text{m}^3$  et  $\text{m}^2$ ) sont le volume moyen et la surface moyenne des cellules étudiées pour obtenir les valeurs des paramètres. Une fois cette première conversion effectuée, on revient à une vitesse volumique en multipliant par  $\rho$ .

#### Le modèle métabolique

Le modèle métabolique utilisé n'est pas exactement le modèle présenté par Robitaille *et al.* [7]. En effet les réactions ont été adaptées pour que le modèle soit plus adapté à l'humain. Le  $\text{CO}_2$  et l' $\text{O}_2$  sont maintenant pris en compte, des réactions ont été ajoutées (ACL), d'autres modifiées (ME, SDH). De plus, dans cette version du modèle, on considère le milieu externe constamment alimenté. Donc les concentrations externes sont constantes, ce qui n'est pas le cas dans le modèle d'origine. D'autres modifications ont été faites pour pouvoir coupler les modèles. Pour la géométrie, le métabolite PALM a été ajouté ainsi que la réaction de sa production et celle de son intégration dans la membrane. La réaction growth a été modifiée, prenant PALM en compte au lieu de CIT. Pour coupler le métabolisme avec l'électrochimie, l'ion  $\text{H}^+$  a été ajouté dans le métabolisme.

## Le modèle électrochimique

Pour coupler le modèle électrochimique au métabolisme, l'ATP et l'ADP ont été ajoutés dans la réaction NaK, puisqu'il s'agit d'un échangeur nécessitant de l'énergie. De nombreuses conversions ont été faites. En effet, les concentrations du métabolisme sont en  $\text{mmol } 10^{-6}$  cells alors que le modèle électrochimique présente des concentrations en mM. De plus, l'unité de temps du modèle électrochimique est la seconde alors que celle du métabolisme est l'heure. Toutes les vitesses en  $\text{s}^{-1}$  ont été multipliées par 3600 afin d'obtenir des  $\text{h}^{-1}$ . Des conversions ont aussi été faites au niveau des concentrations, des constantes, des vitesses afin d'obtenir un modèle cohérent.

## 3.2 Le simulateur de modèle

Afin de simuler automatiquement le modèle que j'ai créé, j'ai écrit un programme, le simulateur de modèle. À partir des fichiers d'entrées représentant le modèle (les paramètres, les réactions, les régulations), il écrit le système d'équations différentielles, un fichier nommé `equadiff.m`. Ensuite mon programme lit un dernier fichier, celui des concentrations initiales, puis il fait appel au solveur de Matlab pour résoudre le système. Enfin, il trace toutes les courbes de variation d'espèces (concentration, potentiel transmembranaire ...).

Après avoir recopié le fichier des paramètres dans `equadiff.m`, le simulateur de modèle parse les fichiers des réactions et des régulations afin de collecter les informations nécessaires à la déduction des cinétiques. En effet, pour la partie métabolique de mon modèle, les réactions et les régulations suffisent à décrire les cinétiques des réactions. Pour la partie électrochimique par contre, les cinétiques sont définies à la main dans un fichier à part. En plus de déterminer les cinétiques des réactions métaboliques, le simulateur de modèle classe les réactions en deux types : les surfaciques et les volumiques et agit en conséquence. Une fois les cinétiques définies, il les écrit dans `equadiff.m`.

Ensuite, mon programme utilise la matrice de stoechiométrie pour écrire le système d'équations différentielles dans `equadiff.m`. Il est à noter que la matrice de stoechiométrie est une matrice de string et non de double. J'ai fait ce choix pour conserver la possibilité d'avoir des coefficients variables (des fonctions du temps, des coefficients variants selon la composition cellulaire, ou encore des facteurs de conversion d'unités).

Une fois le fichier `equadiff.m` écrit, le simulateur de modèle récupère les concentrations initiales et les trie avant de faire appel à `ode15s`, un solveur de Matlab. Une fois le système résolu, le simulateur trace les courbes et les sauvegarde.

## 3.3 Les courbes

Voici les courbes correspondant aux courbes expérimentales (figure 1.6), lorsque le modèle est à géométrie imposée : figure 3.1, et les courbes lorsque la géométrie est déduite du métabolisme : figure 3.2.

On peut remarquer qu'aucun des deux modèles ne s'intègre jusqu'au bout (28h). Cela est dû au fait que  $[\text{ATP}] = 0$  et donc les cinétiques où  $[\text{ATP}]$  est en ratio avec  $[\text{ADP}]$  et au dénominateur deviennent invalides (on ne peut diviser par 0).



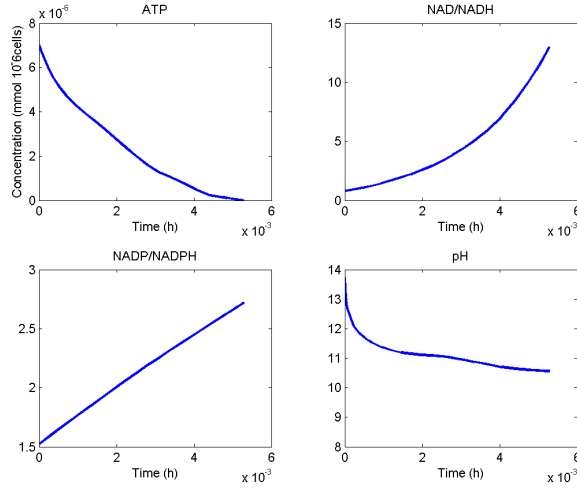


FIGURE 3.1 – Courbes provenant de la géométrie imposée

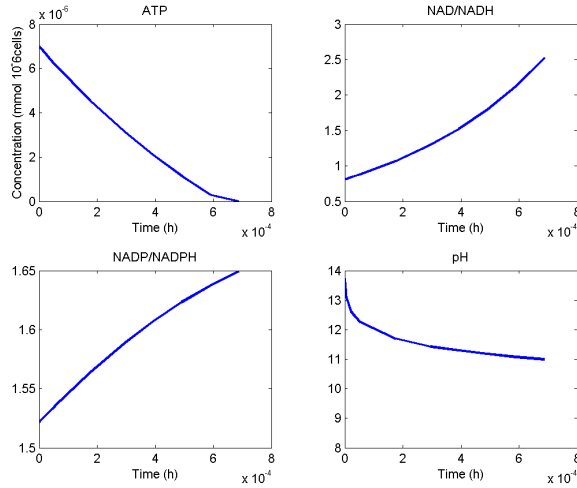


FIGURE 3.2 – Courbes provenant de la géométrie déduite

Pourquoi la concentration d'ATP devient nulle est une question que nous n'avons pas (encore) résolu. On peut rechercher sa source dans le fait que les paramètres des modèles ne sont peut-être pas compatibles. Il est aussi possible que de vouloir transformer des vitesses exprimées en s en des vitesses exprimées en h en multipliant simplement par 3600 n'est pas approprié.

On peut aussi remarquer que malgré la différence de géométrie, les courbes sont d'allure très proches. Cependant, les valeurs des courbes NAD(H) et NADP(H) sont assez différentes. Il y a jusqu'à près d'un facteur 5 pour les courbes NAD(H) et un facteur 2 pour les courbes NADP(H). La raison de ces différences est inconnue, mais elle pourrait comporter des réponses, ne serait-ce que sur la validité de nos hypothèses géométriques.

### 3.4 efmdraw

Afin de faire dépendre la géométrie du métabolisme, différentes pistes ont été envisagées. L'une d'entre elles m'a amenée à vouloir représenter graphiquement des modes élémentaires.

#### Mode élémentaire

Si l'on peut étudier les réseaux métaboliques de façon dynamique, on peut aussi les étudier à l'état stationnaire. Le système est à l'état stationnaire lorsque  $\frac{dx}{dt} = 0$ . Un mode élémentaire est un flux respectant cet état stationnaire et ayant des propriétés particulières ; l'ensemble des flux à l'état stationnaire peut s'écrire comme somme convexe de modes élémentaires. L'ensemble des modes élémentaires a le rôle de base vectorielle de l'espace des flux à l'état stationnaire.

#### Le programme

Le programme que j'ai écrit, efmdraw, prend en entrée la liste des réactions du réseau métabolique, une représentation graphique de ce réseau ainsi qu'un dossier de rangement. On peut remplacer la liste des réactions par une liste pré-calculée de modes élémentaires. Le programme calcule alors, si besoin, la liste des modes élémentaires du réseau puis les dessine en suivant le modèle de la représentation graphique. Tous les fichiers graphiques sont placés dans le dossier de rangement.

efmdraw est un programme Matlab nécessitant la fonction strsplit (version postérieure à 2012 ou en ayant ajouté le fichier de la fonction). Metatool est aussi nécessaire pour calculer les modes élémentaires. Si on les calcule avant de fournir la liste à efmdraw, Metatool n'est pas obligatoire.

La liste des réactions doit être un fichier de format Metatool. La liste des modes élémentaires doit être une structure contenant un champ irrev qui est un vecteur booléen indiquant si le mode élémentaire est irréversible (1) ou non (0), un champ names contenant le vecteur des noms des réactions, un champ ems contenant la matrice des modes élémentaires ainsi qu'un champ numbers contenant le vecteur des numéros des modes élémentaires. Ces nombres identifieront les modes élémentaires dans les fichiers. La représentation graphique du réseau est un fichier xml créé avec CellDesigner. Il est important que les réactions soient nommées afin que efmdraw puisse retrouver les réactions des modes élémentaires dans le fichier xml.

Pour chaque mode élémentaire, calculé par Metatool ou donné en entrée, efmdraw crée un fichier xml, lisible avec CellDesigner, où les réactions du mode élémentaire sont mises en avant. Lorsqu'il le faut, les réactions sont inversées et/ou mises en irréversibles.

Voici un exemple de résultat figure 3.3

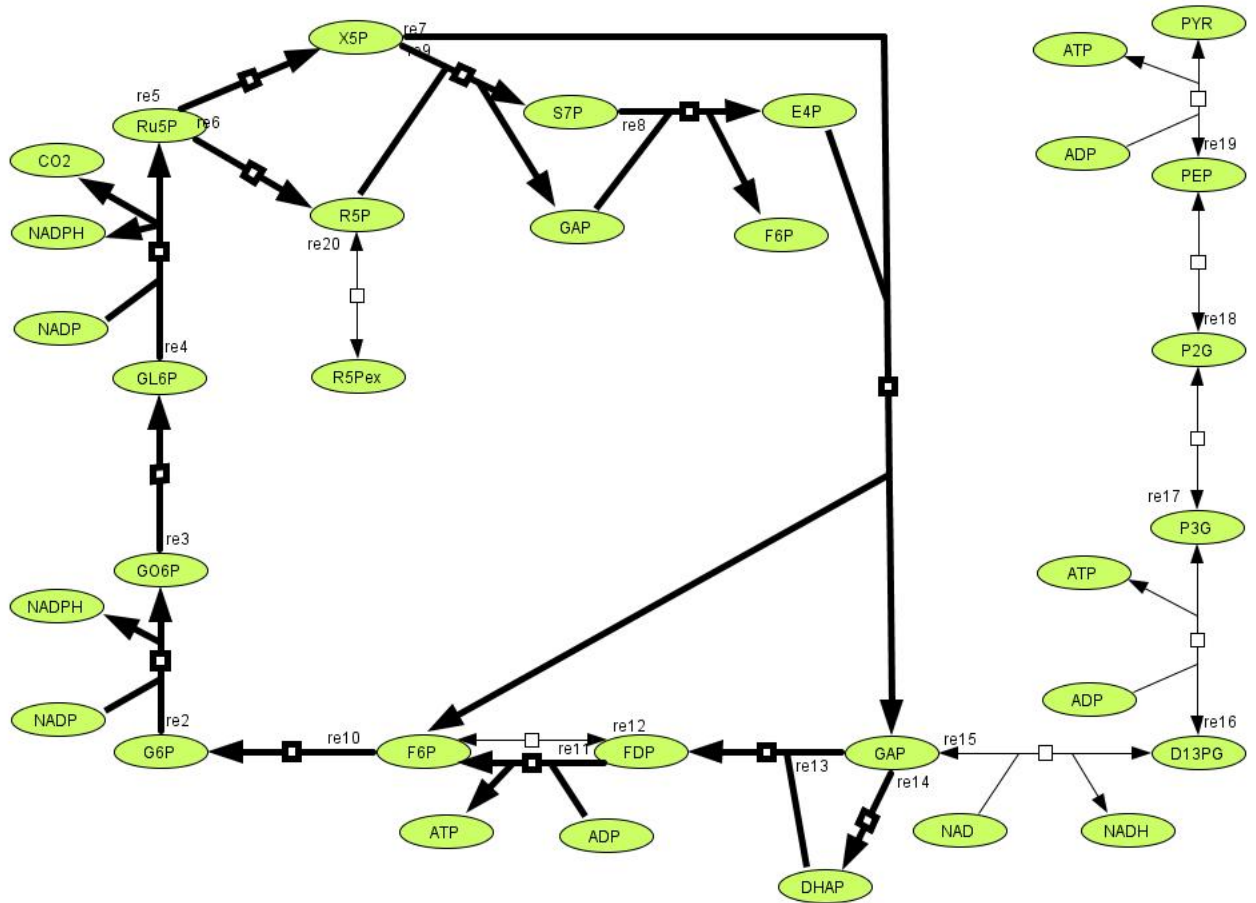


FIGURE 3.3 – Exemple d'un mode élémentaire, dessiné avec efmdraw.

# Discussion

## 4.1 Remarques sur le modèle actuel

Les courbes obtenues (figures 3.2 et 3.1) montrent clairement que le modèle présenté n'est pas valide. Je pense que le problème vient du choix des paramètres dans le couplage des modèles. Le modèle métabolique et le modèle électrochimique fonctionnent indépendamment l'un de l'autre. La valeur des paramètres ont donc été sélectionnée de façon indépendante, et de là peut venir une incohérence entre les deux modèles. La recherche de cette incohérence est complexe car le modèle complet comporte de nombreuses réactions et métabolites. Pour comprendre d'où vient le problème, il faudrait faire varier les paramètres et voir l'impact que ça a sur les courbes.

Les courbes présentent des différences que l'on pourrait vouloir analyser afin d'en comprendre l'origine. Pourquoi la différence de géométrie modifie tant les ratio NAD(H) et NADP(H) est une question intéressante que l'on peut se poser. Mais il faut garder en tête que le modèle n'est pas valide et qu'il s'agit peut-être d'un artefact.

## 4.2 Avenir du modèle

En plus d'ajuster correctement les différents paramètres, le modèle peut encore beaucoup évoluer. Il est possible de le rendre encore plus précis sur le fonctionnement des enzymes en modélisant par exemple la sensibilité des enzymes au pH.

Une autre précision que l'on pourra apporter est la compartimentation de la cellule. Plus particulièrement, on pourra ajouter la présence de la mitochondrie, compartiment cellulaire où a lieu le cycle de Krebs. Comme les réactions ont lieu dans un compartiment et non dans la cellule complète, il est possible que le rapport des volumes mitochondrie/cellule influence beaucoup les cinétiques de ces réactions. Le dysfonctionnement mitochondrial est d'ailleurs une hypothèse de l'origine du cancer. Il faut garder en tête que cette compartimentation va augmenter le nombre de variables puisque certains métabolites sont présents à la fois dans la mitochondrie et dans le cytoplasme. De plus, si l'on veut continuer à utiliser le simulateur de modèle, il faudra lui donner la capacité de reconnaître les réactions de traversée de la membrane mitochondriale afin de prendre en compte la variation de la géométrie de la mitochondrie. Géométrie qu'il faudra aussi modéliser.

D'autres modifications peuvent être effectuées. Principalement sur le métabolisme au cours du cycle cellulaire. Une idée a été de définir un métabolite représentatif pour chaque

phase du cycle et de tester à chaque fois si la quantité de ce métabolite est suffisante pour passer à la phase suivante. (C'est de cette idée que provient efmdraw).

Enfin, le fait que les deux modèles principaux n'aient pas la même échelle de temps peut être pris en compte. On pourrait utiliser les modes élémentaires du modèle métabolique pour calculer l'état stationnaire du modèle électrochimique et ensuite réintégrer ce/ces états stationnaires dans le modèle dynamique du métabolisme. On pourrait s'appuyer sur la description des modes élémentaires par phase de cycle de Diaz-Moralli *et al.* [3].

Ce modèle très incomplet actuellement peut être amélioré et affiné. Il a de l'avenir et peut-être pourra-t-il un jour répondre aux questions que nous nous posons sur le cancer.

## Bilan personnel

Ce stage de Master 2 s'inscrit parfaitement dans mon parcours. Il est le point d'orgue de mes études de Mathématiques et BioInformatique et la parfaite transition entre ces études et mon avenir professionnel : la recherche dans la modélisation des systèmes biologiques.

Ce stage m'a appris des choses sur moi : je n'avais jamais eu de projet d'aussi longue haleine et je ne savais pas si j'étais capable de tenir bon, et ce, malgré les frustrations de ne pas avoir les résultats souhaités.

Lors de ce stage, j'ai aussi acquis une expertise sur le métabolisme et l'électrochimie de la cellule, sur les différents outils de modélisation à la fois dynamique et stationnaire, ainsi que sur le couplage de modèles, ce qui me sera utile pour la thèse.

Durant ce stage, j'ai fait parti de l'équipe de Laurent Schwartz : j'ai travaillé avec des doctorants et des docteurs de divers horizons, j'ai eu l'occasion de rencontrer des malades, de découvrir des notions que je ne pensais pas connaître un jour, ce fut très gratifiant. Savoir que l'on travaille dans un but précis et avoir l'impression de vraiment avoir la possibilité d'agir fut aussi quelque chose de très agréable.

Concernant le sujet du stage en lui-même, je dois dire que je suis assez frustrée d'avoir l'impression de ne pas avoir abouti à quelque chose. Mais je suis ravie de pouvoir continuer en thèse. Si nous n'avons pas encore obtenu les courbes expérimentales et donc pas de moyen pour pouvoir mieux comprendre et traiter le cancer, des outils comme le simulateur de modèle ou encore l'expertise que j'ai acquise dans le couplage de modèle pourront peut-être se découvrir cruciaux.

# Bibliographie

- [1] *O. Warburg*, **The metabolism of carcinoma cells**. *The J of Can Res* 1925, 9, 148-163.
- [2] *O. Warburg*, **On the origin of cancer cells**. *Science* 1956, 123, 309-31
- [3] *S. Diaz-Moralli, M. Tarrado-Castellarnau, A. Miranda, M. Cascante*, **Targetting cell cycle regulation in cancer therapy**, *Pharmaco & therapeutic* 2013, 138, 255-27
- [4] *F.X. Yu, R.P. Dai, S.R. Goh, L. Zheng, Y. Luo*, **Logic of a mammalian metabolic cycle : an oscillated NAD<sup>+</sup>/NADH redox signaling regulates coordinated histone expression and S-phase progression.**, *cell cycle* 2009, 8, 773-779
- [5] *I. Fabregat ; J. Vitorica ; J. Satrustegui ; A. Machado*, **The pentose phosphate cycle is regulated by NADPH/NADP ratio in rat liver**. *Arch Biochem Biophys.* 1985 Jan ;236(1) :110-8.
- [6] *M. Abolhassani, J. Da Veiga Moreira, E. Bigan, S. Peres, L. Paulevé, M. Levy Nogueira, J.-M. Steyaert, L. Schwartz*, **The redox status of cancer cells supports mechanisms behind the Warburg effect** *en cours de soumission*
- [7] *J. Robitaille, J. Chen, M. Jolicoeur*, 2015, **A Single Dynamic Metabolic Model Can Describe mAb Producing CHO Cell Batch and Fed-Batch Cultures on Different Culture Media**. *PLoS ONE* 10(9) : e0136815. doi :10.1371/journal.pone.0136815
- [8] *A. Ghorbaniaghdam, O. Henry, M. Jolicoeur*, **A kinetic-metabolic model based on cell energetic state : study of CHO cell behavior under Na-butyrate stimulation**, *Bioprocess Biosyst Eng* (2013) 36 :469-487 DOI 10.1007/s00449-012-0804-3
- [9] *Y. Bouret, M. Argentina, L. Counillon* (2014) **Capturing Intracellular pH Dynamics by Coupling Its Molecular Mechanisms within a Fully Tractable Mathematical Model**. *PLoS ONE* 9(1) : e85449. doi :10.1371/journal.pone.0085449



# Annexe A

## Le modèle

### A.1 La géométrie

#### Détails

$\mu$  le facteur de dilution

Soit  $C$ , la concentration d'une espèce chimique,  $n$  sa quantité et  $V$  le volume du conteneur. Nous avons alors

$$C = \frac{n}{V}$$

d'où

$$\begin{aligned} \frac{dC}{dt} &= \frac{\frac{dn}{dt} \cdot V - n \cdot \frac{dV}{dt}}{V^2} \\ &= \frac{dn}{dt} \cdot \frac{1}{V} - \frac{n}{V} \cdot \frac{1}{V} \cdot \frac{dV}{dt} \end{aligned}$$

Notons  $\frac{dC_c}{dt}$  la variation de concentration de  $n$  lorsque le volume est constant. Nous avons donc

$$\frac{dC_c}{dt} = \frac{dn}{dt} \cdot \frac{1}{V}$$

d'où

$$\frac{dC}{dt} = \frac{dC_c}{dt} - \frac{1}{V} \cdot \frac{dV}{dt} \cdot C$$

Ainsi  $\mu$ , qui est égal à  $\frac{1}{V} \cdot \frac{dV}{dt}$ , est le facteur de la "disparition" de l'espèce due à la variation de volume, c'est-à-dire le facteur de dilution.

$\rho(t)$  et  $\mu(t)$

**Phase 1  $t=0$  à  $t=T1$**

Lors de la première phase, la cellule double de volume tout en conservant sa forme sphérique.

Le pattern proposé pour le rayon est :  $r(t) = r_0 \cdot 2^{\frac{t}{3T1}}$ . On a bien comme annoncé  $r(0) = r_0$  et  $r(T1) = r_0 \cdot 2^{\frac{1}{3}}$ .

Voici donc l'explication de la formule de  $\rho$ , l'aire d'une sphère de rayon  $r$  étant  $S = 4\pi r^2$  et le volume  $V = \frac{4}{3}\pi r^3$  :

$$\begin{aligned}\rho(t) &= \frac{S}{V} \\ &= \frac{4\pi r(t)^2}{\frac{4}{3}\pi r(t)^3} \\ &= \frac{3}{r(t)} \\ &= \frac{3}{r_0 \cdot 2^{\frac{t}{3T1}}} \\ &= \frac{3}{r_0} 2^{-\frac{t}{3T1}}\end{aligned}$$

Voici l'explication de la formule de  $\mu$ , l'aire d'une sphère étant obtenue en dérivant le volume par le rayon :  $S = \frac{dV}{dr}$

$$\begin{aligned}\mu(t) &= \frac{1}{V} \frac{dV}{dt} \frac{dr}{dt} \\ &= \frac{1}{V} \frac{dV}{dr} \frac{dr}{dt} \\ &= \frac{S}{V} \frac{dr}{dt} \\ &= \rho \cdot \frac{d(r_0 \cdot 2^{\frac{t}{3T1}})}{dt}\end{aligned}$$

Or on sait que  $a^{bt} = e^{(bt \ln a)}$ . De plus  $\frac{d(e^{(bt \ln a)})}{dt} = e^{(bt \ln a)} \cdot b \ln a = a^{bt} \cdot b \cdot \ln a$   
Donc on peut poursuivre :

$$\begin{aligned}\mu(t) &= \rho \cdot r_0 \cdot 2^{\frac{t}{3T1}} \cdot \ln(2) \cdot \frac{1}{3T1} \\ &= \frac{3}{r_0} 2^{-\frac{t}{3T1}} \cdot r_0 \cdot 2^{\frac{t}{3T1}} \cdot \ln(2) \cdot \frac{1}{3T1} \\ &= \frac{\ln(2)}{T1}\end{aligned}$$

## Phase 2 : t=T1 à t=TF

Lors de cette phase, le volume reste constant. On peut tout de suite remarquer que  $\mu$  est alors égale à 0 puisque  $V$  ne varie pas. L'aire, quant à elle, varie linéairement de sa valeur à  $t=T1$  à 2 fois sa valeur initiale.

On a donc le système suivant, que l'on résout :

$$\begin{aligned}\begin{cases} aT1 + b &= S(T1) \\ aTF + b &= 2 * S(0) \end{cases} \\ \begin{cases} aT1 + b &= 4\pi(r_0 \cdot 2^{\frac{1}{3}})^2 \\ aTF + b &= 2 * 4\pi(r_0)^2 \end{cases} \\ \begin{cases} b &= 4\pi \cdot r_0^2 \cdot 2^{\frac{2}{3}} - aT1 \\ aTF + 4\pi \cdot r_0^2 \cdot 2^{\frac{2}{3}} - aT1 &= 2 * 4\pi \cdot r_0^2 \end{cases} \\ \begin{cases} b &= 4\pi \cdot r_0^2 \cdot 2^{\frac{2}{3}} - aT1 \\ a(TF - T1) &= 4\pi r_0^2 (2 - 2^{\frac{2}{3}}) \end{cases} \\ \begin{cases} b &= 2 * 4\pi \cdot r_0^2 \cdot 2^{\frac{-1}{3}} - aT1 \\ a &= \frac{1}{TF - T1} 2 * 4\pi r_0^2 (1 - 2^{\frac{-1}{3}}) \end{cases}\end{aligned}$$

Ainsi pour  $t \in [T1, T]$

$$\begin{aligned}
S(t) &= a * t + b \\
&= a * t + 2 * 4\pi.r_0^2.2^{\frac{-1}{3}} - aT1 \\
&= a(t - T1) + 2 * 4\pi.r_0^2.2^{\frac{-1}{3}} \\
&= \frac{1}{TF-T1} 2 * 4\pi.r_0^2(1 - 2^{\frac{-1}{3}})(t - T1) + 2 * 4\pi.r_0^2.2^{\frac{-1}{3}} \\
&= 2 * 4\pi.r_0^2[2^{\frac{-1}{3}} + (1 - 2^{\frac{-1}{3}}) \cdot \frac{t-T1}{TF-T1}]
\end{aligned}$$

Rappelons que  $V$  est constant est vaut  $2V_0$  ou encore  $2 * \frac{4}{3}\pi r_0^3$ .

D'où

$$\begin{aligned}
\rho(t) &= \frac{S(t)}{V(t)} \\
&= \frac{2 * 4\pi.r_0^2[2^{\frac{-1}{3}} + (1 - 2^{\frac{-1}{3}}) \cdot \frac{t-T1}{TF-T1}]}{2 * \frac{4}{3}\pi r_0^3} \\
&= \frac{3}{r_0} (2^{\frac{-1}{3}} + (1 - 2^{\frac{-1}{3}}) (\frac{t-T1}{TF-T1}))
\end{aligned}$$